

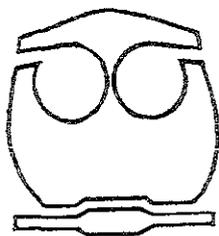


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EFFECTO DE TRATAMIENTOS PREVIOS AL ALMACENAMIENTO REFRIGERADO EN LA TOLERANCIA AL DAÑO POR FRIO EN LIMON PERSA (Citrus Latifolia Tanaka)

TESIS MANCOMUNADA QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICA DE ALIMENTOS PRESENTAN: ANAYA JUAREZ NOHEMI ESCALONA MENDOZA MARIA JAHEL



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES FACULTAD DE QUIMICA

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

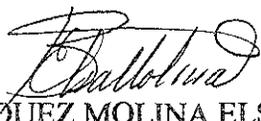
Jurado asignado:

Presidente	Prof. Marco Antonio León Félix
Vocal	Prof. Juan Diego Ortiz Palma Pérez
Secretario	Prof. Elsa Bosquez Molina
1er. Suplente	Prof. Claudia Lucía Mancilla Ascencio
2º. Suplente	Prof. Enrique Martínez Manrique

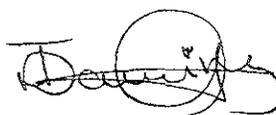
Sitio donde se desarrolló el tema:

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA.

Departamento de Biotecnología. Laboratorio de Fisiología Postcosecha de Frutas y Hortalizas. Av. Michoacán y la Purísima s/n Col. Vicentina Iztapalapa. C.P. 09340, México D.F.



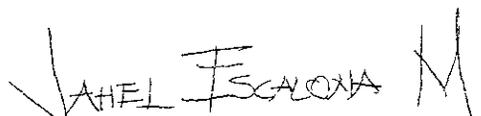
BOSQUEZ MOLINA ELSA
ASESOR



DOMÍNGUEZ SOBERANES JULIETA
SUPERVISOR TÉCNICO



ANAYA JUÁREZ NOHEMÍ
SUSTENTANTE



ESCALONA MENDOZA MARÍA JAHIEL
SUSTENTANTE

AGRADECIMIENTOS

Extiendo un profundo agradecimiento a mis padres Ma. Luisa y Cristóbal por el apoyo y cariño brindado durante todos los días de mi vida en cada uno de los proyectos que he emprendido y a mi hermano Luis que me animó cuando más lo necesitaba.

Agradezco a mi familia y a todas las personas que me ofrecieron su ayuda sincera y desinteresada para la realización de la licenciatura que hoy concluye, que contribuyeron con su experiencia alentándome siempre a seguir superándome.

Expreso el más sincero de los agradecimientos a las personas que se divirtieron, rieron y lloraron conmigo durante esta etapa y me dedicaron parte de su existir. A mis amigas que estudiaron conmigo y compartieron horas de desvelo durante la carrera, y en especial a Nohemí por ser la mejor compañera a lo largo de esta etapa.

Finalmente expreso un agradecimiento incesante a Dios por la vida que me ha otorgado.

Jahel Escalona Mendoza

Este es el momento de pensar a quien dedicar este trabajo, y a mi mente vienen todas las personas con quienes estoy en deuda, pues unos influyeron definitivamente en el logro de éste y a otros tendría que acreditarles su mérito correspondiente. Por mi parte, sé que debo agradecer a tantas personas que es imposible hacer una lista de todas ellas, pero a todas y cada una de ellas las llevo en mi mente y en mi corazón, brindándoles un modesto homenaje de gratitud.

A mis padres y hermanos por el amor y cariño que han sabido darme, por todos esos años de angustias y sufrimientos, por su constante preocupación por verme realizada.

A Paco por su apoyo, amor y comprensión para la culminación de este trabajo.

A Jahel por su constante dedicación y esfuerzo en la realización de este trabajo.

A mis maestros, por su sabiduría, que con tanta paciencia me mostraron y enseñaron.

A mi Universidad.

¡GRACIAS!

Nohemí Anaya Juárez

Con sincero agradecimiento:

A nuestra Universidad

A nuestros Maestros

A nuestras Asesoras

Y a quienes ayudaron en alguna
forma en el desarrollo de este
trabajo

EFFECTO DE TRATAMIENTOS PREVIOS AL ALMACENAMIENTO REFRIGERADO EN LA TOLERANCIA AL DAÑO POR FRÍO DE LIMÓN PERSA (*Citrus latifolia* Tanaka)

ÍNDICE

1 JUSTIFICACIÓN	1
2 OBJETIVOS	2
3 MARCO TEÓRICO	3
4. ANTECEDENTES.....	5
4.1 ECONÓMICOS	5
4.1.1 Situación del mercado mundial de cítricos	5
4.1.2 Situación del mercado nacional de limón persa (<i>Citrus latifolia</i> Tanaka)	8
4.1.3 Veracruz. Principal estado productor de limón persa en México	15
4.2 TÉCNICO-CIENTÍFICOS.....	19
4.2.1 Respuestas de las plantas al estrés	19
4.2.2 Fisiología del limón	27
4.2.3 Refrigeración	34
4.2.4 Daño por frío	35
4.2.5 Tecnologías para la atenuación del DPF.....	40
5 HIPÓTESIS.....	53
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	54
6.1 Primera etapa Acondicionamiento a altas temperaturas	54
6.2 Segunda etapa Barrido de temperatura y tiempo de acondicionamiento.....	56
6.3 Tercera etapa Acondicionamiento combinado de 13° C y recubrimientos	57
6.4 Parámetros fisiológicos	59
6.5 Parámetros de calidad	61
6.6 Análisis estadístico	63
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
7.1 PRIMERA ETAPA. Acondicionamiento a altas temperaturas.....	64
7.2 SEGUNDA ETAPA. Barrido de temperatura y tiempo de acondicionamiento	78
7.3 TERCERA ETAPA. Acondicionamiento combinado de 13° C y recubrimientos	85
8 CONCLUSIONES	92
9 BIBLIOGRAFÍA	95

4. Instrumentación Estadística.	138
4.1. Comprobación de Hipótesis.	138
4.2. Análisis e Interpretación de los Resultados.	139
5. Conclusiones y Recomendaciones.	152
6. Anexos.	154
7. Glosario de Términos	162
8. Referencias Bibliográficas.	166

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción de limas y limones a nivel mundial.....	7
Figura 2. Principales países importadores de limas y limones.....	8
Figura 3. Municipios productores de limón persa en el estado de Veracruz.....	16
Figura 4. Severidad del daño por frío en limón persa.....	60
Figura 5. Escala cualitativa y cuantitativa de color de limón persa.....	62
Figura 6. Daño por frío en limón persa.....	64
Figura 7. Efecto del hidrocalentamiento (53° C-3 minutos) en el daño por frío en limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.....	65
Figura 8. Efecto del acondicionamiento con calor seco (38° C-3 días) en el daño por frío en limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.....	65
Figura 9. “Oleocelosis en limón”.....	68
Figura 10. “Rompiamiento estilar o coleado”.....	69
Figura 11. Efecto del hidrocalentamiento (53° C-3 minutos) en la pérdida fisiológica de peso en limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.....	70
Figura 12. Efecto del acondicionamiento con calor seco (38° C-3 días) en la pérdida fisiológica de peso en limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.....	70
Figura 13. Efecto del hidrocalentamiento (53° C-3 minutos) en el cambio de color del limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.....	72
Figura 14. Efecto del acondicionamiento con calor seco (38° C-3 días) en el cambio de color del limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.....	74
Figura 15. Efecto del tiempo (24, 48 y 72 h.) y temperatura (13, 25, 30 y 35° C) de acondicionamiento en el daño por frío en limón persa almacenado a 8° C.....	80
Figura 16. Efecto del tiempo (24, 48 y 72 h.) y temperatura (13, 25, 30 y 35° C) de acondicionamiento en la pérdida fisiológica de peso en limón persa almacenado a 8° C.....	83
Figura 17. Efecto del acondicionamiento a bajas temperaturas y recubrimiento con CMAM y cera de la región en el daño por frío en limón persa almacenado a 8° C.....	85

Figura 18. Efecto del acondicionamiento a bajas temperaturas y recubrimiento con CMAM y cera de la región en la pérdida fisiológica de peso en limón persa almacenado a 8° C.....87

Figura 19. Efecto del acondicionamiento a bajas temperaturas y recubrimiento con CMAM y cera de la región en el cambio de color del limón persa almacenado a 8° C.....90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Exportaciones de limas y limones a nivel mundial.....6

Tabla 2. Cultivo de limón persa (1998).....10

Tabla 3. Cultivo de limón mexicano (1998).....11

Tabla 4. Exportaciones de limón persa y jugo de naranja.....12

Tabla 5. Exportaciones de limón persa y limón mexicano.....12

Tabla 6. Empresas demandantes de limón persa a nivel mundial.....13

Tabla 7. Precios de limón persa en el mercado nacional.....14

Tabla 8. Principales cultivos perennes en el estado de Veracruz.....15

Tabla 9. Superficie sembrada con limón persa en el estado de Veracruz.....18

Tabla 10. Condiciones óptimas de almacenamiento para cítricos.....35

Tabla 11. Diseño de tratamientos del acondicionamiento a altas temperaturas.....55

Tabla 12. Diseño de tratamientos del barrido de temperatura y tiempo de acondicionamiento.....57

Tabla 13. Diseño de tratamientos del acondicionamiento combinado de 13° C y recubrimientos.....58

Tabla 14. Escala de evaluación del daño por frío.....59

Tabla 15. Interpretación del ángulo del matiz.....62

Tabla 16. Porcentaje de limones en estado senescente al 12° día de almacenamiento acondicionados con calor seco.....69

Tabla 17. Influencia del hidrocalentamiento (53° C-3 minutos) en los parámetros de calidad del limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.....	77
Tabla 18. Influencia del acondicionamiento con calor seco (38° C-3 días) en los parámetros de calidad del limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.....	78
Tabla 19. Influencia del acondicionamiento a bajas temperaturas y recubrimiento con CMAM y cera de la región en los parámetros de calidad del limón persa almacenado a 8° C.....	91

1. JUSTIFICACIÓN

El carácter perecedero de los productos hortofrutícolas limita su aprovechamiento en fresco. Aunado a la falta de alternativas tecnológicas y de infraestructura, existen deficiencias en los sistemas de distribución y venta que ocasionan la pérdida por descomposición de miles de toneladas de vegetales por año. Entre las tecnologías postcosecha más utilizadas se encuentra la refrigeración, sin embargo, su uso es restringido debido a que los cítricos son susceptibles a alteraciones fisiológicas inducidas por las bajas temperaturas conocidas como “daño por frío”. Actualmente existe una tendencia decreciente en la productividad del limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) en México, lo cual es indicativo de problemas de tipo técnicos, agroclimáticos y fitopatológicos en las regiones productoras del cítrico.

Ante esta problemática ha resultado indispensable el desarrollo de métodos que permitan mejorar la calidad del fruto, incrementar la productividad y disminuir los desordenes fisiológicos de daño por frío *prolongando de este modo la vida útil del limón persa en estado fresco*. Dentro de los métodos que se han evaluado, se encuentra el acondicionamiento por temperatura, capaz de inducir una respuesta de adaptación en los frutos, confiriéndoles mayor tolerancia al almacenamiento refrigerado.

En este trabajo de tesis se estudió el efecto aislado y combinado de acondicionamientos por temperatura y la aplicación de recubrimientos con la finalidad de reducir y retrasar los síntomas de daño por frío en limón persa. El desarrollo experimental contempló la medición de los parámetros fisiológicos de daño por frío y pérdida fisiológica de peso; y los parámetros de calidad de color, porcentaje de jugo, grados Brix y acidez titulable, a través de los cuales se determinó la calidad de los frutos sometidos a los diversos tratamientos.

2. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el potencial de conservación en fresco del limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) acondicionado por temperatura y encerado previo a su almacenamiento, a través de los parámetros fisiológicos de daño por frío y pérdida fisiológica de peso y los parámetros de calidad de color, porcentaje de jugo, grados Brix y acidez titulable.

Objetivos particulares

1. Evaluar la aplicación de tratamientos a altas temperaturas previo al almacenamiento en la disminución del daño por frío y conservación de la calidad en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka).
2. Establecer las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de acondicionamiento que disminuyan la incidencia de daño por frío en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka).
3. Evaluar el efecto aislado y combinado del acondicionamiento a bajas temperaturas y encerado previo al almacenamiento en la inducción de tolerancia al daño por frío y eliminación del estrés causado por la refrigeración en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka).

3. MARCO TEÓRICO

Los productos hortofrutícolas tropicales y subtropicales constituyen uno de los principales recursos naturales de nuestro país, dentro de los cuales se encuentran los cítricos. En México se cultivan más de 300 mil hectáreas de productos cítricos, representando el 30% de la superficie y producción de frutales en nuestro país. El cultivo de limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) en México es uno de los más recientes, su importancia económica se remonta a escasos 20 años, cuando su producción empieza a incursionar en forma relevante en el mercado estadounidense. La relevancia que ha adquirido, radica en que hoy en día es el principal generador de divisas en nuestro país, dentro del grupo de los cítricos y sus derivados. Cabe resaltar que en el mercado nacional adquiere cada vez mayor importancia, ya que el consumo per cápita ha venido incrementándose en la última década en más de 500% (24). Estas cifras, reflejan la importancia económica y social del cultivo del limón persa en México.

Hasta 1998, la superficie cultivada en México era de alrededor de 24,550 ha de limón persa, encontrándose en producción 18,807 ha, lo que convierte al país en el principal productor y el segundo en exportaciones a nivel mundial (1). El estado productor más sobresaliente dentro del territorio nacional es Veracruz que aporta aproximadamente el 73% de la producción nacional, dentro del cual destaca la zona de Martínez de la Torre (24).

Se ha estimado que entre un 25 y 80% de los productos hortofrutícolas cosechados en fresco se pierden por diversas razones, tales como fisiopatías, senescencia, carácter perecedero, así como mal manejo postcosecha por la carencia de alternativas tecnológicas y de infraestructura (108).

Además, se debe considerar que las regulaciones de calidad, así como la demanda por parte de los consumidores en los aspectos relativos a la salud y los intereses ambientales, han motivado a investigar el desarrollo o mejora de métodos más compatibles con los requerimientos mencionados para la protección postcosecha de los productos hortofrutícolas. La refrigeración de los productos hortofrutícolas permite prolongar su vida útil, como consecuencia de la reducción en la velocidad de las reacciones bioquímicas que intervienen en el deterioro natural de los productos.

Sin embargo, el almacenamiento refrigerado de los cítricos afecta su calidad (108), provocando alteraciones fisiológicas denominadas “daño por frío” (8,13,28,32,33,36,39,46,50,60,82,87,95, 102). En el caso del limón la temperatura mínima y segura recomendada para su almacenamiento refrigerado sin que se produzca daño por frío es de 10 a 13° C (37,53,102).

Entre los tratamientos que se han evaluado como opciones para reducir la incidencia del daño por frío, *figuran principalmente: atmósferas modificadas o controladas, recubrimiento con películas plásticas y aceites vegetales, encerado, tratamientos térmicos (vapor caliente e hidrocalentamiento), calentamiento intermitente y reguladores del crecimiento (28,52,93,101,95). La aplicación de acondicionamientos por temperatura como medio para la disminución del daño por frío en frutos subtropicales, se ha fundamentado en el hecho de que las plantas al estar expuestas persistentemente a diferentes condiciones ambientales adversas de estrés pueden desarrollar resistencia a otros tipos de estrés, experimentando una protección cruzada. Existen evidencias de que bajo ciertas condiciones de almacenamiento o estrés por temperatura se induce resistencia o tolerancia al daño por frío (28,29,30,37,40,60,86,87, 91).*

4. ANTECEDENTES

4.1 ECONÓMICOS

4.1.1 Situación del mercado mundial de cítricos

a) Producción

La producción mundial de cítricos para el ciclo 1999/2000 está estimada en 70 millones de toneladas, significando un incremento del 9% respecto al periodo anterior. La producción total en el hemisferio Norte está estimada en 49.3 millones de toneladas, aumentando en un 17%. Este hecho se debe principalmente a los elevados incrementos en la producción acontecidos en Estados Unidos, Italia, México y España, así como en Grecia y Egipto. Por el contrario, en el hemisferio Sur se proyecta una producción de 20.7 millones de toneladas, 6% menor a la de 1998/1999 (21). Estos niveles de producción, evidencian la importancia económica y social del cultivo de los cítricos a nivel mundial.

Sin embargo, durante la temporada de 1998/1999 ocurrió una crisis a nivel mundial en la producción de los cítricos, reflejándose en una reducción del 8% con respecto al periodo anterior. Tal incidente obedece a un descenso en la producción por parte de algunos países del hemisferio norte. Entre estos se encuentran Estados Unidos, en donde se registraron fuertes heladas; España, en donde se reportó un aumento en la incidencia de fisiopatías; México, en donde se presentaron prolongadas sequías; Italia, Grecia, Marruecos, Japón y China, en donde se registraron condiciones climáticas adversas (21).

La variabilidad en los volúmenes de producción mundial, registrada en función de las condiciones climatológicas, demanda la implementación de estrategias de orden económico - tecnológicas que aseguren el abastecimiento del mercado internacional. Tales programas permitirían a los países productores la obtención de un mayor porcentaje de frutos con calidad de exportación, tal como lo demanda el mercado (11).

b) Exportaciones

Se pronostica que las exportaciones totales de cítricos durante el periodo 1999/2000 son de 8.4 millones de toneladas, 11% por arriba del volumen reportado en el ciclo anterior. Es posible que esta cifra se vea influida por el auge en las exportaciones de naranja provenientes de Estados Unidos y las de tangerina y naranja de España (21).

En el caso de España el crecimiento en el volumen de exportación surge como consecuencia del aumento en su producción total. Para los años 1999/2000 está estimada en 5.7 millones de toneladas, mayor en un 12% respecto al periodo anterior. Las proyecciones indican un ascenso en la producción de naranja, tangerina y limón en un 11, 18 y 2% respectivamente (21). Su participación en el mercado mundial ha crecido de un 15% a un 34% desde principios de esa década. Este país ha mostrado un incremento constante desde los años 70's en sus exportaciones. Actualmente es el principal exportador de limas y limones, contribuyendo aproximadamente con el 35% de las exportaciones totales del hemisferio norte (24) (Tabla 1).

Tabla 1. Exportaciones de limas y limones a nivel mundial

	1995 (ton)	1996 (ton)	1997 (ton)	1998 (ton)
Mundial	1,261,600	1,308,698	1,426,334	1,456,603
España	324,253	356,181	476,686	501,177
México	168,937	169,163	195,640	217,679
Argentina	110,785	157,810	178,678	154,345
Estados Unidos	137,218	140,980	127,783	121,715
Turquía	140,752	110,441	62,322	103,475
Italia	55,569	53,543	39,175	24,722
Otros	324,086	320,580	346,050	333,490

Fuente: FAO 1998.

Otros países exportadores de importancia para el comercio exterior de limón y lima son México, Argentina, Estados Unidos y Turquía, los cuales aportan aproximadamente el 40% de la exportación a nivel mundial (21).

c) Comercialización del limón

Dentro del grupo de los cítricos, el limón ofrece altas posibilidades de comercialización. Los limones y las limas ácidas (limón mexicano y limón persa) participan en bloque a nivel mundial,

aproximadamente con un 9.6% de la producción total. El monto limitado de producción no refleja la gran variedad de usos que permite el limón, ya que supera a la de otros cítricos. Aunque el uso y consumo del limón varía a nivel internacional según las costumbres y tradiciones de cada país, destaca el aprovechamiento del limón fresco o industrializado como condimento para sopas, carnes, mariscos, ensaladas y botanas en los últimos años (24).

Actualmente la producción de limas y limones es de 9,639,680 toneladas. Por ejemplo, en el continente americano la FAO registra 24 países con una producción comercial importante, que en conjunto contribuyen con el 40% del limón a nivel mundial. Sin embargo, son solamente seis los países que predominan en el mercado mundial de limón: México, Argentina, España, Estados Unidos, Italia y Turquía (24). Hoy en día, este sector se encuentra dominado por México (Figura 1) (21).

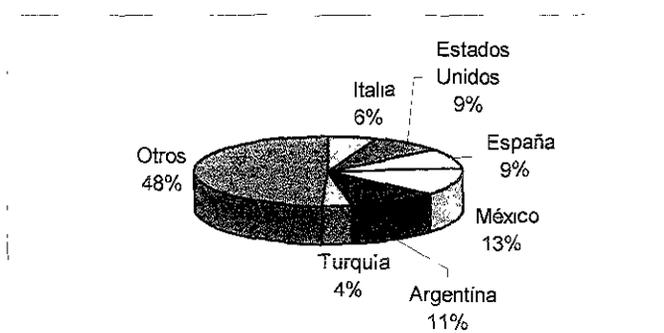


Figura 1. Producción de limas y limones a nivel mundial.
Fuente: Cálculo propio con base en datos de la FAO 1999.

Estos países se distinguen por la variedad de limón que producen; Italia, España, Estados Unidos y Argentina son productores del limón amarillo, *Citrus limon*. México es el líder mundial tanto en la producción de limón mexicano, *Citrus aurantifolia*, como del limón persa, *Citrus latifolia*. En la actualidad se comercializan aproximadamente un millón de toneladas del limón fresco, que equivalen al 15% de la producción mundial (24).

Las exportaciones de limón se destinan principalmente a los países europeos, de los que sobresalen Alemania, Francia, Gran Bretaña y Polonia. Otro mercado demandante lo representa Japón, que en 1998/1999 importó un volumen de 86,445 toneladas (20,21). A pesar de que Estados Unidos es un gran productor y exportador a nivel mundial, realiza importaciones en

cantidades considerables, entre las que predomina el limón persa de México, lo que constituye una importante fuente de divisas para nuestro país (Figura 2) (24).

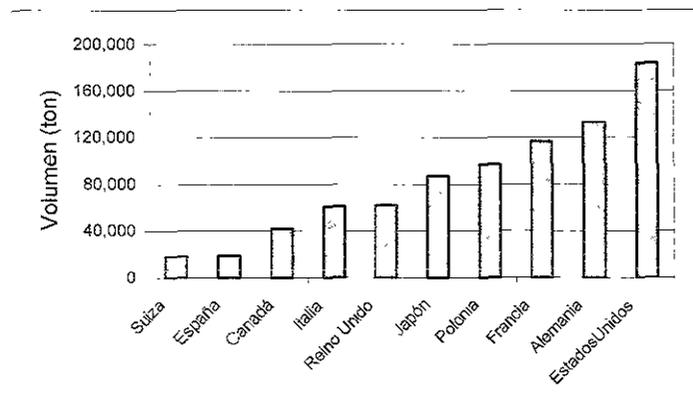


Figura 2. Principales países importadores de limas y limones.
Fuente: FAO 1998.

El consumo del limón fresco varía notablemente a nivel internacional. Por ejemplo, en 1993 el consumo promedio no alcanzaba más de 0.87 kg per capita al año. Los mayores niveles de consumo se registraron en los propios países productores. Entre los que sobresalía Italia con 8.5 kg per capita, mientras que el consumo en Estados Unidos, principal país productor, era extremadamente bajo con 1.6 kg per capita. México se ubicó en un nivel alto con 5.6 kg (24).

4.1.2 Situación del mercado nacional de limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka)

a) Producción de limón persa

En nuestro país se producen los tres tipos de limón más importantes a nivel mundial. Sobresale por superficie, exportación de jugo y aceite, y por consumo nacional, el limón mexicano *Citrus aurantifolia*, con una producción anual cercana a 800,000 toneladas. En segundo lugar, limón persa *Citrus latifolia*, cuya importancia radica en que se destina fundamentalmente a la exportación en fresco, con una producción nacional de alrededor de 130,000 toneladas por año. En tercer lugar se ubica el limón verdadero o amarillo, o italiano, *Citrus limon*, que se siembra en pequeñas extensiones y por ello no es importante para el país; su volumen de producción oscila

en 5,000 toneladas, según estimaciones realizadas en 1993 por el USDA (Departamento de Agricultura de EE.UU.) (24).

La evolución en la producción de limón persa en nuestro país muestra tres periodos definidos en el lapso de 1980-1992. El primer periodo abarca los años anteriores a las exportaciones hacia los Estados Unidos que iniciaron a raíz de las restricciones que este país impuso al limón mexicano en fresco en 1982. En dicho periodo la producción fue inferior a las 40,000 toneladas en promedio (24).

El segundo periodo de la producción se da durante 1983 y 1989, años del incremento continuo de las exportaciones a Estados Unidos, antes de la gran helada en diciembre de 1989, que afectó severamente las plantaciones de cítricos en Florida, Texas y Norte de México. En este periodo la producción alcanzó un promedio anual de 60,000 toneladas, es decir 50% mayor que en años anteriores. De 1990 a la fecha, la comercialización de este cítrico ha experimentado un gran auge tanto a nivel nacional como internacional (24).

Acontecieron diversos fenómenos naturales que favorecieron el crecimiento de las exportaciones de este producto hacia Estados Unidos, como el huracán Andrew ocurrido en 1992, que devastó las plantaciones citrícolas de Florida, obligando a este país a aumentar las importaciones de este producto de México (24).

Se estima que la producción de cítricos en México para el ciclo 1999/2000 será menor en relación al ciclo anterior a causa de las sequías ocurridas durante el primer semestre de 1999, afectando algunas zonas productoras, seguido de una época de fuertes lluvias que dañaron la producción de otras regiones (22).

El Gobierno de México considera que existen alrededor de 18,500 hectáreas dañadas de cítricos en el estado de Veracruz; aunado a lo anterior, los altos costos de producción y la baja disponibilidad de créditos, pueden propiciar un descenso en el cultivo de cítricos dentro de los próximos tres años (22). Para el caso del limón persa se registró un descenso en el rendimiento por hectárea, ya que según cifras de 1997 era de 12.39; mientras que en 1998 fue de 10.53 (1).

Según estadísticas, hasta 1998 se cultivaban aproximadamente 24,550 hectáreas de limón persa en el país, de las cuales, 18,807 se encontraban en plena producción, es decir, el 76.6%. Lo anterior equivale a una producción de 198,071 toneladas (1).

En la actualidad, la mayor parte de la producción de limón persa proviene de los estados de Veracruz, Tabasco, Yucatán, San Luis Potosí y Jalisco, los cuales en su conjunto aportan el 98.8% de la producción total nacional, siendo Veracruz el principal estado, ya que contribuye con 72.81% del volumen total (Tabla 2) (24).

Tabla 2. Cultivo de limón persa (1998)

ESTADO	SUPERFICIE SEMBRADA (Ha)	SUPERFICIE COSECHADA (Ha)	PRODUCCIÓN (ton)	RENDIMIENTO (ton/Ha)
Veracruz	14,733	13,821	144,225	10.44
Tabasco	7,257	3,100	23,250	7.50
Yucatán	1,098	560	17,158	30.64
San Luis Potosí	800	738	6,313	8.56
Jalisco	331	314	4,701	14.97
Sonora	100	100	1000	10
Nayarit	118	118	725	6.14
Hidalgo	91	49	674	13.76
Quintana Roo	20	5	17	3.4
Michoacán	2	2	8	4
TOTAL	24,550	18,807	198,071	10.53

Fuente: Centro de Estadística Agropecuaria, SAGAR, 1998.

Existe una diferencia importante en la participación de este estado con respecto a los otros en cuanto a la relación entre la superficie sembrada y cosechada. En Veracruz el total de la superficie sembrada se encuentra en producción, mientras que en los otros estados hay plantaciones nuevas que aún no producen (1).

Por otro lado, algunos estados que anteriormente figuraban en la producción de este cítrico como Colima, Jalisco y Oaxaca, han optado por el cultivo del limón mexicano. Como se distingue en la tabla 3, el limón mexicano se produce principalmente en las costas del Pacífico, en los estados de Colima, Michoacán, Guerrero y Oaxaca (1).

Tabla 3. Cultivo de limón mexicano (1998)

ESTADO	SUPERFICIE SEMBRADA (Ha)	SUPERFICIE COSECHADA (Ha)	PRODUCCIÓN (ton)	RENDIMIENTO (ton/Ha)
Colima	32,592	30,192	414,040	13.71
Michoacán	26,978	22,805	250,183	10.97
Oaxaca	18,549	17,153	182,017	10.61
Guerrero	7,351	7,340	61,356	8.36
Tamaulipas	1,995	1,995	14,160	7.10
Jalisco	1,294	1,279	11,702	9.15
Veracruz	1,409	1,409	11,510	8.17
Otros	4,777	3,742	27,876	7.45
TOTAL	94,945	85,915	972,844	11.32

Fuente: Centro de Estadística Agropecuaria, SAGAR, 1998.

El volumen total de producción de ambos cultivos durante 1999 fue de aproximadamente 1,120,000 toneladas, ligeramente menor que en 1998. Esta cifra refleja aún el daño que provocaron las sequías ocurridas en México durante el primer semestre de 1999. A raíz de esto, la producción de limón Persa en el estado de Veracruz se vio afectada, aunque en menor proporción que otros cítricos. Dicho fenómeno también repercutió negativamente en la producción de limón mexicano en Michoacán y Colima (22).

b) Exportaciones de limón persa

El cultivo del limón persa en México es uno de los más recientes. Su importancia económica se remonta a escasos 20 años, cuando su producción empieza a incursionar en forma relevante en el mercado de Estados Unidos. La producción de limón persa en México se orienta al mercado exterior, siendo su destino principal Estados Unidos. Las exportaciones de Estados Unidos se han incrementado en forma acelerada en los últimos años. A consecuencia de la problemática en Florida, principal estado productor en Estado Unidos, México se ha convertido en el principal abastecedor de ese mercado, cubriendo el 97% de sus importaciones (24). Existe en ese país una creciente tendencia al consumo de productos alimenticios saludables, bajos en calorías, lo que ha aumentado el consumo de frutas y verduras frescas. Desde la entrada en vigor del Tratado de Libre Comercio con México, alrededor del 50% de las tarifas agrícolas fueron eliminadas o sustituidas con tarifas basadas en cuotas, lo que trajo como consecuencia un notable incremento del comercio de estos productos entre ambos países. En Estados Unidos el cultivo de frutos

tropicales se redujo significativamente y en algunos casos desapareció, lo cual ha generado un nicho importante para la comercialización de productos hortofrutícolas en fresco (66). A pesar de que el cultivo de naranja ocupa el primer lugar en la producción de cítricos a nivel nacional (3,329,236 toneladas en 1998), el aporte en la obtención de divisas por las exportaciones de limón persa continua siendo mayor que el generado por la naranja. Por ejemplo, la exportación de limón en 1993 representó el 137% de las exportaciones de jugo de naranja de México, lo que denota su importancia en este rubro tal como se muestra en la tabla 4 (24).

Tabla 4. Exportaciones de limón persa y jugo de naranja

Año	LIMÓN PERSA		JUGO DE NARANJA	
	Volumen (ton)	Valor (1000 USD)	Volumen (ton)	Valor (1000 USD)
1991	72,614	15,913	21,229	29,065
1992	101,943	22,397	13,256	7,281
1993	107,097	32,678	23,387	23,823

Fuente: S.A.R.H. Colección Estructura Dinámica de los Sistemas Industriales. U.A.C.H., 1994.

El estado de Veracruz es el principal productor y exportador de limón persa en México. A causa de los beneficios que genera su exportación, se ha destinado un área mayor para el cultivo del producto en este estado; por lo que los productores de la zona han optado por sembrar limón persa en lugar de naranjas y toronjas debido a los precios favorables que genera a nivel internacional. Existe una relación entre producción y exportación en las principales regiones de cultivo del fruto de Veracruz y Tabasco. Los principales países destinatarios de las exportaciones mexicanas son los Estados Unidos, Alemania, los Países Bajos, Japón, Canadá, Francia, Bélgica y el Reino Unido (Tabla 5) (24).

Tabla 5. Exportaciones de limón persa y limón mexicano

DESTINO	1998 (kg)	1999 (kg)	2000/MAYO (kg)
Estados Unidos	148,176,266	144,724,663	65,871,733
Alemania	447,496	458,045	673,678
Países Bajos	973,783	2,123,349	622,056
Japón	1,801,186	1,584,093	470,811
Canadá	1,312,919	2,326,004	347,521
Francia	2,995,196	2,836,042	237,071
Bélgica	1,201,322	1,284,163	220,345
Reino Unido e Irlanda	1,717,886	1,847,448	208,700
Otros	785,874	2,184,253	165,068
TOTAL	159,411,928	159,368,060	68,816,983

Fuente: Banco Nacional de Comercio Exterior. SECOFI, 2000.

Como se aprecia en la tabla 6 existe un gran número de empresas demandantes de limón persa a nivel mundial.

Tabla 6. Empresas demandantes de limón persa a nivel mundial

DESTINO	EMPRESA DEMANDANTE
Alemania	Frucht Andel Magazine
Bélgica	Ecip Technical Assitance Unit
Bulgaria	Interfruct
Canadá	Aliments Imex Foods Inc.
China	Grandhall Industrial LTD.
Costa Rica	Conservas del Valle S.A
Dinamarca	Ap Moller
España	Frutas Eurobanan Canarias
Gran Bretaña	Fyffes Produce Distribution
Holanda	Boers Holland B.V.
Italia	Natale Galeazzo & Figli S.N.C.
Perú	Inversiones Victoria S.A
Polonia	Czarpol
Senegal	Wakhirlou Sarl Export Fruits Et Legumes
Sri Lanka	Helping Sri Lanka to Grow

Fuente: ASERCA, 1999.

c) Consumo de limón persa

Como se ha mencionado el limón persa o sin semilla es, principalmente un cultivo de exportación para el país. El producto que no cumple con los estándares de calidad exigidos por los países importadores o el de segunda calidad se destina al consumo interno (24).

Durante el ciclo 1998/1999 se registró un descenso en el consumo nacional de cítricos como consecuencia del bajo abastecimiento del fruto y los altos precios. Sin embargo el consumo de limón mexicano y limón persa en 1999 fue de 693,000 toneladas, 2.5% mayor que en 1998. De aquí que el mercado nacional del limón persa adquiera cada vez mayor importancia, incrementándose el consumo per cápita en mas de 100% durante la última década (22).

El limón mexicano es preferido por la población mexicana, debido a su sabor y acidez. En el caso del limón persa, los mejores precios son los que se obtienen en el mercado de exportación mientras que los del nacional se encuentran por debajo.

Consecuentemente, el precio del limón mexicano siempre es mayor que el limón persa, en muchas ocasiones en una relación de 2 a 1 (Tabla 7) (24).

Tabla 7. Precios del limón persa en el mercado nacional

MES	LIMÓN MEXICANO 1999 (pesos/kg)	LIMÓN PERSA 1999 (pesos/kg)
Enero	6.30	2.17
Febrero	7.60	3.76
Marzo	2.63	N/D
Abril	2.50	4.00
Mayo	1.94	2.80
Junio	2.64	1.01
Julio	2.50	0.91
Agosto	2.60	0.91
Septiembre	2.55	1.26
Octubre	3.02	1.70
Noviembre	N/D	N/D
Diciembre	N/D	N/D

Fuente: Departamento de Agricultura de EE.UU., 1999/2000.

N/D: No disponible.

Cuando ambos productos se encuentran disponibles en el mercado nacional los precios tienden a ser bajos. Los precios promedio del limón persa durante los meses de enero a abril, fluctúan entre dos mil y siete mil pesos por tonelada, mientras que se cotiza en un intervalo de 400 a 1000 pesos por tonelada el resto del año (22).

El incremento en el precio del limón persa está en función de los altos costos de producción (8,000 a 9,500 pesos por hectárea) que comprenden los insumos necesarios (fertilizantes, pesticidas y otros productos agroquímicos) para garantizar la calidad del producto (22).

Cabe mencionar que en los últimos años durante el invierno, han reaccionado muy bien los precios del limón persa en el mercado nacional. En algunos momentos, los productores han preferido comercializar el fruto en el país que exportarlo. Aunque esta situación todavía es una excepción, el limón persa tiene una gran oportunidad de crecimiento en el mercado nacional, siempre y cuando se le de la promoción adecuada (24).

4.1.3 Veracruz. Principal estado productor de limón persa en México

a) Estado de Veracruz

El estado de Veracruz, una de las principales entidades agroeconómicas de México, es el principal productor de limón persa. Dicho fruto ocupa el quinto lugar, por el valor generado entre los principales frutos y cultivos perennes del estado, siendo superado por caña, naranja, café y mango (Tabla 8) (1,24).

Tabla 8. Principales cultivos perennes en el estado de Veracruz

CULTIVO	VALOR (\$)
Caña de Azúcar	4,653,084,089
Naranja	1,276,630,397
Café cereza	1,517,166,966
Mango	341,033,768
Limón	334,958,920
Plátano	165,901,409
Aguacate	11,108,055

Fuente: Centro de Estadística Agropecuaria, SAGAR, 1999.

Hasta 1998 existían en Veracruz más de 14,000 hectáreas plantadas de limón, las cuales producían cerca de 150,000 toneladas anuales del fruto (1). Se cuenta en el estado con una infraestructura agroindustrial de más de 69 empacadoras, mismas que exportan cerca del 80% de su producción a los mercados de los Estados Unidos, Europa y Japón. La actividad del limón persa en Veracruz genera 1,200,000 jornales por año y alrededor de 2,000 empleos directos. En términos económicos, de esta actividad citrícola dependen más de 10,000 familias y existe una derrama de recursos en toda la cadena de producción y comercialización del orden de los \$70,000,000 de dólares (11). Cerca del 20% de las huertas en el estado de Veracruz utilizan sistemas de microirrigación que les permiten mantener la producción durante todo el año. El rendimiento del limón persa en Veracruz oscila de 5 a 12 toneladas por hectárea en función de las prácticas culturales empleadas, existen cultivos que pueden llegar a producir hasta 18 toneladas por hectárea (22).

Dentro del estado de Veracruz destaca la región de Martínez de la Torre, que aporta más del 76% de la superficie estatal dedicada al cultivo del limón persa. Además de este, existen los

municipios de Fortín de las Flores, Cuitláhuac, y Tuxpan, entre otros, que contribuyen a su producción (Figura 3) (24).

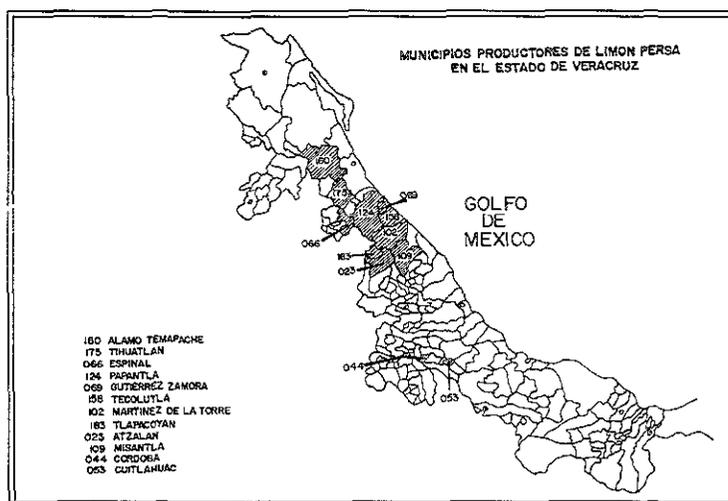


Figura 3. Municipios productores de limón persa en el estado de Veracruz.

En estudios de campo realizados en 1993 en la zona Norte de Veracruz, se observó que la mayor parte de las plantaciones de limón, aquellas que se encontraban en plena producción y cuya edad oscilaba entre los 10 y 20 años, representaban apenas el 46% del total de las plantaciones, mientras el 23% tenía una edad entre los 4 y 10 años. En el otro extremo las plantaciones menores de 4 años de edad, aquellas que todavía no se habían incorporado en forma plena a la producción, constituían ya el 27%. En ese tiempo se preveía que el 50% de las plantaciones iba a incidir en los años subsiguientes de forma importante en la producción nacional, lo que reflejaba una verdadera fiebre de los agricultores del país por cultivar limón persa, dado el alto potencial productivo de las plantaciones jóvenes (24).

No obstante, la dinámica de incorporación de nuevas plantaciones es distinta para cada región. En la región del centro de Veracruz, la zona de Cuitláhuac representa actualmente el área de mayor incremento a nivel estatal. Tan sólo esta zona incorporó de 1985 a 1993 cerca de dos mil hectáreas, sustituyendo fundamentalmente al cultivo de caña de azúcar sembrado en áreas de riego. Existen otras áreas como Ciudad Alemán, San Andrés y Pánuco donde se intentó cultivar el limón persa; sin embargo las condiciones naturales no permitieron obtener los mejores

resultados, por lo que los productores decidieron no incrementar las áreas destinadas a dicho cultivo (24).

En forma general se puede concluir que las regiones que mantienen e incrementan el cultivo de limón persa en el país, son aquellas en las que se puede obtener una mayor productividad por las condiciones naturales. Sin embargo, se observa una tendencia decreciente en la productividad de limón persa, lo que es indicativo de problemas de tipo tecnológico pues tanto en Tabasco como en Veracruz era común escuchar a productores en la década de los 80's, que obtenían rendimientos superiores a las 20 ton/Ha (24).

Dada la importancia económica y social que este cultivo representa para el estado de Veracruz, se han creado organismos encargados de mantener el prestigio de la calidad del limón persa veracruzano en el mundo, mediante el establecimiento de estrategias que permitan priorizar las líneas de acción encaminadas a generar el desarrollo integral de la actividad del Estado, como la reciente creación del Consejo Veracruzano del limón Persa (11).

b) Región Martínez de la Torre, Veracruz

El estado de Veracruz como se ha mencionado anteriormente, es el más importante productor de limón persa en nuestro país. Dentro de dicho estado figura la región de Martínez de la Torre, especializada en la producción de este cítrico, la cual representa el 76% de la superficie total estatal según reportes de 1993 proporción que se mantiene hasta la fecha. La región de Martínez de la Torre comprende los siguientes municipios, en orden de importancia por la superficie sembrada de limón persa: Martínez de la Torre, Atzalan, Tlapacoyan, Espinal, Misantla, Papantla, Nautla y Vega de la Torre.

El cultivo de limón persa se inició en Martínez de la Torre promovido por la compañía Coca Cola, que en los años 70's en búsqueda de materia prima del ácido cítrico para la elaboración de sus refrescos, convenció a agricultores de la región para que lo plantaran. El limón obtenido no tuvo las características deseadas por la compañía (altas cantidades de jugo y bajas de aceite) razón por la cual perdió interés en su cultivo. Ante esto, los agricultores se enfrentaron al

problema de qué hacer con las plantaciones. Así poco a poco se fueron introduciendo en el mercado estadounidense, por la ruta del Valle de Texas, distribuyéndose al resto del país bajo el esquema de comercialización establecido en el sureste de Florida. Posteriormente, el cultivo de limón persa se extendió a otras zonas. A continuación se muestra la evolución de la superficie sembrada de limón persa de Martínez de la Torre y otras regiones (24).

Tabla 9. Superficie sembrada con limón persa en el estado de Veracruz

REGIÓN	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993
Mtz. De la Torre	4,200	4,228	5,001	5,635	4,838	5,208	8,950	9,819
Fortín de las Flores	0	0	700	1,100	1,450	1,600	1,780	1,680
Tuxpan	600	628	628	663	835	806	730	554
Veracruz	30	33	33	40	27	17	92	329
Coatepec	230	310	310	26	330	340	298	297
Otras	248	307	382	25	291	262	227	124
TOTAL	5,308	5,500	7,034	7,950	7,771	8,233	12,070	12,983

Fuente: S.A.R.H. Colección Estructura Dinámica de los Sistemas Industriales. U.A.C.H., 1994.

Dado los factores socioeconómicos relacionados con el sistema de comercialización (intermediarismo), altos costos de producción y poca organización de productores; alrededor de Martínez de la Torre se ha desarrollado la infraestructura más importante en México en lo que respecta a la producción, empaque y comercialización del limón persa (24).

c) Estrategias para elevar la productividad

Ante la problemática que involucran los aspectos técnicos, agroclimáticos y fitopatológicos presentes en las regiones productoras de limón persa, el Consejo Veracruzano del limón persa (COVERLIMON) ha implementado en el estado una campaña permanente de comercialización que busca incrementar el consumo del limón persa, tanto en los mercados nacionales e internacionales. Dentro de sus esquemas de trabajo el COVERLIMON realiza las siguientes actividades:

- ❖ Estudios de mercado que le permiten identificar mejores canales de comercialización a nivel nacional y de exportación.

- ❖ Gestiona la elaboración y puesta en operación de normas que regulen la calidad y la certificación fitosanitaria del cultivo.
- ❖ Promueve el establecimiento de un organismo certificador de la calidad e inocuidad alimentaria que permita competir en condiciones adecuadas en los mercados de exportación cada vez mas exigentes.
- ❖ Ejecuta esquemas que promuevan la operación de financiamientos, y/o el establecimiento de alianzas estratégicas que favorezcan el desarrollo del cultivo, su comercialización, industrialización, así como la capitalización de la actividad en su conjunto.

Actualmente se están diseñando diferentes paquetes tecnológicos micro-regionales de transferencia de tecnología en campo que les permita a los productores la obtención de un mayor porcentaje de frutos, con calidad de exportación, tal y como lo demandan los mercados de Europa, Japón y Estados Unidos (11).

4.2. TÉCNICO-CIENTÍFICOS

4.2.1 Respuestas de las plantas al estrés

a) Tolerancia cruzada

Las plantas pueden estar expuestas a diferentes condiciones ambientales como: sequías, inundaciones, cambios en la intensidad luminosa, alta salinidad, desbalance nutricional, compuestos tóxicos, elevadas o bajas temperaturas, ataque de patógenos, etc. Si tales condiciones persisten pueden provocar en la planta una situación de estrés. El estrés es un estado o condición adversa, biótica o abiótica, en la que un individuo o alguno de sus órganos (en este caso las plantas o sus órganos) está en un alto riesgo de padecer una alteración fisiológica o un daño físico. Es frecuente que eso ocurra cuando se exige un rendimiento muy superior al normal o por cambios ambientales drásticos (5).

Debido a su inmovilidad, las plantas tienen una mayor necesidad de protección ante un estrés transitorio que puede afectar dramáticamente su supervivencia y productividad (85). Las plantas muestran respuestas moleculares rápidas a los cambios en las condiciones ambientales (41). Probablemente la observación más relevante de los estudios de los últimos años en esta área, es la universalidad de las respuestas de éstas al estrés. Todas las plantas reaccionan a los distintos tipos de estrés a través de varias vías que están entrecruzadas, a esto es a lo que se le llama tolerancia cruzada. La red de interacciones entre las distintas entradas y canales de señalización que se forman de manera específica en una planta, conduce a ajustes metabólicos que incluyen reacciones que son comunes a todas o casi todas las especies vegetales (85). Varios investigadores, dedicados al estudio de la fisiología de las plantas sometidas a estrés proponen, que puede existir un común denominador para el mecanismo de los efectos dañinos ocasionados por la aplicación de diversos tratamientos de estrés, a niveles que no causen daños apreciables. De acuerdo a esta hipótesis las plantas responderían con sistemas de defensa similares a una amplia variedad de tipos de estrés, como osmótico, contaminantes químicos, oxidativo, salinidad, frío o calor, rayos U.V., bajos niveles de oxígeno, infecciones patógenas y daños mecánicos (85).

Entre estas respuestas se encuentran: el secuestro de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés), ajustes en el estado redox, en el balance carbono/nitrógeno, osmóticos a través de la acumulación de algunos metabolitos, así como la disminución en la síntesis total de proteínas e inducción de proteínas del estrés. Se sugiere que estos ajustes pueden proteger al tejido del posible daño causado por el estrés (85).

Por ejemplo, se ha reportado que la aplicación de estrés moderado a productos sensibles al frío induce resistencia a las bajas temperaturas (60). En las plantas sometidas a estrés hídrico se presenta un incremento en los niveles de ácido abscísico (ABA), contenido de azúcares y prolina, hecho que se ha relacionado con la tolerancia a los daños ocurridos a bajas temperaturas (28,29,30,87).

En frutos de caña de azúcar se ha propuesto una respuesta hormonal como consecuencia de un estrés hídrico. Se postula que ocurra una inversión de sacarosa promovida por la baja humedad relativa y consecuente pérdida de humedad por parte de las plantas (30).

Se han propuesto varios mecanismos para explicar la tolerancia cruzada en plantas. Se sugiere que un tipo de estrés induce la síntesis de proteínas específicas que estarían involucradas en la protección contra otros tipos de estrés (9). En este sentido, se ha observado que varias proteínas reguladas por frío son homólogas y tienen propiedades similares a las proteínas inducidas por sequía y ácido abscísico (ABA), como las LEAs (proteínas abundantes de la embriogénesis tardía), RABs (reguladoras del tráfico a través de las membranas) y las dehidrinas (9). Un estrés de calor moderado induce la expresión de proteínas HSPs (proteínas de choque térmico) que protegen del daño por frío (29,40,86,91). El estrés por ozono o por metales pesados promueve la síntesis de proteínas PR (proteínas relacionadas con la patogénesis) que aumentan la resistencia de la planta al ataque de patógenos.

Otro mecanismo que se ha sugerido podría estar involucrado en la tolerancia cruzada a los distintos tipos de estrés, es la activación de los mecanismos de detoxificación de especies reactivas de oxígeno ROS (H_2O_2 , radicales libres, superóxido e hidroxilo, etc.). Debido a que las ROS son altamente reactivas y producen perturbaciones en las actividades enzimáticas y daño membranar (lipoperoxidación), no son compatibles con la función celular y frecuentemente se considera peligrosa y dañina su generación (23,68). Debido a lo anterior, las plantas poseen mecanismos de detoxificación de las ROS tanto enzimáticos, como no enzimáticos. Estos mecanismos son suficientes para mantener regulados los niveles de ROS en condiciones normales (5). Sin embargo, la presencia de un estrés biótico o abiótico produce un incremento en los niveles de los oxidantes celulares y mucho del daño observado por el estrés se debe al daño oxidativo a nivel celular, particularmente debido a la pérdida de la integridad membranar ocasionada por la lipoperoxidación. Por lo tanto, el aumento en los mecanismos de defensa antioxidante tienen un papel predominante en la prevención del estrés oxidativo, en este sentido se ha observado como resultado de la exposición a un estrés un aumento en los compuestos y enzimas involucradas en los mecanismos de detoxificación (23,95).

A pesar de los resultados obtenidos, hasta la fecha no se ha encontrado un mecanismo común. Se sugiere que distintas plantas pueden tener diferentes mecanismos de defensa contra un mismo estrés. Los futuros estudios en este campo, deberán enfocarse a elucidar los mecanismos de la

tolerancia cruzada, lo cual permitiría la generación de plantas transgénicas con tolerancia a distintos tipos de estrés (85).

b) Estrés por Calor

Existen reportes, que señalan al estrés por calor como inductor de la formación de proteínas de choque térmico, tanto en especies sensibles (pepino, algodón, tabaco, frijol mung y tomate) como en las tolerantes al frío (chícharo). Se ha visto que estas proteínas se encuentran presentes en altos niveles en especies que han desarrollado cierta tolerancia al frío, por lo que se han propuesto como mecanismos de inducción de dicha tolerancia. (83,101). Los organismos frecuentemente producen nuevas proteínas como parte de su respuesta a diferentes tipos de estrés abióticos ambientales. La exposición a altas temperaturas no letales induce la expresión del RNAm y la síntesis *de novo* de una serie de proteínas características llamadas HSPs (39,83,101,102). Cabe señalar que estas proteínas pertenecen al grupo molecular de las chaperonas, que se caracterizan por su capacidad para reconocer o unir proteínas que se encuentran inactivas o en estado inestable (91,100,101).

Se ha observado que la exposición de los cotiledones de pepino a tratamientos térmicos (37° C - 6 horas) induce la formación de proteínas de choque térmico, las cuales reducen la sensibilidad a las bajas temperaturas; mientras que en frutos de tomate se ha inducido la síntesis de proteínas de bajo peso molecular (HSP60 y HSP70) (86). Con base en experimentos realizados en chícharos, al término del estrés por calor, hay una persistencia de dichas proteínas, lo cual resalta el papel protector que desempeñan durante tal periodo (86,100). Esto mismo se ha observado en maíz, pepino, tomate y algodón. (7,40,74,83). La acumulación de estas proteínas confiere protección contra un subsecuente estrés térmico que sería letal para los organismos (86,87).

Todos estos experimentos sugieren una correlación entre la tolerancia del fruto al frío y la presencia continua de las HSPs a bajas temperaturas (86). La termotolerancia conferida por las HSPs ha sido parcialmente atribuida a la asociación de estas proteínas con las membranas, estabilizando su estructura y función (conformación, transporte, ensamble de proteínas y modulación de sitios receptores), durante y después del estrés térmico (100).

El calor no es el único tratamiento por estrés que desencadena la expresión de las HSPs. El etanol, arseniato, metales pesados, análogos de aminoácidos, deficiencia de glucosa, ionóforos de calcio y un sin número de tratamientos afecta la síntesis de las HSPs. Consecuentemente a las HSPs se les conoce de manera más general como “proteínas de estrés”. Las HSPs no son solamente proteínas de estrés sintetizadas en respuesta a perturbaciones celulares severas. Algunos reportes indican que su producción se debe a cambios específicos que no son comunes para los diferentes tipos de estrés (100). El estrés por calor desencadena otras respuestas, entre las que destacan el descenso en la proporción esterol/fosfolípido durante la refrigeración. Tal proporción está directamente asociada con la viscosidad y permeabilidad de la membrana. Este fenómeno afecta su fluidez e influye en la capacidad del tejido para soportar el estrés al frío (101).

Se ha reportado que en limones sometidos a condiciones de estrés por calor se acumula etanol y acetaldehído cuando son refrigerados, lo cual sugiere un metabolismo anormal, resultado de las bajas temperaturas (29). Existen estudios que reportan la abundancia de carbohidratos en el flavedo de limón los cuales se cree que están involucrados en la respuesta de las plantas al estrés (3). Sin embargo, este comportamiento no es reproducible en todas las plantas, ya que en frutos de sandía se han encontrado pérdidas en el contenido de azúcares a altas temperaturas (78).

Se ha manifestado que los azúcares solubles confieren tolerancia al estrés, y protegen las membranas celulares de temperaturas extremas, por medio de la estabilización de las proteínas. Es factible que los azúcares y polialcoholes protejan a las proteínas de la desnaturalización por su efecto sobre la estructura del agua y el grado de interacciones hidrofóbicas entre las biomoléculas. Alternativamente se ha sugerido la formación de un estado cristalino metaestable de alta viscosidad, que proporciona gran estabilidad a las reacciones químicas y biomembranas cuando son expuestas al estrés (3).

Además, el estrés por calor contribuye al aumento de compuestos antifúngicos (escoparona y umbeliferona) en la parte externa del pericarpio y reduce la pudrición causada por hongos del género *Penicillium*. en cítricos. Así mismo se favorece la formación de lignina y la cicatrización de heridas causadas durante la cosecha y transportación de los frutos (101,102).

c) Estrés por frío

La mayoría de los cultivos de origen tropical o subtropical son sensibles al frío, cualquier descenso por debajo de la temperatura crítica de almacenamiento (10 a 13° C) ocasiona una disminución de su vida útil, provocando el desarrollo de alteraciones fisiológicas conocidas como daño por frío (DPF) (29,102). El daño por frío se manifiesta de diversas formas, dependiendo del producto del que se trate, pudiendo presentarse manchas oscuras y/o picado en la cáscara, desarrollo de olores y sabores anormales, pérdida de color, senescencia acelerada, etc. (36, 101, 102). Aparentemente el estrés moderado por bajas temperaturas puede inducir una respuesta de adaptación en los frutos y vegetales, cuando estos son sometidos posteriormente a un estrés por frío más severo (60,101).

Proteínas

El espectro característico de proteínas de un órgano particular de la planta es frecuentemente alterado a temperaturas cercanas o por debajo del límite de la de crecimiento. Estos cambios se han estudiado en dos enzimas involucradas en la síntesis de compuestos fenólicos: fenil alanina amonía liasa (FAL) e hidroxicinamoil coenzima A quinato hidroxicinamoil transferasa (CQT). La cantidad extraída de esta enzima aumenta cuando las plantas o alguno de sus órganos es almacenado a bajas temperaturas. Por ejemplo, frutos de manzana y papa refrigerados han manifestado un aumento en la síntesis de las enzimas FAL y CQT respectivamente, al mismo tiempo que disminuye su velocidad de degradación (29). En los tejidos fotosintéticos, la luz puede interactuar con las bajas temperaturas en el desarrollo de lesiones por frío. El daño más relevante ocasionado por la luz sobre los tejidos fotosintéticos se presenta en la enzima superóxido dismutasa (SOD). Las reacciones del transporte de electrones generan en los cloroplastos y la mitocondria pequeñas cantidades del ion superóxido O_2^- . Este ion y su producto oxidado (1O_2), son fuertes oxidantes y peroxidizan las dobles ligaduras de los lípidos. La enzima SOD protege a los lípidos convirtiendo el ion superóxido a péroxido de hidrógeno, que es posteriormente descompuesto por la catalasa (29, 101).

Cinética enzimática

La descripción más sencilla del efecto de la temperatura sobre una enzima está dada por el valor del coeficiente de temperatura (Q_{10}). La mayoría de las enzimas tienen una constante Q_{10} de 2, es

decir, su velocidad máxima aumenta al doble por cada incremento de 10° C en la temperatura (29, 108). Sin embargo, el valor de Q_{10} de algunas enzimas, especialmente la de las plantas sensibles al frío generalmente aumenta a bajas temperaturas. El comportamiento anómalo de muchas enzimas ha sido atribuido a los cambios dependientes de temperatura, en las propiedades de los lípidos a los que están asociadas (29).

Se ha especulado que la sensibilidad al frío por parte de las enzimas de las plantas resulta de los cambios en la afinidad entre enzima y sustrato a causa de la temperatura. Algunos estudios realizados en la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa en papas, sugieren que la forma en que la temperatura modula la afinidad enzima-ligando es importante en el mantenimiento del metabolismo a bajas temperaturas (29).

Ante las diversas respuestas enzimáticas observadas en las plantas, el mecanismo de adaptación al frío, involucra la modificación de procesos regulatorios más que un cambio en la secuencia de aminoácidos de la enzima. Estos estudios indican la importancia que tienen los cambios de la relación proteína/enzima en la adaptación de las plantas a diferentes patrones de temperatura (29).

Además se ha sugerido que la estabilización de las proteínas a bajas temperaturas por las uniones disulfuro (S-S) puede ser un mecanismo de adaptación general al frío. Adicionalmente algunos de los efectos del frío sobre las enzimas que han sido atribuidos a las interacciones lipídicas también pueden resultar del debilitamiento de las interacciones hidrofóbicas (29).

Interacciones lípidos-proteínas

Varias investigaciones sugieren que la composición lipídica de las membranas de los procariotes se encuentra adaptada a la temperatura del medio ambiente. Del mismo modo, en las plantas, la composición lipídica cambia con la temperatura de crecimiento. Aún se desconoce si esta composición influye en la temperatura a la que ocurre el daño por frío. Los proponentes de la hipótesis de que la composición lipídica es importante para decidir si una planta es sensible al frío han apuntado en repetidas ocasiones la evidencia de cambios en la fase lipídica, separaciones de fase o cambios en el ordenamiento molecular a temperaturas por debajo de las que ocurre el

daño por frío. Contrario a lo anterior, se ha estipulado que los lípidos de la membrana no influyen del todo en la sensibilidad al frío (29).

Efecto de las variaciones diurnas de temperatura sobre la resistencia al frío

El tiempo de exposición a bajas temperaturas necesario para lesionar a una planta, varía dependiendo de la hora del día o la noche en que el enfriamiento ocurra. Por ejemplo, en frutos de jitomate el periodo de exposición a 0° C requerido para matar el 50% de las radículas es de aproximadamente seis días si el enfriamiento tiene lugar cuatro horas después del anochecer, sin embargo, si el abatimiento de la temperatura acontece al amanecer las lesiones por frío se presentan a los tres días. Este fenómeno ocurre frecuentemente entre especies sensibles al frío. El aumento en la sensibilidad a las bajas temperaturas previo al amanecer puede ser eliminado si las plantas son sometidas a un estrés hídrico o son rociadas con ABA. El ABA tiene un efecto protector contra el estrés por frío. La aplicación exógena de ABA reduce la sensibilidad al frío. Esta sensibilidad también es eliminada a través del estrés hídrico que propicia un mayor contenido endógeno del ABA. Adicionalmente este regulador del crecimiento afecta las propiedades de fluidez de la membrana por lo que se ha propuesto como medio de protección contra el daño por frío (29, 87).

El ABA también reduce el crecimiento y el flujo de carbono a través de las vías metabólicas de la respiración celular e induce la dormancia. Estas observaciones indican que el ABA puede retrasar la acumulación de metabolitos tóxicos, si disminuye la velocidad de las vías metabólicas que los producen. Los diferentes efectos del ABA sugieren que existe una interacción compleja entre el estrés hídrico y por frío en el desarrollo del daño por frío. Estos hechos son consistentes con el efecto de acondicionamientos a bajas temperaturas contra el daño por frío, previo a su almacenamiento refrigerado (29).

Lípidos

Durante el desarrollo o crecimiento a bajas temperaturas, hay un aumento general en los lípidos, especialmente de fosfolípidos, así como en el grado de insaturación de las cadenas de ácidos grasos, resultado de una alteración en la actividad de la desaturasa. Adicionalmente ocurre una interrupción en el incremento de la relación esterol/fosfolípido. Esta relación está asociada

directamente con la viscosidad y permeabilidad de la membrana, afectando su fluidez, lo cual influye en la capacidad del tejido para soportar el estrés por frío. Estos eventos coinciden con la necesidad de incrementar la fluidez de las membranas a bajas temperaturas (29). En calabaza se han encontrado altos niveles de fosfolípidos como: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol y galactolípidos. Se ha observado en pepino, calabaza y toronja, que el aumento en fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y ácido linoleico les confiere tolerancia a las bajas temperaturas (101). Existe gran evidencia de que hay un efecto primario del frío en la fluidez de los lípidos de la membrana, afectando los lípidos asociados a las enzimas de las membranas de las plantas (29).

Poliaminas y otros metabolitos

Adicionalmente, se han observado altas concentraciones de poliaminas en plantas expuestas a bajas temperaturas (53, 95) y a otros tipos de estrés, como el nutricional, choque osmótico, radiación U.V., deficiencia de oxígeno, salinidad, bajo pH y deficiencia de potasio y magnesio. Por ejemplo, los niveles de putrescina aumentan como resultado del estrés provocado por el almacenamiento a bajas temperaturas, protegiendo al tejido. Las poliaminas se unen a los radicales libres y estabilizan a las membranas a través de interacciones iónicas (95). Existen estudios que indican un aumento en los niveles de espermidina y espermina en calabaza. La inducción de la síntesis de poliaminas en calabaza y toronja ayuda a la disminución del daño por frío (101). Algunos reportes, mencionan que los jasmonatos juegan un papel importante en la cascada de transducción de señales que operan en las plantas para inducir respuestas al estrés. En muchos casos tienen acción similar al ABA. El metil jasmonato puede mediar la respuesta natural de las plantas al estrés por frío (60).

4.2.2 Fisiología del limón

El limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) pertenece a la familia de las rutáceas. El árbol es de porte medio (3 - 6m de altura) y vigoroso. Su fruta tiene una forma que va de globosa a oval, con un diámetro de entre 3.5 a 7 cm y presenta en la punta estilar, una protuberancia o “pezón” típica de

algunos cítricos, su color va del verde oscuro brillante al amarillo, su jugo es ácido y no desarrolla semillas (24).

a) Anatomía

Anatómicamente, los cítricos son ovarios superiores, compuestos de seis a veinte unidades carpelares las cuales forman los lóculos. Del pericarpio exterior al lóculo está subdividido en exocarpo (flavedo o cáscara exterior), mesocarpo (albedo o cáscara interior) y endocarpo (lóculo o segmento membranal). Las vesículas de jugo que conforman la porción comestible de los cítricos surgen de la primordia epidermal y subepidermal en la superficie del endocarpo y se desarrollan hacia la cavidad locular (98).

Flavedo

El exocarpo o flavedo, es la porción coloreada de la cáscara, contiene pigmentos en los cloroplastos y cromoplastos, así como glándulas de aceite formadas por células especiales productoras de terpenos y aceites esenciales.

La cavidad de las glándulas de aceite se forma esquizógenamente y/ lisógenamente por la separación y/o lisis de las paredes celulares de las células centrales. Las células epidermales del flavedo se encargan de producir cutina y ceras y contienen estomas del tipo actinocítico (98).

Albedo

El mesocarpo o la porción blanca de la cáscara se compone de células incoloras. Este tejido contiene grandes espacios de aire que imparten una textura esponjosa. El albedo es un sitio de almacenamiento del parénquima y contiene mayores cantidades de flavonona que las vesículas del jugo, membranas o flavedo, es también una fuente importante de limonina.

El albedo, a pesar de ser más vulnerable a la invasión de organismos patógenos que el flavedo, contiene inhibidores de poligalacturonasa, los cuales se cree que forman una defensa contra patógenos como *Diplodia natalensis* que utiliza poligalacturonasa para entrar al tejido. El centro del fruto es similar al albedo y contiene paquetes vasculares y tejido parenquimatoso (98).

Vesículas de jugo

La porción del endocarpio de los cítricos es la más compleja. Forma las vesículas de jugo. Estas vesículas están clasificadas como cabellos multicelulares o emergencias y constituyen la forma elíptica o estructuras de cuerpo ramificado sobre un pedúnculo no vascular. Los sacos de jugo están altamente vacuolados y el escaso citoplasma contiene gotas de lípidos en plástidos, leucoplastos y cromoplastos.

El jugo dentro de la vacuola de esas células contiene esencialmente todos los ácidos titulables y otros materiales solubles como aminoácidos y sales. Cristales de oxalato de calcio, espermidina y naringina también pueden estar presentes en los cítricos en las capas periféricas de la cáscara y de los sacos de jugo. La limonina y naringina contribuyen al sabor amargo del jugo (98).

b) Pigmentos

En el limón, el 25 por ciento de los carotenoides de la cáscara y pulpa son incoloros. De los pigmentos coloreados el ζ -caroteno y los diepóxidos de criptoxantina predominan en la cáscara y los epóxidos de β -caroteno y criptoxantina están presentes en niveles altos en la pulpa.

El color bronce (café rojizo) de los limones se ha asociado con la presencia de carotenoides rojos de reticulaxantina, 3-hidroxisintaxantina y β -caroteno. El flobatanino (producto de la oxidación del polihidroxiflobiano) en las células de la savia contribuye al color del jugo de las limas (98).

c) Firmeza

El reblandecimiento de los cítricos no se debe a cambios en la pared celular como sucede con otros frutos como las fresas y los tomates. La aparente firmeza del fruto ocurre en parte por cambios en la presión de la turgencia y/o pérdidas de sólidos durante la respiración en el crecimiento, desarrollo y senescencia. Estos cambios también pueden estar relacionados con las condiciones ambientales, tipo de irrigación, pérdida de agua después de la cosecha y envejecimiento del fruto (98).

d) Crecimiento y desarrollo

El tiempo de maduración de los cítricos en el árbol oscila de 6 a 12 meses. El crecimiento y desarrollo ocurre en tres etapas. De 4 a 9 semanas, después de que el fruto se forma, este incrementa su tamaño y peso debido al crecimiento por división celular y engrosamiento de la cáscara. Posteriormente el fruto incrementa en tamaño debido al engrosamiento o alargamiento celular, al tiempo que el tejido del albedo se diferencia y expande. Finalmente en el periodo de maduración, disminuye el ácido de los sacos de jugo, así como la tonalidad verde de la cáscara del limón y su grosor (98).

Los niveles de auxina, citoquinina y ácido giberélico están asociados con el crecimiento del fruto. El tratamiento de los cítricos con benziladenina estimula el crecimiento del fruto y el ácido giberélico estimula la exportación de las sustancias sintetizadas en las hojas hacia el fruto promoviendo su desarrollo (desagüe fisiológico) (98).

Los niveles de poliaminas y sus enzimas sintetizadoras también están relacionados con el crecimiento. Por el contrario, el ácido naftalenoacético (NAA) y el ABA restringen el crecimiento del fruto e inhiben el transporte de las sustancias sintetizadas en las hojas (98).

e) Maduración

Los reguladores de crecimiento en las plantas afectan los cambios durante la maduración en los cítricos. El tratamiento previo a la cosecha con ácido giberélico aumenta la concentración de aceite en la cáscara y su resistencia, también puede afectar la fluidez de la membrana y retrasar la senescencia en mandarinas. Durante esta etapa la hormona GA₃ está presente en altas concentraciones en la cáscara de los cítricos. En cítricos maduros tratados con etileno ocurre la destrucción de la clorofila y la acumulación de azúcares reductores, aumenta la respiración y actividad de la enzima fenilalanina amonía liasa (FAL) y libera aminoácidos libres. La aplicación de GA₃ y benziladenina contrarresta los efectos provocados por el etileno, excepto en la actividad de la enzima FAL. El GA₃ aplicado antes de la cosecha retarda la maduración en limones, ya que retrasa la pérdida de la clorofila, la síntesis de carotenos, incrementa la firmeza de la cáscara,

disminuye el contenido de jugo y sólidos solubles y aumenta el contenido de ácido ascórbico (98).

f) Cambios bioquímicos durante la maduración y almacenamiento

Color

La pérdida del color verde ocurre por la degeneración de los tilacoides en los cloroplastos del flavedo, aparición de agregados relajados de los grana hinchados, y una eventual pérdida de la estructura de la membrana. Se ha reportado un periodo activo de carotenogénesis acompañado de una disminución en la concentración de clorofila conforme el limón madura. La actividad de la clorofilasa aumenta en respuesta a la senescencia inducida por etileno en la cáscara. Estos cambios pueden ser reversibles por una reconversión de los cromoplastos a cloroplastos en un proceso denominado reverdecimiento. Este involucra la síntesis de novo de clorofila y componentes proteicos del aparato fotosintético, así como un re-ensamble de las estructuras de los tilacoides (98).

Ácidos

El ácido cítrico es el componente principal de los ácidos presentes en el jugo de los cítricos. Su concentración en el limón es de 4 a 5 g/100mL representando de un 87 a 88% de los ácidos totales. El ácido málico está presente en una concentración de 0.17 a 0.26 g/100mL representando un 11 a 12%. En limones se presenta un aumento en los ácidos totales conforme se desarrolla la maduración, principalmente debido al incremento en los niveles de citrato. El jugo de los cítricos representa una importante fuente de vitamina C, contiene alrededor de 25 mg/100g en lima y 42 mg/100g en limones. Sin embargo solamente una cuarta parte del ácido ascórbico presente en el fruto se encuentra en el jugo. En algunos cítricos se ha observado su disminución conforme transcurre la madurez y en otros se mantiene constante (98).

Durante la maduración hay una acumulación de etanol en las vesículas de jugo así como un descenso en la respiración aerobia y consecuentemente hay un incremento en la fermentación alcohólica. Dicho evento se extiende hasta el periodo de almacenamiento. Tras largos periodos de

almacenamiento, es posible que los ácidos se utilicen como fuente de energía y sustrato de la fermentación alcohólica durante la senescencia, lo cual puede verse reflejado en un descenso en los niveles de ácidos en algunos cítricos (98).

Azúcares

Los niveles de sacarosa en limones y limas son de 0.2 a 0.3 por ciento. De los sólidos solubles determinados como grados Brix, alrededor del 80 por ciento es de azúcares. El resto lo componen pequeñas cantidades de lípidos, compuestos de nitrógeno y fósforo y principalmente pectina. En la mayoría de los cítricos hay un incremento en la concentración de sacarosa durante la maduración. Sin embargo, se ha reportado en limón persa la pérdida de sacarosa en las vacuolas de las vesículas de jugo en ausencia de enzimas que degradan este disacárido. Su degradación se ha postulado que ocurre por vía no enzimática, esto es por la hidrólisis ácida en condiciones de pH de 2 a 2.5 en las vacuolas (98).

Lípidos

Los ácidos palmítico, palmitoleico, oleico, linoleico y linolénico se encuentran presentes en mayor cantidad en los cítricos. Los ácidos palmítico y palmitoleico experimentan una *disminución durante etapas tempranas de la maduración, mientras que el ácido palmítico aumenta* en variedades que se encuentran en etapas avanzadas de maduración. La degradación de productos derivados de la oxidación de los ácidos grasos insaturados contribuye a la falta de sabor en el jugo de los cítricos. Las ceras de los cítricos inmaduros están compuestas por alcanos y alquenos de 20 a 25 átomos de carbono, mientras que alcanos y alquenos de 27 a 33 átomos de carbono, predominan en las ceras de los frutos maduros (98).

g) Pared celular

Pectina

Generalmente los cambios en la pectina que acontecen en los tejidos meristemático y parenquimoso durante la maduración incluyen una disminución de la pectina insoluble en agua y de la altamente metilada y un incremento y descenso posterior en la pectina soluble y pectinatos

conforme los frutos sobremaduran. En el limón los niveles totales de pectina fluctúan a lo largo de las temporadas. Las enzimas de la pared celular identificadas en cítricos son pectinmetilesterasa (PME), pectinacetilasa, α - y β -galactosidasa, α - y β -glucosidasa y celulasa. En limón la actividad de la PME es mayor en la cáscara que en la pulpa. Su actividad generalmente disminuye con la madurez en la cáscara y en el jugo, mientras que en la pulpa sucede un aumento al inicio de la maduración y posteriormente un descenso (98).

h) Respiración y metabolismo

El flavedo fotosintético tiene una actividad respiratoria mayor en comparación con la del albedo y vesículas del jugo, lo cual indica una actividad metabólica mayor. Conforme los cítricos maduran la respiración aeróbica disminuye y aumentan las vías metabólicas anaeróbicas que involucran a la enzima alcohol deshidrogenasa. En frutos de naranja Hamlin, ocurre un incremento en los niveles de etanol y acetaldehído, a la par de una reducción en las concentraciones de piruvato y oxalacetato. Lo anterior sucede debido al aumento en la actividad de la enzima piruvato descarboxilasa. El acetaldehído es posteriormente reducido a etanol. La respiración en los cítricos puede incrementar como consecuencia de situaciones de estrés, por ejemplo invasión patógena, daño mecánico y por frío, tratamiento con etileno, así como desordenes fisiológicos (fisiopatías) (98).

i) Transpiración

La transpiración es un fenómeno en donde ocurre una pérdida de vapor de agua de los tejidos. La pérdida de peso que ordinariamente acompaña al almacenamiento se debe principalmente a esta pérdida de agua. La velocidad de evaporación depende de la naturaleza del fruto, de las características fisicoquímicas de la cutícula, así como del tiempo de cosecha, temperatura, humedad relativa y velocidad del aire de la atmósfera que lo rodee. El vapor de agua se desplaza del fruto cuando existe una diferencia entre la presión de vapor de agua interna del fruto y la de la atmósfera externa. Esta diferencia es conocida como déficit de la presión de vapor. Consecuentemente cuando los cítricos son almacenados en atmósferas con humedad relativa menor del 99%, el vapor de agua se desplazará de los tejidos hacia la atmósfera. Mientras más

seca se encuentre la atmósfera de almacenamiento mayor será la velocidad de la pérdida de agua de los frutos (96,98,105).

4.2.3 Refrigeración

Los cítricos se refrigeran con el objetivo de prolongar su periodo de comercialización, mantener la calidad durante el transporte hacia las zonas de distribución, tomar ventaja de los precios favorables en épocas de alta demanda o baja producción del producto, así como, asegurar el abastecimiento de materia prima a las empacadoras cuando las condiciones climáticas no permiten la cosecha (28). La refrigeración de los productos no climatéricos, frena su ritmo de deterioro (108).

Las temperaturas de refrigeración recomendadas para los cítricos deben de ser tomadas con reserva (28,33). No existe una temperatura ideal para el almacenamiento de todos los productos cítricos, dado que son distintas sus respuestas a las bajas temperaturas. Deben tomarse en cuenta factores como, el crecimiento de hongos y el desarrollo de lesiones por frío, en función de las condiciones y duración del periodo de almacenamiento. Las ventajas de reducir la actividad metabólica y el crecimiento microbiano deben contraponerse a las posibles pérdidas acarreadas por el daño por frío (28).

De este modo, el periodo de almacenamiento refrigerado se encuentra determinado por la intersección entre la senescencia, el crecimiento de microorganismos causantes de alteraciones y la susceptibilidad al daño por frío. Cuando los cítricos se almacenan en condiciones adecuadas de temperatura, humedad y composición de la atmósfera y son comercializados en un periodo razonable de tiempo, la calidad de los frutos después del periodo de almacenamiento refrigerado no difiere significativamente de la que poseían al ser cosechados (28).

En la tabla 10 se muestran las condiciones óptimas de almacenamiento y el tiempo estimado de vida útil para algunos cítricos.

Tabla 10. Condiciones óptimas de almacenamiento para cítricos

PRODUCTO	TEMPERATURA (° C)	TIEMPO APROXIMADO DE VIDA ÚTIL (semanas)*
Kumquat	4 - 8	2 - 4
Lima	10 - 12	6 - 8
Limón	12 - 14	16 - 24
Naranja	4 - 8	4 - 8
Pomelo	8 - 10	8 - 12
Tangerina	5 - 8	2 - 4
Toronja	12- 14	4 - 8

*En condiciones óptimas de temperatura y 85 - 90% HR.

Fuente : Kader, A., A. y Arpaia, M., L. 1992. Postharvest Technology of Horticultural Crops. EE.UU.

Además de efectuar un control de la temperatura y humedad en la cámara de almacenamiento, se debe asegurar un adecuado sistema de ventilación de aire (28,36). La velocidad comercial recomendada para el almacenamiento de cítricos oscila de 150 a 200%/hora. Un incremento en la velocidad de aire puede propiciar un aumento en la transpiración del fruto (30). Sin embargo algunos estudios han demostrado que una reducción en la velocidad del aire a 100% por hora disminuye la energía necesaria para la conservación y consecuentemente los costos de refrigeración (28).

4.2.4 Daño por frío

a) Incidencia de DPF

La mayoría de los frutos tropicales y subtropicales son sensibles a la refrigeración. Los desórdenes fisiológicos, consecuencia de la exposición a las bajas temperaturas se denominan “daño por frío” (DPF) (8,28,32,33,36,39,46,50,60,82,87,95,102). El intervalo en el que se presenta el DPF ocurre por encima del punto de congelación entre 5 y 15° C dependiendo del tipo de fruto. La temperatura a la que estos productos hortofrutícolas son almacenados sin sufrir lesiones por frío se conoce como “temperatura crítica de almacenamiento” y oscila entre 10 y 13° C para los frutos sensibles al frío (53,102). El DPF está en función del tiempo y temperatura de refrigeración y afecta la comercialización de una amplia gama de frutos y vegetales (13,14,53,105).

Los síntomas de DPF característicos en cítricos incluyen manchas de color marrón constituidas por pequeñas depresiones en la superficie del flavedo. A esta alteración se le nombra “picado”. Además se presentan manchas de color pardo irregulares y difusas que se extienden en la superficie del fruto, conocidas como pardeamiento o escaldadura (8,10,28, 32,33,34,50,53,95). Las bajas temperaturas ocasionan una fuga de iones. Si el daño por frío interfiere con la producción de ATP la bomba de iones que utiliza ATP no puede mantener este gradiente y por lo tanto hay fuga de iones (29).

Se ha demostrado que la exposición de cítricos a bajas temperaturas, produce un descenso en la capacidad del fruto para realizar la fosforilación oxidativa. Por ello se sugiere que la falta de compuestos de alta energía, principalmente ATP, puede conducir a la pérdida de la integridad celular, a una actividad respiratoria anormal y a la acumulación de compuestos volátiles tóxicos. La manifestación del DPF en forma de picadura en el flavedo ocurre probablemente como consecuencia de la acumulación de estos compuestos tóxicos debajo de la cutícula, liberados a través de membranas permeables (8,28). El desarrollo completo de las lesiones de DPF se alcanza unos días después de salir de la cámara de refrigeración, durante el periodo de comercialización. En ocasiones, las manchas aparecen después de extraer el fruto de la cámara y llevarlo a temperatura ambiente. Las partes afectadas suelen reblandecerse con el tiempo y son fácilmente atacadas por microorganismos (8,28,50).

Entre las especies en las que se ha reportado la incidencia de DPF se encuentran: toronja (17,18,34,45,53,58,60,70,71); naranja Shamouti (79); mandarina Fortune (26,47,48,60,76,92, 99); naranja Tarocco (94); Tangelo Nova (15); limón Eureka (53,117), aguacate (67,109); limón persa (110), toronja Marsh (10,50,56,57,69,93), naranja Valencia (106); limón Villafranca (10,53); naranja Navelina (47); toronja Redblush (56); naranja Novel (106); sandía Baby Fun y Sugar Baby (84); toronja Florida (62); muskmelon (64); mango Julie (65); mango manila (89); pepino (51,61,77,81) y calabacita Zucchini (103,104).

En los cítricos se ha reportado DPF en diversas variedades de limón, lima, naranja, mandarina y toronja (13). La temperatura de refrigeración recomendada para el limón y las limas en la cual no ocurren daños por frío es de 10 a 13° C (37). Estos frutos son susceptibles de sufrir la incidencia

de lesiones por frío cuando son expuestos a temperaturas por debajo de 10° C por más de 14 días (13,52). Por ejemplo, el almacenamiento de toronja variedad Marsh y Ruby Red de 1 a 10° C por más de dos semanas provoca la evolución de síntomas de DPF (13,32,33,50,52,57,82). La temperatura óptima recomendable de almacenamiento es de 10 a 16° C dependiendo de la época de cosecha (33), la exposición de los frutos a temperaturas mayores favorece la incidencia de hongos (13,90).

Las temperaturas recomendadas para el almacenamiento de los productos hortofrutícolas se encuentran en función de factores como el tiempo de refrigeración, condiciones climáticas de crecimiento y etapa fisiológica de los frutos, entre otros (90).

b) Causas por las que ocurre el daño por frío en cítricos

Se han efectuado un gran número de estudios con el objetivo de elucidar el mecanismo que da lugar al desarrollo de los síntomas de DPF. Sin embargo las causas que propician este desorden fisiológico aún no se han esclarecido por completo, quizá como consecuencia de la diferencias fisiológicas entre los distintos órganos de las plantas estudiadas (102).

Se han propuesto algunos mecanismos para explicar la respuesta de los productos hortofrutícolas a las temperaturas de enfriamiento y el consecuente desarrollo de DPF. Se ha postulado una respuesta única a las bajas temperaturas por parte de las plantas sensibles. Esta respuesta daría lugar a una serie de eventos secundarios que implicarían cambios fisiológicos y bioquímicos en las plantas. Tales alteraciones provocarían una variedad de síntomas, que se han denominado “daño por frío” (102).

Dentro de los eventos que se han propuesto como posible respuesta única a las bajas temperaturas, se encuentran: transición de los lípidos de la membrana; alteración de la cinética o de la especificidad del sustrato de una enzima regulatoria; cambio en la estructura citoesquelética, y aumento en el calcio citosólico. Por otro lado se sugiere que el daño por frío es originado como consecuencia de una multitud de respuestas a las bajas temperaturas. Considerando la gran diversidad de estructuras en las plantas y formas de expresión del daño por frío, se cuestiona si un

único suceso puede desencadenar una cascada de eventos que den lugar a la variedad de síntomas manifestados (102).

c) Factores que influyen en el DPF

Algunos de los factores que afectan la respuesta de los cítricos a las bajas temperaturas son: especie y variedad de los frutos, época de cosecha, estado de madurez, zona de cultivo, tamaño y posición de los frutos en el árbol, pérdida de agua, reguladores de crecimiento, labores culturales, temperatura, humedad y ventilación de las cámaras de almacenamiento, así como diversos factores ambientales (28). La susceptibilidad de los frutos al frío difiere de unas especies y variedades a otras. En general, las mandarinas y las naranjas toleran temperaturas más bajas que las limas, los limones y las toronjas (8,13,28,37,82,83,101,110). En lo que se refiere a la variedad por ejemplo, las naranjas Navel son más sensibles al frío que las de la variedad Valencia (101). Las variedades precoces y de época intermedia son más susceptibles al desarrollo del DPF que las de épocas tardías (14,33,37,82,101). En naranja Valencia, los frutos recolectados durante el mes de junio en la región de Valencia, España pueden ser almacenados a 3° C sin sufrir daños, mientras que los recolectados en marzo deben ser almacenados a 9° C (8).

Frutos de una misma variedad se comportan de diferente forma dependiendo del estado de madurez, de las condiciones climáticas en que se han desarrollado, de las condiciones de cultivo, así como de su posición en el árbol (3,82,101,107). Muchos síntomas de DPF involucran alteraciones en la madurez (87). En toronja se ha considerado que los frutos inmaduros son muy susceptibles al DPF y que la tolerancia a bajas temperaturas aumenta a medida que avanza la madurez. En algunas publicaciones se ha puesto de manifiesto que los frutos maduros son más resistentes al frío debido a que no ocurren alteraciones en su ya completado proceso de madurez (87,95). Sin embargo, en frutos de limón se ha atribuido una menor resistencia al DPF en los frutos maduros, con base en una mayor acumulación de fructosa (3).

De acuerdo con la relación que se ha observado entre el estado de madurez de los frutos y el desarrollo de DPF, se ha indicado que es posible que la susceptibilidad al DPF esté asociada con el balance de reguladores de crecimiento en el árbol y en el fruto (8,28,30,33,107). A pesar de

estos resultados, algunas investigaciones han señalado que la tolerancia a las bajas temperaturas varía con algún otro factor distinto a la madurez. (8,28).

La influencia de la zona de cultivo se hace evidente en las temperaturas de almacenamiento recomendadas para frutos procedentes de distintas zonas geográficas (8,14,28,33,37). Incluso frutos de un mismo huerto se comportan variablemente de un año a otro (32,87). Otros factores que influyen en la susceptibilidad de los frutos al DPF, son el tamaño y posición de los mismos en el árbol. Los frutos pequeños son más susceptibles que los grandes. En cuanto a la posición de los frutos en el árbol, los cítricos recolectados de la parte exterior del árbol se dañan más fácilmente por el frío en comparación con los del interior (8,13,28,30,32,33,57,107). Estos últimos poseen un mayor contenido de prolina en el flavedo relacionándose con la resistencia al DPF (8,28).

La pérdida de agua constituye un factor contribuyente en el desarrollo de los síntomas del DPF. La pérdida de agua acentúa y favorece el desarrollo del DPF, lo anterior se ha comprobado en cítricos como toronja, mandarina Fortune y otros productos vegetales como pepino, pimienta y hojas de frijol (28,29,30,32,33,36,46,55,93). La pérdida de humedad del flavedo puede estar asociada con el rompimiento celular, pérdida de la integridad de la membrana, fuga electrolítica y la aparente remoción de las ceras epicuticulares las cuales juegan un papel importante en el intercambio de agua a través de la cáscara (10,46,93). En cítricos se ha comprobado que una disminución en la humedad relativa favorece la pérdida de agua y la incidencia de DPF mientras que un descenso en la temperatura produce el efecto contrario (10,14,32,36,55,83).

Existen controversias sobre la participación que la pérdida de agua tiene en el desarrollo del DPF, ya que hay estudios que reportan la aplicación de tratamientos que reducen los síntomas del DPF sin que tengan el mismo efecto en la pérdida de peso, tal es el caso del escualeno (55,93). Se ha postulado que la pérdida de peso no es causante del DPF sino un factor más que contribuye al desarrollo de las lesiones por parte de los frutos (82). Adicionalmente, se ha visto que la pérdida de agua al parecer incrementa los niveles endógenos de azúcares, prolina y ABA lo cual confiere tolerancia a los tejidos al DPF (87). El contenido de ABA inducido por el estrés hídrico antes o después de la recolección confiere resistencia al DPF (8,28,87). Se cree que el mecanismo por el

cual protege a los tejidos es cerrando los estomas, evitando de este modo la pérdida de agua e impidiendo la fuga de iones a través de las membranas celulares, evento que ha sido considerado primordial en la respuesta de las plantas a las bajas temperaturas (29). Sin embargo se ha reportado que el ABA no actúa por el cierre de estomas, sino que afecta directamente a la membrana, intercalándose entre ésta o causando algún cambio bioquímico (46). Además afecta las propiedades de fluidez de la bicapa lipídica (87). Aunado a lo anterior, dado que este regulador del crecimiento induce la dormancia y reduce el crecimiento, se especula que podría disminuir el flujo de carbono a través de las vías respiratorias. Con base en esto se esperaría una reducción en la acumulación de supuestos metabolitos tóxicos producidos en tales vías metabólicas (29).

La sensibilidad al DPF al parecer está afectada por las labores culturales. En toronja se ha verificado que la fertilización con diferentes dosis de nitrógeno afecta el porcentaje de frutos dañados durante el almacenamiento a las temperaturas críticas. Aparentemente existe un óptimo en la dosis de fertilización $N_{120}P_{80}K_{120}$ (120 unidades de nitrógeno, 80 unidades de fósforo y 120 unidades de potasio), concentraciones mayores y menores de nutrientes no disminuyen los frutos dañados por frío (28). Existen además factores ambientales y bióticos, tales como la luz, que predisponen a los cítricos al desarrollo de DPF (8,28,46). Estos factores pre y postcosecha afectan de manera conjunta la susceptibilidad de los productos hortofrutícolas al desarrollo de DPF.

4.2.5 Tecnologías para la atenuación del DPF

Con el objetivo de reducir la incidencia de DPF en los productos hortofrutícolas, se han experimentado diversos tratamientos previos al almacenamiento refrigerado, entre los que se incluyen: recubrimiento con películas plásticas y aceites vegetales, encerado, acondicionamiento con temperatura, calentamiento intermitente, tratamiento con fungicidas, almacenamiento en atmósferas controladas y modificadas, tratamiento con CO_2 y la aplicación de reguladores del crecimiento y otros tratamientos químicos (13,14,28,31,52,95,101). Los tratamientos enfocados a

la disminución del DPF, actúan aumentando la tolerancia del tejido al frío o eliminando el estrés causado por la refrigeración (83).

a) Acondicionamiento con temperatura

El acondicionamiento con temperatura de los productos hortofrutícolas consiste en la exposición a una determinada temperatura previo a su almacenamiento refrigerado (29). Los tratamientos térmicos se han utilizado ampliamente para controlar enfermedades causadas por hongos e infestación por insectos (12,37,39,92). En la actualidad se ha evaluado la posibilidad de reemplazar la aplicación de compuestos químicos por tratamientos físicos, dado el rechazo por parte de los consumidores a frutos y vegetales con residuos de productos químicos (12,37,39,92,93).

La aplicación de esta tecnología se puede efectuar de diversas formas: por hidrocalentamiento, exposición a vapor de agua o con aire seco caliente, radiación infrarroja y de microondas; sin embargo, solamente son de uso masivo el empleo de calor seco e hidrocalentamiento (12). En particular los tratamientos térmicos cuarentenarios se han empleado para controlar las moscas de las frutas como (*Ceratitis capitata* Weidemann), conocida comúnmente como “mosca del Mediterráneo” y (*Anastrepha ludens* Loew) ”mosca Mexicana” entre otras, son de fácil aplicación y no dejan residuos químicos en los frutos; sin embargo tienen como desventajas el daño potencial que pueden causar en los productos hortofrutícolas (12).

Otra línea de investigación, comprende la aplicación de tratamientos térmicos para inducir tolerancia al DPF. Los síntomas del DPF provocados por la exposición a las bajas temperaturas pueden ser reducidos modificando el patrón de exposición en términos de nivel de temperatura y tiempos (87). Este acondicionamiento protege a las plantas induciendo tolerancia contra las lesiones por frío (28,39,49,52,55,95,101,107).

El acondicionamiento con calor se relaciona con la inducción de HSPs y poliaminas originadas por este estrés térmico confiriendo tolerancia a las bajas temperaturas (86,100,101,102). Otras respuestas generadas por este tratamiento que inducen resistencia al DPF involucran el retraso en

la degradación de fosfolípidos y galactolípidos, esto se ha comprobado en calabacita y pepino. En hojas de toronja, frijol, pepino y algodón, se ha observado un aumento en el grado de insaturación de los ácidos grasos de los fosfolípidos, y en cítricos se ha encontrado una mayor concentración de triglicéridos. En general, se ha establecido que los tratamientos que reducen la relación esterol/fosfolípido disminuyen el DPF (101). El acondicionamiento con altas temperaturas que oscilan entre 15 a 38° C por un tiempo de dos días a una semana, ha resultado exitoso en la prevención o reducción de los síntomas de DPF en productos como pepino, berenjena, mango, papaya, pimienta, papa dulce, tomate, melones, manzana y sandía, entre otros (32,33,49,53,78,82,86,95,101). En cítricos también se han obtenido resultados favorables en la reducción de DPF, como en toronjas de la variedad Marsh Seedless almacenadas a 4-4.5° C tratadas previamente durante 48 horas a 29° C y por un periodo de 3 a 7 días a 21° C (28).

Se ha encontrado que la exposición de los tejidos de las plantas sensibles al frío a una temperatura de 32° C durante 6 horas aumenta su sensibilidad a las lesiones en comparación con los expuestos a 12° C, reflejándose en un incremento en la velocidad de la fuga de iones en los frutos sometidos a 32° C. Acondicionamientos a altas temperaturas (32° C) estimulan la respiración y metabolismo, eliminando algunos carbohidratos importantes que provocan el aumento de la sensibilidad al DPF (87).

En general, los tratamientos postcosecha aplicados en cítricos por hidrocalentamiento (2 - 3 minutos a 50-53° C) reducen el desarrollo de patógenos y mejoran la resistencia de los frutos al DPF (93). La aplicación de tratamientos por inmersión en agua caliente se ha empleado exitosamente en la disminución de DPF en mandarina Fortune y naranjas Valencia (92,107).

El hidrocalentamiento de mandarina provoca ligeros cambios en la respuesta fisiológica de los frutos durante el almacenamiento refrigerado (92). Este tratamiento está asociado con la remoción parcial o inhibición de esporas de microorganismos patógenos, disminuyendo de esta forma la pudrición. Provoca la redistribución de las ceras epicuticulares de la superficie del fruto, seguida de una fusión parcial de la capa cerosa y la subsecuente obstrucción de posibles puntos de entrada a los microorganismos, específicamente contra *Penicillium digitatum* (93). La

combinación de este tratamiento con calentamiento intermitente y atmósferas modificadas o controladas ha resultado ser aún mas efectiva en la reducción de tales lesiones (92,93).

Por otro lado, la exposición de los productos hortofrutícolas ligeramente por arriba de su temperatura crítica de enfriamiento, incrementa su tolerancia al frío durante el almacenamiento en refrigeración y retrasa el desarrollo de los síntomas de DPF (101,102). Esto se ha observado en pimiento morrón, calabacita, pepino, papaya, toronjas, limas y limones (101). El acondicionamiento por frío, indudablemente involucra la síntesis de proteínas, enzimas, lípidos, membranas y metabolitos, que confieren protección contra el daño por frío (29). Además el acondicionamiento a bajas temperaturas retrasa la madurez, disminuye la pérdida de clorofila, mantiene la actividad de la ribulosa 1,5- bifosfatocarboxilasa y disminuye la actividad de la celulasa (39,95,101).

El estrés ocasionado por las bajas temperaturas se ha asociado con el mantenimiento de altos niveles de fosfolípidos en las membranas, incremento en el grado de insaturación de los ácidos grasos, disminución de la proporción de esteroles/fosfolípido, e incremento en las concentraciones de poliaminas, escualeno y aldehídos de cadena larga, que se ha asociado con una significativa disminución del daño por frío (55,102). Se ha logrado disminuir el DPF en toronjas Marsh, tras la aplicación de un tratamiento durante 7 días a 10, 16 y 21° C y un posterior almacenamiento a 1° C durante 21 días (28,32). Se ha observado que un acondicionamiento a 16° C es más efectivo en la disminución de las lesiones originadas por el frío que los aplicados a temperaturas mayores de 21° C (33). El retraso de la refrigeración y acondicionamiento previo durante 6 días a 17° C también reduce la incidencia de DPF (13).

Limas acondicionadas una semana de 7 a 20° C previo a su almacenamiento durante dos semanas a 1.5° C disminuye la incidencia de DPF (101). Un tratamiento a 21° C durante 3 días en limón Bearss, previo a la refrigeración reduce el DPF (53). El mismo efecto se logra combinando diferentes patrones de temperatura de exposición, por ejemplo, limones sometidos a 5 o 15° C durante una semana y un posterior tratamiento a 0-2.2° C disminuye el DPF durante su almacenamiento a 10° C (3,101). Dicho fenómeno también se ha observado en limones acondicionados a 15° C por 3-6 días (3). Sin embargo, la exposición de limones a 15.5° C en un

lapso de 19 días no resultó ser un método adecuado en la prevención del DPF a una temperatura de refrigeración de 1° C (52,55).

En el caso de naranja Valencia y tangerina Murcott no se presenta el desarrollo de DPF durante su almacenamiento a 4° C durante una semana, ni a 21° C durante dos semanas tras haber sido acondicionados 17 días a 1° C. En frutos de Ortani-Iyokan (*Citrus iyo*) acondicionados a 15° C de 20 a 40 días se redujo la incidencia de DPF durante el almacenamiento a 5° C (28,101).

En limón persa se ha reportado que un acondicionamiento durante 1 semana a 7.2, 10, 12.8, 15.5 o 21.1° C almacenados durante dos semanas a 1.7° C reduce los síntomas de DPF (28).

El éxito del acondicionamiento radica en la relación tiempo/temperatura que se maneje en los productos hortofrutícolas, en que se reduzca el DPF y se generen alteraciones fisiológicas en el fruto (32,37).

Se ha comprobado que un acondicionamiento de temperatura en dos etapas resulta mas efectivo que uno sencillo. En experimentos en berenjenas acondicionadas a 15° C por uno o dos días seguido de un día a 10° C se ha presentado menor incidencia de picaduras después de su refrigeración durante 7 días, en comparación con frutos sometidos a 15° C por uno o dos días (101). En toronja Marsh y Red Ruby también se han obtenido resultados satisfactorios (32).

b) Calentamiento intermitente

La interrupción del almacenamiento de frutas y hortalizas a bajas temperaturas con periodos cortos de calentamiento aumenta la vida útil de algunos productos sensibles al frío (101). Existen estudios en toronjas, naranjas y mandarinas que han demostrado una reducción del DPF e incidencia de hongos, mediante esta práctica (8,28,32,83). Además en mandarinas se ha reportado disminución en la actividad respiratoria y concentración de etileno endógeno (92). El calentamiento a 21° C durante 8 horas cada semana disminuye notablemente el DPF en toronjas Marsh conservadas a 4° C durante 8 semanas y en naranjas Temple y Valencia refrigeradas a 1° C durante 12 semanas. Los efectos benéficos de este tratamiento aumentan en los frutos que han

sido tratados con tiabendazol (8,28). Los síntomas de DPF se han prevenido en limones Villa Franca y toronjas Marsh mediante su tratamiento por 7 días a 13° C después de cada 21 días de almacenamiento a 2° C, logrando mantener su calidad comercial hasta por seis meses. En comparación con su almacenamiento refrigerado a 13° C, este tratamiento reporta resultados comparables respecto a la pérdida fisiológica de peso (PFP), alrededor de 12% para limón y 5.8% para toronja (10,28,49).

Las ventajas del calentamiento intermitente se extienden después del almacenamiento refrigerado obteniéndose una menor incidencia de pudrición durante la comercialización. El éxito en la aplicación de este tratamiento apoya la hipótesis de que el DPF puede ser ocasionado por la acumulación durante el almacenamiento de algún metabolito tóxico que se elimina al aumentar la temperatura de los frutos o bien que es debido a la falta de algún metabolito, que es restablecido al elevar la temperatura del producto (8,28,92,101). Además el calentamiento intermitente evita la formación de grietas y daños en la membrana (10). También provoca una variación en la composición de ácidos grasos con los cambios de temperatura por el aumento en la actividad de la desaturasa de altas a bajas temperaturas. Si la aplicación de este tratamiento se realiza en las primeras etapas del almacenamiento refrigerado puede provocar un reblandecimiento excesivo de los tejidos haciéndolos vulnerables a la invasión por microorganismos (101).

A pesar de las bondades aportadas por este método, aún no se ha extendido su uso a nivel comercial, dadas las dificultades que existen para lograr las variaciones de temperatura deseadas -calentamiento y enfriamiento sucesivos- en el producto refrigerado en tiempos relativamente cortos (8,28,92).

c) Encerado

Los cítricos poseen una piel provista de un recubrimiento céreo natural que se va perdiendo con el lavado, manejo postcosecha, durante almacenamiento y la comercialización. Las ceras se aplican con el propósito de evitar la pérdida de agua, reducir el ritmo de envejecimiento y pudrición, así como mejorar el aspecto que ofrecen al consumidor (6,105,108). Se ha reportado que el encerado disminuye la expresión del DPF a través de la alteración y/o restricción del

intercambio gaseoso entre los frutos y su atmósfera (1,8,13,14,28,32,55, 93,101). De este modo la reducción de los síntomas de DPF se ha atribuido a la inhibición de la pérdida de agua (8,28,55,93). Los efectos del encerado en la reducción de las lesiones están relacionados con el cambio en la permeabilidad al oxígeno, CO₂, etileno o vapor de agua a través de los frutos (55).

Los recubrimientos a base de lípidos o resinas se elaboran con ceras y aceites como la cera o aceite de parafina, cera de abeja, cera de carnauba, cera de candelilla, aceite mineral, aceite vegetal, monoglicéridos acetilados, ácido esteárico y ácido láurico (6).

Generalmente, los recubrimientos con resinas como shellac y rocín de madera son más permeables al vapor de agua que el resto de los recubrimientos anteriormente mencionados (6). La mayor parte de las ceras de uso industrial son mezclas de ceras vegetales y procedentes de la industria del petróleo. Muchas de ellas basadas en una combinación de parafinas, que protegen bien contra la pérdida de agua pero no dan brillo a los productos, y cera de carnauba, que imparte un lustre atractivo al producto pero proporciona menor protección contra la pérdida de agua. Se han popularizado las fórmulas a base de polietileno, cera de candelilla, resinas sintéticas y naturales, ceras microcristalinas (parafinas y compuestos cíclicos), así como agentes emulsificantes y humectantes (108).

Estas combinaciones de recubrimientos suelen utilizarse también como vehículo de fungicidas e inhibidores del crecimiento (105,108). Específicamente en cítricos, los frutos recubiertos con emulsiones de candelilla han reportado una disminución en la pérdida de peso (31). Se ha probado la efectividad de otros recubrimientos en la reducción del DPF entre los que se encuentran el aceite vegetal y emulsiones vegetales o/w (101). Sin embargo la inmersión de limón Bearss en estos aceites a 2, 10 y 20% no ha resultado ser un método que disminuya el DPF, durante un almacenamiento a 1° C durante 21 días seguido de 14 días a 21° C (52).

La aplicación de ceras en toronjas y naranjas, muestran una reducción en la susceptibilidad al DPF. En frutos de lima los resultados son contradictorios, incluso se han encontrado daños mayores en los frutos sometidos a este tratamiento. Un factor que afecta las propiedades de las ceras en la permeabilidad a los gases es la humedad relativa, se tienen estudios en toronja que

indican mayor protección al DPF en condiciones bajas de humedad (101). Es importante considerar la composición de la cera utilizada, así como el método de aplicación que se emplea para encerar los frutos (14).

Algunos estudios muestran que no existe un efecto sinérgico al combinar tratamientos como el encerado y acondicionamientos con temperatura y reguladores de crecimiento (14,101). Estos reportes no demeritan a tales tratamientos sino manifiestan que operan bajo mecanismos de acción diferentes (101).

d) Atmosferas controladas

El etileno, si su concentración se eleva por encima de 0.1 $\mu\text{L/L}$, acelera el envejecimiento de los frutos no climatéricos. Las ventajas derivadas de mantener bajas concentraciones de etileno en atmósferas de aire se han comprobado en el almacenamiento de frutos de limón, los cuales presentan mejor aspecto, liberan mayor cantidad de jugo y son más ácidos. Combinando la eliminación del etileno con el uso de una atmósfera modificada, se reducen las pérdidas debidas al deterioro causado por hongos y se mejora la retención del color verde. Aunque en condiciones normales los frutos cítricos producen sólo pequeñas cantidades de etileno, éste y el producido por los mohos, como el *Penicillium digitatum* pueden acumularse hasta alcanzar niveles fisiológicamente activos en las cámaras de almacenamiento (108). La respuesta de los frutos y vegetales a las bajas temperaturas puede ser alterada modificando la atmósfera de almacenamiento (101). Dependiendo del producto, las atmósferas controladas pueden resultar benéficas, perjudiciales o no causar efecto alguno en la reducción del DPF (95,101).

En naranjas Valencia, las picaduras ocasionadas por DPF se pueden evitar almacenado los frutos en atmósferas controladas con bajos niveles de oxígeno y CO_2 . En otros estudios se comprueba que el almacenamiento de toronja Marsh durante 3 semanas a 4° C en una atmósfera de CO_2 al 10%, reduce la incidencia de picaduras. En naranjas Temple el DPF se ha evitado tras su almacenamiento en atmósferas de 15% de O_2 y 0% de CO_2 . Se ha investigado el comportamiento de las limas en atmósferas controladas a 4.5° C y comprobado que el mínimo DPF se produce con una concentración de 7% de oxígeno, sin embargo bajo esas condiciones las pérdidas por

podridones son del 11.2%, frente al 3.7% que se produce en el almacenamiento en una atmósfera normal. En tangerina Orlando y toronja Marsh la conservación en atmósferas controladas no manifiesta ventajas sobre el almacenamiento en atmósfera normal.

Este método tiene poca aplicación, debido al costo y a las escasas ventajas que ofrece sobre la conservación convencional en cámaras frigoríficas con atmósfera normal. El factor limitante parece ser la alteración microbiana que llega a ser importante con niveles altos de CO₂ (8,28).

e) Recubrimientos plásticos

Se ha estudiado el efecto de las atmósferas modificadas, conseguidas con el envasado de los frutos en películas plásticas de diferentes permeabilidades a los gases, sobre las alteraciones fisiológicas en la corteza producidas por las bajas temperaturas (8,28). El recubrimiento con películas reduce el DPF y pudriciones en cítricos (13,52,63,101). Por ejemplo, en limones Bearss cubiertos con Cryovac D955 almacenados a 1° C durante 21 días disminuyen las lesiones causadas por las bajas temperaturas (52). Se ha encontrado que el recubrimiento con cloruro de polivinilo y polietileno evita el DPF en limas y toronjas respectivamente (8,28,52,82).

La película empleada ordinariamente es de polietileno de baja densidad y de un grosor de 0.04 mm (108). El envasado individual de frutos cítricos con recubrimientos plásticos de polietileno de alta densidad disminuye la pérdida de peso, mejora la textura y el aspecto y reduce el DPF en toronja y limón (8,28,52,105). El efecto benéfico del envasado individual se atribuye a la micro atmósfera saturada de agua que se forma alrededor de los frutos, y modifica las concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono (8,28,101).

La efectividad de las atmósferas modificadas en la reducción del DPF varía con el producto, concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono y temperatura de almacenamiento (8,28,108). Con esta técnica es factible almacenar los frutos a temperaturas inferiores a aquellas que pueden dar lugar a daños por frío. La técnica de envasado individual si llega a hacerse económicamente aplicable puede ser de gran eficacia en la comercialización de los cítricos. Sin embargo, no son biodegradables y contribuyen a la contaminación ambiental (8,28).

f) Tratamiento con CO₂

La exposición de toronjas a elevadas concentraciones de CO₂ durante 24, 48 horas y hasta 7 días, antes del almacenamiento refrigerado, disminuye los daños que se producen en la conservación a bajas temperaturas. Sin embargo el tratamiento con CO₂ no mantiene resultados reproducibles ya que varía según la época de recolección. Se ha encontrado que en toronjas cosechadas a principio de la temporada el tratamiento (10,20 y 30% de CO₂) responde favorablemente, pero tiene la desventaja de ser más susceptible al daño por CO₂ que los de temporada media o tardía (8,28).

La conservación de toronjas en atmósferas de 5% de CO₂ disminuye notablemente el DPF y en 10% de CO₂ se elimina por completo. Algunos estudios indican que la exposición de estos frutos en atmósferas de 20 a 45% de CO₂ durante 20 a 48 horas disminuyen las picaduras, sin embargo puede aparecer una alteración en la corteza distinta del DPF por altas concentraciones de CO₂ (32,52,101). Estudios realizados en limón Bearss no reportan resultados satisfactorios en la reducción del DPF tras haber sido almacenados en una atmósfera de 40% CO₂ durante tres días a 21° C. Estos beneficios tampoco se extienden a limas acondicionadas en una atmósfera de 30 a 40% de CO₂, por el contrario algunas investigaciones realizadas en toronja Marsh almacenadas en una atmósfera similar reportan una disminución significativa del DPF (52,101). La diferencia en las respuestas de los cítricos a los diferentes tratamientos radica en que los limones y las limas son más susceptibles, ya que experimentan DPF en atmósferas de CO₂ mayores del 10% (101). Como se aprecia existe una cierta contradicción en los resultados obtenidos por distintos autores. El origen de este fenómeno radica en las diferencias en el estado de madurez, época de recolección, condiciones de desarrollo y especie (101). El empleo comercial de elevadas concentraciones de CO₂ antes del almacenamiento refrigerado para mitigar los daños por frío, no puede recomendarse todavía debido a la inconsistencia en los resultados, ya que su uso necesita ser evaluado para cada producto (8,28,101).

g) Tratamiento con fungicidas

El tratamiento con fungicidas como el tiabendazol (TBZ) es ampliamente utilizado para reducir pudrición en cítricos, además se ha probado su efectividad en la reducción de los síntomas del DPF (13,32,33). Otro producto efectivo en la disminución del DPF es el benomilo, sin embargo,

actualmente su uso está prohibido en productos de consumo humano (13,32,33). Se ha observado un efecto sinérgico entre la aplicación de fungicidas y tratamientos con calor intermitente o con recubrimientos cerosos (8,13,28,101). En toronjas y naranjas Valencia almacenadas a 8 y 12° C se ha reducido la incidencia y severidad del DPF, cuando se aplica a los frutos antes del almacenamiento una emulsión acuosa de cera conteniendo tres mil ppm de TBZ (107). Otros fungicidas eficaces en la disminución del DPF en toronjas y naranjas Valencia son el imizalil (32,33,101,107). El efecto benéfico de los fungicidas puede estar relacionado con una atenuación de la senescencia en el flavedo (8,28).

h) Reguladores de crecimiento

La aplicación de reguladores del crecimiento como el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y ácido giberélico se ha enfocado al control y reducción de defectos por pudrición, éstos confieren protección al tejido de los cítricos ante el ataque de microorganismos (8,105). Los promotores e inhibidores del crecimiento influyen de forma diversa en los procesos fisiológicos y bioquímicos en los tejidos de las plantas. De este modo, las modificaciones de estos procesos pueden alterar la tolerancia al frío. Se ha demostrado que la susceptibilidad de los tejidos de las plantas al DPF es afectada por el nivel y balance de ciertos reguladores del crecimiento, la aplicación exógena de estas fitohormonas incrementa la tolerancia de los tejidos al desarrollo de DPF (101).

Se ha señalado al ABA como medio de atenuación del DPF en toronja, calabacita zucchini, plantas de pepino y algodón. Es factible que la despolimerización de la red microtubular está involucrada en el desarrollo del DPF. El ABA disminuye el DPF estabilizando esta estructura microtubular. Se cree que el ABA también protege a las plantas contra el DPF inhibiendo la pérdida del glutatión reducido a través de su acción como agente antitranspirante y estabilizador de membranas (29,101). Se ha postulado también que induce la síntesis de proteínas asociadas con la tolerancia al DPF (101).

Análogos terpenoides del ABA retardan la fuga de electrolitos y pérdida de fosfolípidos provocada por las bajas temperaturas reduciendo el DPF en pepino. Otros reguladores del crecimiento como los triazoles (paclobutrazol y uniconazol) incrementan la resistencia a las

lesiones por frío en frijol, pepino y calabacita zucchini, retardan la degradación de los lípidos inducida por las bajas temperaturas así como los niveles de antioxidantes lipídicos (α -tocoferol y ácido ascórbico). Estos compuestos de triazol probablemente protegen a las membranas del daño oxidativo y lipoperoxidación durante la refrigeración, incrementando los mecanismos de defensa de estos tejidos contra los radicales libres. Además inhiben la biosíntesis del ácido giberélico (GA). El incremento en la tolerancia a las bajas temperaturas se ha asociado con la disminución del GA así como un incremento en la proporción ABA/GA. Con base en lo anterior se ha concluido que estos compuestos incrementan la tolerancia al DPF modificando el balance de los niveles hormonales en las plantas (101).

La aplicación de etileno no provoca respuestas similares en los productos hortofrutícolas en los que se ha estudiado su efecto. La adición de etileno en melones a 20° C durante 24 horas previo a su almacenamiento a 2.5° C reduce el DPF (101). Así mismo, en toronjas inmaduras se ha reducido el DPF tras la aplicación del etileno (32). En el caso de frutos de limón Persa, toronja Marsh y naranja Valencia los reportes manifiestan un aumento en los síntomas de DPF, así como cambios en los niveles de putrescina, escualeno y α -farneseno (101,110). Como se ha mencionado anteriormente la respuesta de los frutos a tratamientos con etileno varía ampliamente en función de su estado de madurez (32).

Las poliaminas regulan activamente el crecimiento, desarrollo y senescencia de las plantas. Los tratamientos que elevan la concentración endógena de poliaminas han resultado ser efectivos en la reducción del DPF (95,97,101). Entre estos se encuentran, el acondicionamiento con temperaturas o bajos niveles de oxígeno que incrementan significativamente los niveles de espermina y espermidina en calabacita zucchini. La reducción del DPF por poliaminas se ha relacionado con su actividad antioxidante y efecto estabilizante en las membranas (101).

Recientemente se han reportado un gran número de estudios que implican a la putrescina, escualeno y α -farneseno en las lesiones de las plantas a las bajas temperaturas. La putrescina es un inhibidor de la senescencia de las plantas, está ampliamente relacionada con el estrés por frío, la resistencia de las plantas a la congelación y se ha ligado al desarrollo de DPF en toronja, limón y pimiento dulce. Es un hecho que existe acumulación de putrescina al aplicar estrés por frío en

las plantas, sin embargo aún no se ha esclarecido si es una causa o efecto del DPF o si su presencia es un metabolito incidental resultante del estrés (95,110). El papel de las poliaminas en el desarrollo del daño por frío no es claro y los resultados encontrados son contradictorios quizá como consecuencia de las diferencias fisiológicas entre los diferentes órganos de las plantas estudiadas (95). El escualeno, hidrocarburo triterpeno, intermediario en la síntesis del colesterol, posee propiedades protectoras contra el desarrollo del DPF en toronjas. El papel del escualeno en las plantas aún no es conocido, su presencia en altas concentraciones en toronjas y naranja y en menor proporción en lima sugieren que es un agente crioprotector (110).

i) Otros tratamientos

Existen una variedad de compuestos químicos que se han reportado para la disminución del desarrollo de los síntomas de DPF . Se incluye el tratamiento con sales de calcio, aceites minerales y secuestradores de radicales libres. La aplicación postcosecha de estos químicos disminuye el DPF retardando los eventos secundarios causados por el estrés por frío como la inhibición del proceso oxidativo, incremento en la proporción de ácidos grasos insaturados/saturados y reducción en la pérdida de humedad (101).

Se ha ensayado el tratamiento de naranjas Valencia con el antitranspirante Vapor Gard, resultando en una disminución de la pérdida de humedad y los riesgos de DPF (101). La técnica de almacenamiento a baja presión puede resultar benéfica, evitando el DPF en los cítricos. Por ejemplo en limas y toronjas almacenadas a baja presión (220 mmHg) y 4° C se presenta una reducción en el DPF. Estos resultados parecen justificar la hipótesis que postula al DPF como consecuencia de la acumulación de compuestos tóxicos, los cuales son eliminados cuando los frutos están sometidos a bajas presiones (8). Se ha estudiado la posible sustitución de un estrés moderado por la aplicación exógena de jasmonatos, con el objetivo de aumentar la tolerancia al DPF. Si la hipótesis anterior es verdadera, y el ácido jasmónico actúa como un marcador molecular a los diferentes tipos de estrés, la aplicación de estos compuestos en concentraciones óptimas permitirían conferir resistencia al daño por frío, pudiendo sustituir el estrés a bajos niveles (60).

5. HIPÓTESIS

PRIMERA ETAPA. Acondicionamiento a altas temperaturas

Al someter los frutos de limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) a un estrés con calor, la susceptibilidad al daño por frío se verá disminuida.

SEGUNDA ETAPA. Barrido de temperatura y tiempo de acondicionamiento

El acondicionamiento a altas temperaturas durante cortos periodos de tiempo inducirá tolerancia al daño por frío en el limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka).

La aplicación del acondicionamiento a bajas temperaturas no tendrá efecto en el retraso de los síntomas de daño por frío en el limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka).

TERCERA ETAPA. Acondicionamiento combinado de 13° C y recubrimientos

Se espera que el acondicionamiento a 13° C durante 48 y 72 horas del limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) confiera resistencia al daño por frío.

El acondicionamiento a 13° C en combinación con la aplicación de ceras tendrá un efecto sinérgico en la tolerancia al daño por frío.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se dividió en tres etapas :

6.1 Primera etapa. Acondicionamiento a altas temperaturas

En la primera etapa se evaluó el efecto del estrés por calor en la tolerancia al DPF en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) basado en numerosos estudios que reportan la inducción de tolerancia al DPF con la aplicación de acondicionamientos a altas temperaturas (28,32,33,37,49,53,78,82,86, 93,95,101).

a) Material biológico

Se utilizó limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) proveniente de la empacadora “La Tembladera” ubicada en la región de Martínez de la Torre en el Estado de Veracruz. El tiempo transcurrido desde la recolección de los frutos hasta su recepción en el laboratorio fue aproximadamente de 23 a 24 horas.

A partir de una muestra de una tonelada de limón persa, se seleccionaron 2070 frutos para el acondicionamiento a altas temperaturas, recolectados durante la tercer semana de noviembre de 1999.

Las características de los limones seleccionados fueron: calibre 200, color verde claro (h° 125.92) y uniforme y libres de heridas o fisiopatías. Estos frutos no recibieron tratamiento previo en la empacadora.

b) Aplicación de tratamientos y condiciones de almacenamiento

Tratamientos

En el acondicionamiento a altas temperaturas se evaluaron un total de 9 tratamientos:

Tabla 11. Diseño de tratamientos del acondicionamiento a altas temperaturas

ACONDICIONAMIENTO	Sin	Calor húmedo (53° C – 3 min)				Calor seco (38° C – 3 días)			
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO (° C)	13	4	8	13	25	4	8	13	25

La muestra de 2070 frutos se dividió de la siguiente forma:

❖ Acondicionamiento por calor húmedo

Se sometieron 920 frutos de limón persa a un tratamiento de hidrocalentamiento, a 53° C por un tiempo de 2 a 3 minutos, en contenedores térmicos Coleman con capacidad de 30 L. Posteriormente los frutos se dejaron secar en redes a temperatura ambiente.

❖ Acondicionamiento por calor seco

Se sometieron 920 frutos de limón persa colocados en rejillas de plástico, a un tratamiento con calor seco en una estufa de temperatura controlada marca Ríos Roch modelo S-102, a 38° C y humedad relativa de 85% durante 3 días.

❖ Control

Se utilizaron 230 frutos de limón persa para el grupo control, los cuales no recibieron tratamiento previo a su almacenamiento.

Condiciones de almacenamiento

Los frutos acondicionados con calor húmedo y seco, se almacenaron a las siguientes temperaturas:

- ❖ 4° C (90% HR) - Temperatura de inducción de DPF.
- ❖ 8° C (92% HR) - Temperatura para determinar inducción de tolerancia al DPF.
- ❖ 13° C (94% HR) - Temperatura comercial de almacenamiento.
- ❖ 25° C (58% HR) - Temperatura ambiente.

El grupo control se almacenó en una cámara de temperatura controlada a 13° C con una humedad relativa de 94%. Los frutos se colocaron en cajas (rejas) de plástico y se almacenaron en las cámaras de refrigeración y temperatura controlada por un período de 30 días.

c) Parámetros fisiológicos y de calidad

Se determinaron los parámetros fisiológicos de daño por frío (DPF) de forma cualitativa y pérdida fisiológica de peso (PFP). Los parámetros de calidad evaluados fueron: color, porcentaje de jugo, grados brix, acidez titulable y pH. El monitoreo de los parámetros mencionados se realizó a los 0, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25 y 30 días de almacenamiento.

6.2 Segunda etapa. Barrido de temperatura y tiempo de acondicionamiento

A partir de los resultados derivados de la primera etapa, se realizó un barrido de temperatura a diferentes tiempos, con el objetivo de establecer las condiciones óptimas de acondicionamiento que aminoraran la incidencia de DPF en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka).

a) Material biológico

Se utilizó limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) proveniente de la misma empacadora en Martínez de la Torre, Ver. El transporte de los frutos al laboratorio se realizó en un período de tiempo (23-24 horas) al igual que en la primera etapa. En el barrido de temperatura se emplearon 540 frutos de una época de recolección diferente, los frutos utilizados en esta etapa se cosecharon durante la segunda semana de diciembre de 1999.

Las características de los limones seleccionados fueron: calibre 200, color verde oscuro brillante (h° 127.97) y uniforme y libres de heridas o fisiopatías. Estos frutos no recibieron tratamiento previo en la empacadora.

b) Aplicación de tratamientos y condiciones de almacenamiento

Tratamientos

En esta etapa se evaluaron un total de 4 temperaturas y 3 tiempos de acondicionamiento obteniéndose un total de 12 tratamientos, como se indica a continuación:

Tabla 12. Diseño de tratamientos del barrido de temperatura y tiempo de acondicionamiento

TIEMPO	24horas				48horas				72horas			
TEMPERATURA (° C)	13	25	30	35	13	25	30	35	13	25	30	35

La muestra de 540 frutos se dividió en lotes de 45 limones para cada tratamiento. Para realizar el acondicionamiento de los frutos a 13° C, se colocaron en una cámara de temperatura controlada a esta temperatura con una humedad relativa de 94%. El tratamiento a 25, 30 y 35° C se efectuó en estufas de temperatura controlada marca Ríos Roch modelo S-102, con una humedad relativa aproximada de 60%.

Condiciones de almacenamiento

Tras la aplicación de los tratamientos de acondicionamiento, los frutos se almacenaron en una cámara de refrigeración a 8° C y una humedad relativa de 92 % durante 15 días.

c) Parámetros fisiológicos y de calidad

Se realizaron las determinaciones de los parámetros fisiológicos de: DPF evaluado de forma cualitativa a los 5, 10 y 15 días de almacenamiento; y PFP a los 3, 6, 9, 12 y 15 días de almacenamiento.

6.3 Tercera etapa. Acondicionamiento combinado de 13° C y recubrimientos

Con base en los resultados obtenidos en la segunda etapa, se evaluó el efecto del acondicionamiento a bajas temperaturas (13° C) en combinación con la aplicación de recubrimientos, en la reducción del DPF en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka).

a) Material biológico

Se utilizó limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) proveniente de la misma empacadora en Martínez de la Torre, Ver. Los frutos se transportaron al laboratorio en el mismo período de tiempo que las dos etapas anteriores. La época de cosecha varió, en el acondicionamiento a bajas temperaturas se utilizaron 930 frutos, recolectados durante la segunda semana de marzo del 2000. Las características de los limones seleccionados fueron: calibre 200, color verde oscuro brillante (h° 127.97) y uniforme y libres de heridas o fisiopatías. Estos frutos no recibieron tratamiento previo en la empacadora.

b) Aplicación de tratamientos y condiciones de almacenamiento

Tratamientos

En el acondicionamiento a baja temperatura y aplicación de recubrimientos se efectuaron 4 tratamientos y dos grupos control como se muestra en el diseño de tratamientos:

Tabla 13. Diseño de tratamientos

ACONDICIONAMIENTO	13 ° C					
TIEMPO	48 h			72 h		
RECUBRIMIENTO	CMAM	Cera región (Mtz. Torre)	Sin	CMAM	Cera región (Mtz. Torre)	Sin

Dos lotes de 465 frutos de limón persa se almacenaron en una cámara de refrigeración a 13° C durante 48 y 72 horas en condiciones de humedad relativa de 94% cada uno. Posteriormente, de los lotes acondicionados se tomaron muestras de 310 frutos, que a su vez se dividieron en dos lotes más, los cuales fueron recubiertos con dos recubrimientos de formulaciones distintas.

❖ Formulaciones

- 1) Cera a base de candelilla, mezquite y aceite mineral (CMAM). Esta formulación fue proporcionada por la UAM unidad Iztapalapa.
- 2) Cera de la región (EQUIVE™), este recubrimiento se adquirió de la empacadora de la zona productora del cítrico. Esta es la formulación comercial utilizada en la región.

El grupo control consistió en el acondicionamiento de 465 frutos de limón persa a 13° C por 48 y 72 horas.

Condiciones de almacenamiento

Después de la aplicación de los recubrimientos, los frutos se almacenaron en cámaras de refrigeración a 8° C y una humedad relativa de 92% durante 30 días.

c) Parámetros fisiológicos y de calidad

Se determinaron los parámetros fisiológicos de DPF de forma cuantitativa y PFP cada 6 días durante un mes. La evaluación de los parámetros de calidad de color, porcentaje de jugo, grados brix y acidez titulable se realizó al inicio, a los 18 y 30 días de almacenamiento, a excepción del color cuya determinación se efectuó cada 6 días durante un mes. En esta etapa del experimento, se eliminó la determinación de pH a causa de la escasa sensibilidad de los resultados obtenidos durante el acondicionamiento a altas temperaturas.

6.4 Parámetros fisiológicos

Daño por frío (DPF): La evaluación se hizo de acuerdo con la severidad del daño (Figura 4). Las evaluaciones de DPF se realizaron 24 horas después de extraer los frutos de las cámaras de almacenamiento y colocados a temperatura ambiente (20° C - 33% HR). Las determinaciones se realizaron con muestras de 10 limones. Se determinó utilizando la siguiente escala de 4 categorías según la severidad del DPF:

Tabla 14. Escala de evaluación del daño por frío

ÍNDICE DE DPF*	SEVERIDAD DEL DPF *	% SUPERFICIE DAÑADA
0	Ausencia	0
1	Ligero	1-10
2	Moderado	11-25
3	Severo	26-100

* Fuente: Cohen, E. 1994; Schirra, M. 1995; Schirra, M. 1997; Wild, B. 1989.

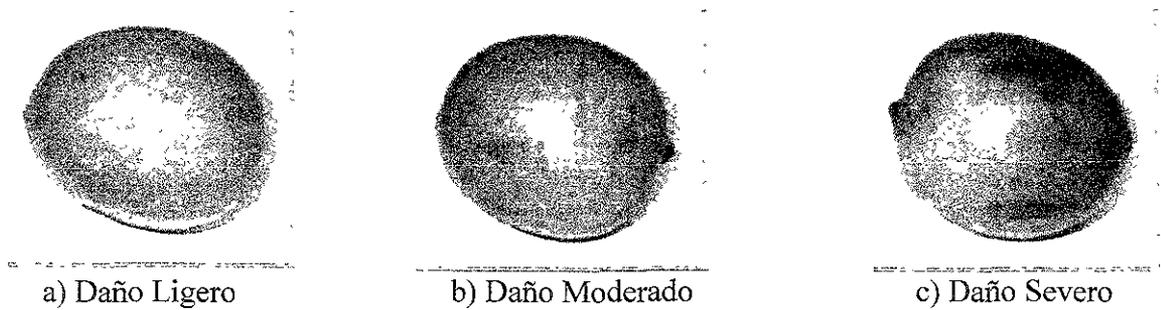


Figura 4. Severidad del daño por frío en limón persa.

Las evaluaciones cualitativas, se transformaron a índice de DPF (I_{DPF}) utilizando la siguiente fórmula:

$$I_{DPF} = \frac{(\# \text{ frutos } 1 * 1) + (\# \text{ frutos } 2 * 2) + (\# \text{ frutos } 3 * 3)}{\# \text{ total frutos}}$$

La evaluación cuantitativa del DPF se efectuó de la siguiente forma:

- ❖ Se midió el diámetro ecuatorial del fruto.
- ❖ Se marcó la superficie dañada del fruto con papel celofán traspasándose a papel milimétrico para la cuantificación del DPF.
- ❖ Los cálculos para determinar el porcentaje de área dañada de los frutos fueron los siguientes:

$$S_f = (D_e / \pi)^2 \pi$$

D_e = Diámetro ecuatorial (cm)

S_f = Superficie del fruto (cm^2)

$$\% \text{ DPF} = S_{dpf} * 100\% / S_f (\text{cm}^2)$$

% DPF = porcentaje de daño por frío

S_{dpf} = Superficie dañada por frío (cm^2)

Pérdida fisiológica de peso (PFP): La pérdida fisiológica de peso se calculó por triplicado con lotes de 5 limones, registrando los cambios de peso durante el almacenamiento con una balanza analítica OHAUS EXPLORER de precisión $4100 \times 0.01\text{g}$, de la siguiente manera:

$$\%PFP = 100 * [1 - (P_a/P_i)]$$

%PFP = Porcentaje de pérdida fisiológica de peso

P_a = peso promedio en almacenamiento

P_i = peso promedio inicial antes del almacenamiento

6.5 Parámetros de calidad

Color: Se elaboró una escala de color con limones representativos de las etapas de maduración y senescencia. Esta escala se construyó a partir de datos cualitativos y cuantitativos (Figura 5).

La evaluación cualitativa se realizó por triplicado en lotes de 5 limones por comparación con una carta de color formada por 7 puntos, desarrollada en la UAM-Iztapalapa. La carta de color del limón persa se construyó con base en la tonalidad exhibida de los frutos en los diferentes estados de maduración, asignándose valores de 1 a 7. Los limones calificados con valor de 1 representan un color verde oscuro, en el otro extremo una calificación de 7 equivale a una coloración café amarillenta ocre característica de un estado senescente. Para clasificar a los limones dentro de esta carta, se requirió que el color predominara en un 75 % del fruto.

El cambio de color de los frutos representativos de cada etapa se cuantificó mediante los valores de L, a y b en un equipo Hunter-Lab DC-25, donde “L” es el coeficiente de luminosidad y se encuentra en un intervalo del negro = 0 al blanco = 100; “a” indica un matiz del rojo púrpura (valores positivos) al verde azulado (valores negativos); mientras que un valor de “b” positivo representa una tonalidad amarilla y un valor negativo una azul. Para efectuar la interpretación del color se calcularon los parámetros del ángulo del matiz (h°) e intensidad del color (C) a partir de las coordenadas a y b determinadas en el equipo Hunter-Lab (59):

$$h^\circ = \arctan (b^*/a^*)$$

h° = matiz

b* = componente del matiz azul / amarillo

a* = componente del matiz verde-azulado / rojo-púrpura

Los valores del ángulo del matiz (h°) e intensidad de color (C) se especifican a continuación (Tabla 15).

Tabla 15. Interpretación del ángulo del matiz.

ÁNGULO DEL MATIZ (h°)	TONALIDAD
0	Rojo púrpura
90	Amarilla
180	Verde azulado
270	Azul

	1	2	3	4	5	6	7
Escala cualitativa							
L* (Opacidad)	30.90	32.53	35.60	46.90	54.27	57.20	34.40
a* (verde-azulado/rojo-púrpura)	-9.00	-10.07	-10.13	-9.57	-9.90	-5.90	-1.95
b* (azul/amarillo)	11.53	13.90	16.73	23.13	27.97	30.10	15.70
h° matiz [arctan (b/a)]	127.97	125.92	121.20	112.48	109.49	101.09	97.08
C* (intensidad de color)	14.63	17.16	19.56	25.03	29.67	30.67	15.82

Figura 5. Escala cualitativa y cuantitativa de color del limón persa.

Porcentaje de jugo: (NOM-FF-331-A-1981) se determinó por triplicado en lotes de cinco limones con un extractor de piña rotatoria Braun, por diferencia de peso con respecto al fruto entero. Los limones se cortaron por la mitad en la sección ecuatorial y se presionaron directamente contra la piña del extractor, de manera que fueran exprimidas casi la totalidad de las celdillas de jugo. El jugo extraído se hizo pasar a través del tamiz y se recogió en un recipiente previamente tarado. Se pesó el recipiente con el jugo y se determinó el peso por diferencia. El contenido de jugo se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% P_j = \frac{P_j * 100}{P_1}$$

% P_j = Pocercentage de jugo

P_j = Peso del jugo (g)

P₁ = Peso de los limones enteros (g)

Grados Brix: Esta evaluación se realizó por triplicado en lotes de cinco limones con un refractómetro de mano Erma 0-32% No. 14952. La calibración del instrumento se efectuó con agua destilada. Se ajustó la temperatura de la muestra a la requerida por el instrumento (20° C) y se colocó una gota de las muestras de jugo en la superficie de prisma del refractómetro. La lectura de los grados Brix se realizó de forma directa en la línea divisoria de la sección oscura. Finalmente la superficie del prisma se enjuagó con agua destilada.

Acidez titulable: (AOAC 1995) se cuantificó como ácido cítrico presente en el jugo de los frutos mediante el método volumétrico. Se tomó una alícuota de 10 mL de jugo y se aforó a 100 mL con agua destilada. De esta disolución se tomó una alícuota de 10 mL y se determinó volumétricamente por titulación con NaOH 0.1N (J.T.Baker) utilizando una disolución alcohólica de fenolftaleína (J.T.Baker) 1% como indicador. Se cuantificó el volumen gastado de NaOH 0.1N y se reportó como % de ácido cítrico de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Ac} = \frac{\text{mL NaOH} * \text{N NaOH} * \text{meq Ác.Cítrico (0.064)} * \text{factor dilución (10)} * 100}{\text{mL de muestra}}$$

pH: (AOAC 1995) se determinó por triplicado en lotes de cinco limones el pH del jugo de los frutos con un potenciómetro Conductronic pH 10. Para calibrar el potenciómetro, se emplearon buffers de referencia pH 4± 0. 01 a 25° C disolución de Ftalato Ácido de Potasio y pH 7± 0. 001 a 25° C disolución de Fosfatos de Sodio y Potasio (Sigma).

6.6 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron utilizando el análisis de varianza (ANOVA) programa "Statistical Analysis System" (88) con una $\alpha \leq 0.05$. En los casos que mostraron diferencias significativas, se aplicó la prueba de intervalos múltiples de Duncan (comparación de medias de tratamiento) para determinar con precisión las diferencias entre los tratamientos.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 PRIMERA ETAPA. Acondicionamiento a altas temperaturas

Parámetros fisiológicos

a) Daño por frío

Las bajas temperaturas de almacenamiento propiciaron la aparición de picaduras y escaldadura en el flavedo, síntomas típicos del DPF en cítricos, los cuales se caracterizan por depresiones de color café y manchas de color pardo irregulares en la superficie del fruto, confirmando lo expresado por varios investigadores. Por ejemplo, se ha observado la incidencia de DPF en toronja como en muchos otros frutos de origen tropical y subtropical al ser almacenados a temperaturas menores a 12° C (8,10,28,32,33,36,50,53,55,95,105) (Figura 6).

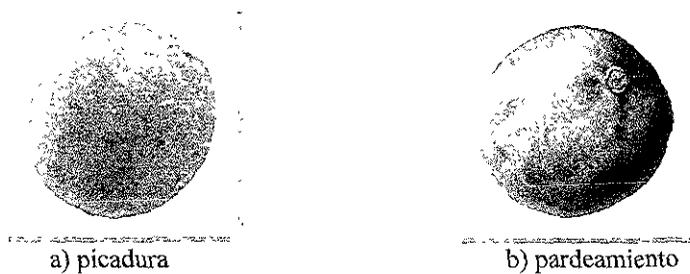


Figura 6. Daño por frío en limón persa.

Los limones desarrollaron DPF de distinto grado de severidad en función del acondicionamiento aplicado y temperatura de almacenamiento (Figura 4).

En el limón persa acondicionado por hidrocalentamiento (53° C – 3 minutos) y refrigerado a 4 y 8° C, se registró un incremento claramente definido en el DPF a lo largo del periodo de almacenamiento. El grado de DPF desarrollado en los frutos almacenados a 8° C fue ligero a los 6 días, manifestando un daño moderado desde los 15 días de almacenamiento hasta el final del periodo de refrigeración. El DPF desarrollado en los frutos refrigerados a 4° C fue mayor en comparación con los de 8° C ($\alpha \leq 0.05$), estos mostraron un DPF moderado desde los 12 días de almacenamiento alcanzando un grado severo al concluir el tiempo de almacenamiento. No se presentaron defectos en el sabor ni en el aroma, tampoco se presentó oscurecimiento interno en el

albedo, ni manchas en la pulpa, o pudrición. Con base en lo anterior, se concluyó que el tratamiento por inmersión no redujo la incidencia de DPF en los frutos, provocando la pérdida de la calidad comercial de los limones a partir de los 12 días de almacenamiento (Figura 7).

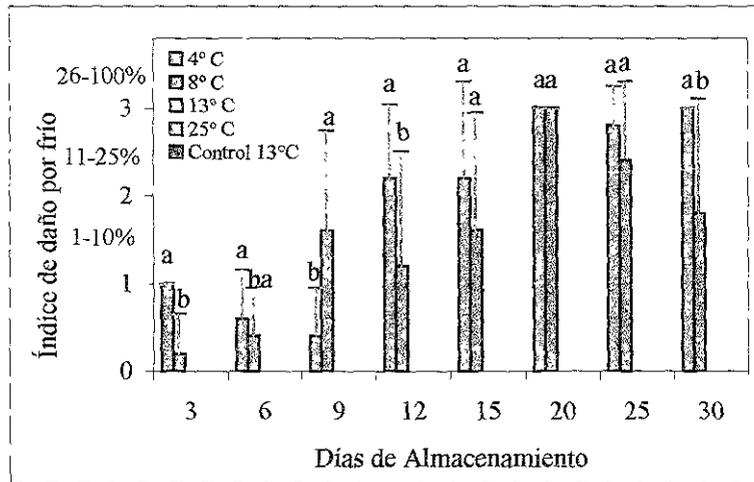


Figura 7. Efecto del hidrocalentamiento (53° C-3minutos) en el daño por frío en limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$). Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan.

El tratamiento con calor seco tampoco aminoró los síntomas de DPF, ya que desde los 3 días de almacenamiento se presentaron lesiones de DPF a 4 y 8° C como se puede apreciar en la figura 8. A pesar de que los limones refrigerados a 4° C tuvieron un periodo de almacenamiento muy corto, a los 9 días manifestaron un grado severo de DPF.

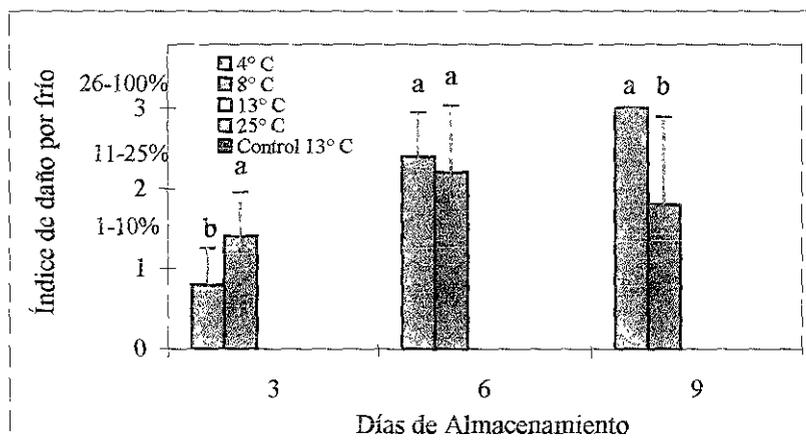


Figura 8. Efecto del acondicionamiento con calor seco (38 ° C-3 días) en el daño por frío en limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$). Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan

Al igual que en el hidrocalentamiento, los limones refrigerados a 4° C exhibieron un DPF significativamente mayor ($\alpha \leq 0.05$) al concluir el almacenamiento. Los resultados obtenidos en ambos acondicionamientos confirman que mientras la temperatura de almacenamiento sea más baja, el DPF es más severo.

A pesar de lo anterior se manifestó un DPF significativamente mayor ($\alpha \leq 0.05$) en los limones almacenados a 8° C en comparación con los de 4° C, a los 3 y 9 días de almacenamiento en los tratamientos con calor seco y húmedo respectivamente. Este comportamiento coincide con otros estudios donde se señala que la expresión de DPF inducido a 0° C es retardada ya que la visualización de los síntomas ocurre a menor velocidad cerca del punto de congelación. A temperaturas mayores el DPF es inducido lentamente, pero los síntomas se hacen evidentes en un menor tiempo por el efecto adicional del envejecimiento que ocurre a temperaturas elevadas (42).

En comparación con los frutos acondicionados por calor húmedo, los limones sometidos a un estrés por calor seco, presentaron un índice de DPF mayor. Este tratamiento resultó más agresivo, favoreciendo en mayor medida la susceptibilidad al desarrollo de DPF. No se presentaron pudriciones en los limones como se ha reportado con anterioridad, como desventaja de la aplicación de tratamientos térmicos (36).

En los limones almacenados a 13° C no se presentaron lesiones por frío, ya que este fenómeno sólo ocurre a bajas temperaturas (0-10° C) inductoras de DPF (31,52,96). La literatura reporta que el intervalo de temperatura mínima y segura para conservar frutos de limón es de 10 a 13° C, aunque es conveniente aclarar que estos valores pueden variar dependiendo de factores como: zona de cultivo, tipo de producto y manipulación postcosecha, entre otros (37,53,102). El limón persa, cultivo de origen subtropical es sensible al frío, cualquier descenso por debajo de la temperatura mínima tolerable (10 a 13° C) provoca una disminución de su vida útil (28,102,105).

Entre las recomendaciones para los cítricos como alternativa postcosecha en la prevención o reducción del DPF, se han propuesto tratamientos térmicos (37,38,39,43,50,52,92,93,105, 107). Sin embargo las bondades reportadas del acondicionamiento con estrés por calor, no se aplican a

los frutos de limón persa evaluados en el presente experimento. Las condiciones de estrés a altas temperaturas a las que fueron sometidos los limones aumentaron la susceptibilidad al desarrollo de DPF. De acuerdo con los resultados obtenidos, se considera que los tratamientos térmicos aplicados fueron muy severos, dado el grado de DPF inducido, por lo que se asume que se generaron daños en la integridad de la membrana del flavedo de los cítricos (92).

La literatura reporta que las naranjas, mandarinas y en menor medida las toronjas, son más tolerantes a las bajas temperaturas que las limas y los limones por lo que es factible que estos últimos sean menos resistentes a las altas temperaturas (8,13,28,37,82,83,101,110). En este experimento el elevado índice de DPF desencadenado por el estrés con calor en los limones, coincide con la variabilidad entre las distintas especies al deterioro fisiológico ocasionado por las altas temperaturas.

En mandarina Fortune condiciones de inmersión de 50 a 54° C durante 3 minutos resultan exitosas en la reducción de DPF (25,46); mientras que los resultados obtenidos en el presente experimento con el mismo tratamiento en frutos de limón persa indican que no es efectivo. Investigaciones realizadas en toronja Florida (62), naranja Valencia (106) y mandarina Fortune (48) reportan que un acondicionamiento con calor seco ($37^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ por tres días) confiere resistencia al DPF, sin embargo los limones evaluados en este estudio desarrollaron un grado severo de DPF.

La diferencia en los resultados se debe probablemente a las condiciones precosecha entre las que se encuentran: factores ambientales, época de recolección, prácticas culturales, etapa de madurez del fruto, zona de cultivo y métodos de cosecha; que posiblemente influyeron en la composición y respuesta de los cítricos al DPF. Cabe resaltar que los frutos fueron recolectados de una zona afectada por inundaciones ocurridas durante el mes de octubre de 1999, evento que pudo haber generado mayor susceptibilidad al DPF en este producto. De este modo, se hace evidente la influencia de la zona de cultivo y las condiciones ambientales en la respuesta de los frutos a las bajas temperaturas de almacenamiento. Por ejemplo, las naranjas valencia de Texas y Florida soportan bien las bajas temperaturas y pueden ser almacenadas durante 8 – 10 semanas a 0 – 1° C 85-90% HR sin problemas de DPF en el flavedo; en cambio las naranjas provenientes de

California para un almacenamiento durante 4 - 6 semanas, por su sensibilidad al frío, deben conservarse a 5 - 7° C (8).

b) Fisiopatías ocasionadas por el acondicionamiento a altas temperaturas

Los resultados muestran que los tratamientos a altas temperaturas causan efectos adversos en los frutos de limón persa. Así por ejemplo, con el tratamiento de hidrocalentamiento (53° C durante 3 minutos), se manifestaron defectos de oleocelosis en un 5% de los frutos a partir de los 3 días de almacenamiento (Figura. 9). Esta fisiopatía es ocasionada por la ruptura de las glándulas de aceite esencial del flavedo (35).

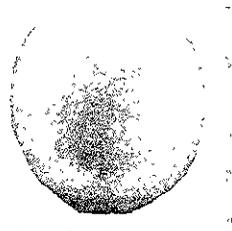


Figura 9. "Oleocelosis en limón".

Se ha reportado que este tipo de daño se acentúa en épocas lluviosas en fechas cercanas a la cosecha de los frutos, ya que se incrementa la turgencia celular y esto los hace más susceptibles a daños mecánicos (105). La respuesta observada podría atribuirse por un lado a las inundaciones ocurridas durante esta época en la zona de Martínez de la Torre, Veracruz, y por otro al tratamiento mismo, el cual favoreció la liberación de los aceites del flavedo.

En el caso de la aplicación del tratamiento con calor seco (38° C por 3 días), se encontró que aproximadamente el 20% de los limones presentaron una alteración en forma de mancha húmeda de color café en la punta estilar del fruto. En un principio se pensó que el origen de este fenómeno era microbiológico, sin embargo, al realizar una siembra de la muestra en agar papa dextrosa no se detectó crecimiento de microorganismos. La literatura reporta que los síntomas presentados por los limones, son propios de un desorden fisiológico conocido como "rompimiento estilar o coleado". Este disturbio se inicia por un incremento de la temperatura interna del fruto una vez cosechado; esto ocasiona una expansión del líquido de las vesículas de

jugo, las cuales se rompen al aumentar la presión interna. El jugo liberado invade la corteza de la región estilar y al degradar la clorofila, da al fruto la apariencia anteriormente descrita (19,35) (Figura. 10).

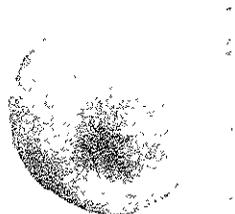


Figura 10. "Rompimiento estilar o coleado".

El acondicionamiento con calor seco deterioró considerablemente los frutos induciendo una senescencia prematura al doceavo día de almacenamiento. Por tal motivo, solamente fue posible realizar la evaluación de los parámetros fisiológicos y de calidad hasta el noveno día (Tabla 16).

Tabla 16. Porcentaje de limones en estado senescente al 12° día de almacenamiento acondicionados con calor seco

Temperatura de almacenamiento	% de limones en estado senescente
4° C	98.59%
8° C	92.86%
13° C	89.23%
25° C	96.88%

c) Pérdida fisiológica de peso

En general, los limones almacenados a las distintas temperaturas mostraron una tendencia ascendente en la PFP. En el acondicionamiento por hidrocalentamiento, el mayor porcentaje de PFP se registró en los frutos de limón almacenados a 25° C, comportamiento que prevaleció durante los 30 días de almacenamiento, alcanzando un valor final de 29.70%.

En lo que respecta a los frutos refrigerados a 8° C, reportaron un porcentaje de PFP de 8.18 % siendo el valor más bajo al término del experimento. Es de notar, que a partir del noveno día, el porcentaje de PFP ocasionado por el almacenamiento a 4 y 13° C fue mayor que el manifestado en los frutos conservados a 8° C (Figura 11).

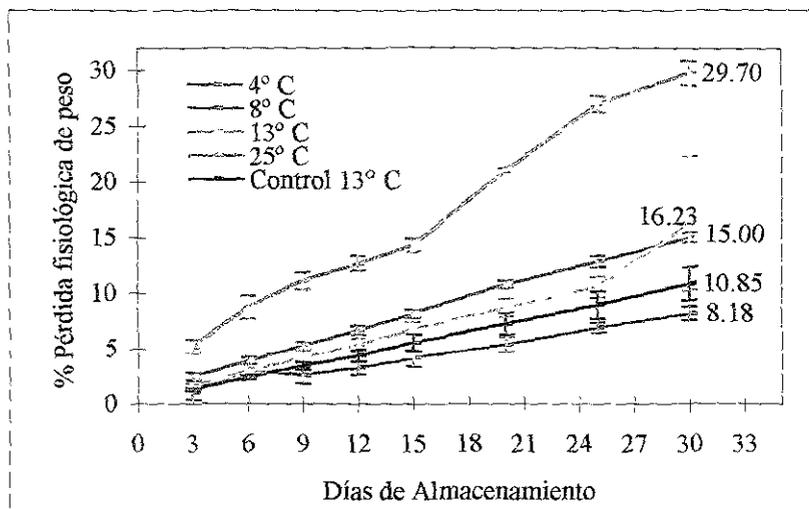


Figura 11. Efecto del hidrocalentamiento (53° C-3 minutos) en la pérdida fisiológica de peso en limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.

Por otro lado, la PFP registrada en los limones de 13° C sin acondicionamiento mantuvo valores intermedios entre las temperaturas de 8 y 13° C. Al concluir el periodo de almacenamiento no hubo diferencia significativa ($\alpha \leq 0.05$) en el porcentaje de PFP del grupo control con respecto a 8 y 13° C.

El acondicionamiento con calor seco (38° C - 3 días), ocasionó pérdida de peso en los frutos del orden de 3 por ciento antes de su almacenamiento a las distintas temperaturas. Los limones almacenados a 25° C presentaron una PFP de 10.66%, significativamente mayor ($\alpha \leq 0.05$) que el resto de las temperaturas (Figura 12).

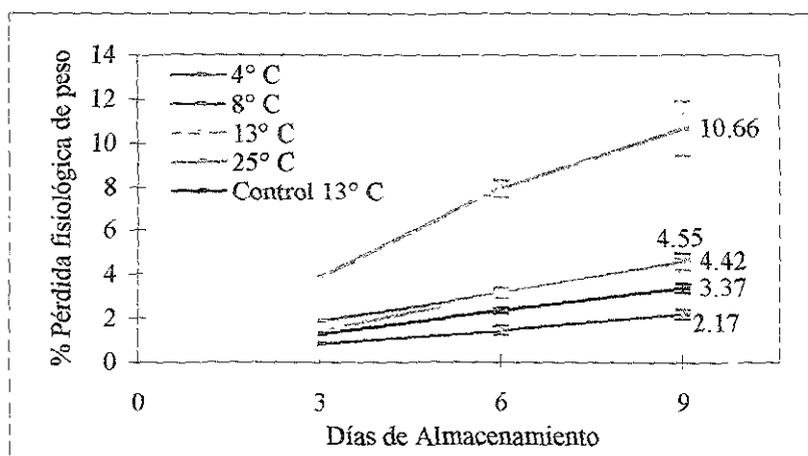


Figura 12. Efecto del acondicionamiento con calor seco (38° C-3 días) en la pérdida fisiológica de peso en limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C.

El menor porcentaje de PFP se registró a 8° C temperatura a la cual los frutos manifestaron un valor de 2.17%, mientras que los limones almacenados a 4 y 13° C y los del grupo control presentaron valores intermedios en un intervalo de 3 a 5%, al igual que el tratamiento con calor húmedo.

Aparentemente los acondicionamientos con calor húmedo y seco causaron el mismo efecto en la magnitud de la PFP. Al comparar los resultados del porcentaje de PFP de ambos tratamientos al noveno día de almacenamiento, fecha en que se realizó la última evaluación en los limones acondicionados con calor seco, se aprecia que el almacenamiento a las diferentes temperaturas provocó una PFP similar. A partir de estos resultados, se sugiere que la aplicación de los acondicionamientos térmicos evaluados en este experimento incidieron en igual proporción en la PFP. De este modo, las respuestas observadas a las diferentes temperaturas de almacenamiento obedecen a la acción conjunta de la temperatura y humedad relativa de la cámara de almacenamiento, que afectan el déficit de la presión de vapor del fruto y la atmósfera húmeda de almacenamiento (10,14,32,36).

En el caso particular de la temperatura de 25° C, los bajos valores de humedad relativa de la cámara de almacenamiento (58%) favorecieron el proceso de transpiración y desecación de los limones. La baja humedad relativa, es proporcional a un déficit mayor en la presión de vapor entre el medio ambiente y la presión interna de los frutos. Este fenómeno favorece la transpiración, como consecuencia de la migración del agua. Otra variable que juega un papel determinante en el incremento de la PFP, es el aumento en la permeabilidad de la pared de los frutos ocurrido durante la senescencia (24,37,50,73,96,98,105,108).

En los limones almacenados a 8 y 13° C, el factor determinante en la PFP fue la temperatura de almacenamiento y no la humedad relativa cuyo valor estuvo alrededor de 92 y 94% respectivamente. La diferencia de resultados entre estas dos temperaturas radica en la velocidad de las reacciones metabólicas. Entre más baja sea la temperatura de almacenamiento, la velocidad de estas reacciones, incluida la de transpiración, es menor (108). Contrariamente a lo que se esperaría, a 4° C la PFP resultó mayor que a 8° C. La interpretación de estos resultados se explica

como un efecto del DPF, ya que a temperaturas más bajas la severidad del DPF es mayor, aparecen lesiones en el flavedo y por lo tanto hay un aumento en la permeabilidad de la cáscara.

Parámetros de calidad

a) Color

Los limones acondicionados por hidrocalentamiento (53° C - 3 minutos) y almacenados a las temperaturas de 4, 8, 13 y 25° C, experimentaron cambios de color durante el periodo de almacenamiento. Como se puede apreciar en la figura 13, los frutos manifestaron una disminución en sus tonalidades verdes y un aumento en los tonos amarillos en diferentes proporciones y velocidades, en función de las condiciones de almacenamiento a las que fueron sometidos.

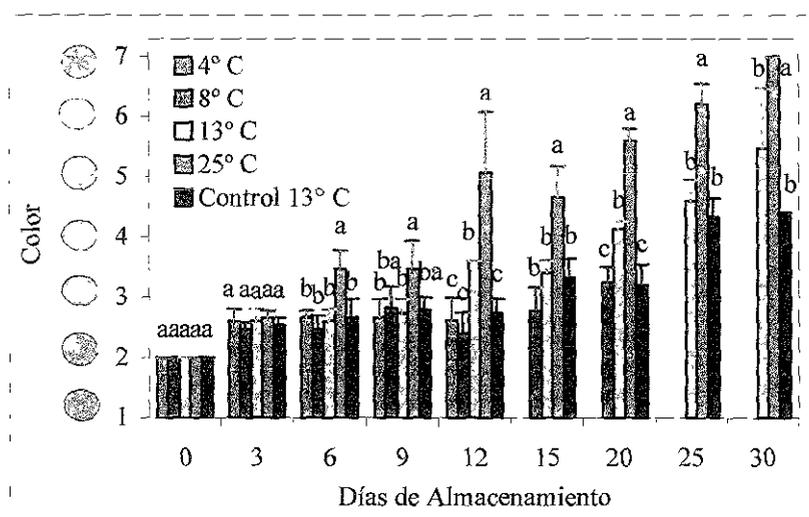


Figura 13. Efecto del hidrocalentamiento (53° C-3 minutos) en el cambio de color del limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$). Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan.

Hasta los 9 días de almacenamiento, el color de los limones acondicionados por hidrocalentamiento y almacenados a 4, 8 y 13° C, se mantuvo homogéneo en un intervalo de 2 a 3 según la escala empleada (h° 125.92 a 121.20), que va de un verde oscuro a verde claro con trazas de color amarillo.

En los frutos almacenados a 4 y 8° C, se encontraron lesiones de DPF en más de un 50% de la totalidad del fruto, impidiendo la evaluación del color a partir de los 15 y 25 días de almacenamiento respectivamente.

Los cambios de color más significativos se presentaron en los limones almacenados a 25° C ($\alpha \leq 0.05$). Al término del periodo de almacenamiento, los frutos de limón persa conservados a esta temperatura se encontraron en estado senescente avanzado, manifestando una coloración café con manchas amarillas en el flavedo. Adicionalmente los frutos presentaron pudrición negra o del pedúnculo (105). El comportamiento del color en los frutos almacenados a la temperatura de 13° C con y sin acondicionamiento fue similar ($\alpha \leq 0.05$) durante todo el almacenamiento, los limones adquirieron una coloración verde amarillenta ($h^{\circ} 109.49$) a los 30 días. Estos resultados confirman que el acondicionamiento por hidrocalentamiento (53° C – 3 minutos) no prolonga la conservación en fresco de los frutos en comparación con el grupo control (almacenamiento a 13° C sin acondicionamiento previo).

Los limones acondicionados con calor seco (38° C - 3 días) sufrieron cambios de color más drásticos que los acondicionados con calor húmedo. Se observó que no hubo diferencia significativa en los cambios de color en los limones almacenados a 13 y 25° C ($\alpha \leq 0.05$), por lo que se asume que la degradación de clorofila fue similar. A partir del tercer día de almacenamiento, los frutos manifestaron una coloración amarilla ($h^{\circ} 101.09$) alcanzando un estado senescente al doceavo día ($h^{\circ} 97.08$). Se ha reportado que estas temperaturas propician cambios en el color por diferentes vías, a temperaturas entre 25 y 30° C se favorece la degradación de clorofila en el flavedo de los cítricos, mientras que a 15 y 25° C se promueve la producción de los carotenoides (105,108).

Al noveno día de almacenamiento los limones almacenados a 4, 13 y 25° C no presentaron cambios significativos en el color de la cáscara ($\alpha \leq 0.05$), alcanzando tonalidades típicas de un estado senescente. A diferencia de los tratamientos anteriormente descritos, los limones almacenados a 8° C y los del grupo control manifestaron un color verde amarillento y verde claro respectivamente.

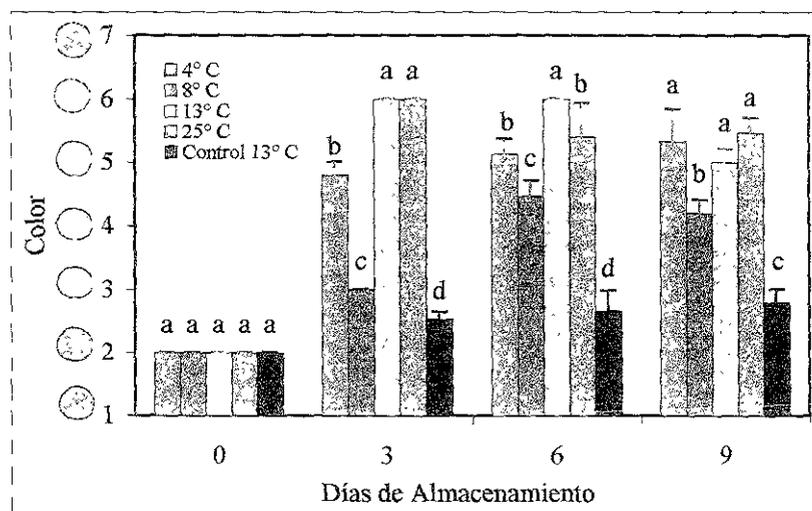


Figura 14. Efecto del acondicionamiento con calor seco (38° C-3 días) en el cambio de color del limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$). Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan.

Los resultados sugieren que el almacenamiento a 8° C de los frutos acondicionados con calor seco (38° C - 3 días) retarda ligeramente el cambio de color con respecto al resto de los tratamientos ($\alpha \leq 0.05$). Sin embargo, en comparación con los limones del grupo control almacenados a 13° C, resultó evidente que el acondicionamiento no produce un efecto benéfico en su conservación. A lo largo del periodo de almacenamiento los frutos que no recibieron un acondicionamiento térmico (grupo control) mantuvieron un color verde ($h^{\circ}121.20$) y mejor aspecto.

Fue particularmente notable que el almacenamiento a 8° C retarda el efecto de la senescencia con respecto al resto de las temperaturas de almacenamiento y aunque se apreció que la refrigeración a 4° C disminuyó la actividad enzimática en los primeros días del almacenamiento al igual que a 8° C, no se obtuvieron resultados benéficos como en el almacenamiento a 8° C, debido a que los limones desarrollaron lesiones por frío más severas a 4° C (108).

Las temperaturas de almacenamiento de 13 y 25° C de los limones sometidos a ambos tratamientos de acondicionamiento, contribuyeron de forma significativa al incremento de las reacciones metabólicas que dan paso a la senescencia. Los cítricos son frutos no climatéricos y tienen una tasa baja de respiración y producción de etileno, sin embargo el deterioro acelerado de

los frutos se atribuye al aumento en la velocidad de respiración causado por la temperatura del tratamiento aplicado previo al almacenamiento refrigerado (96,108).

Los cambios abruptos de color manifestados en los frutos acondicionados por hidrocalentamiento y calor seco, son reflejo de un acelerado metabolismo e inducción de procesos oxidativos que condujeron a una senescencia prematura (87,108). De acuerdo a la literatura durante esta etapa fisiológica, hay un incremento en la actividad de la clorofilasa en el flavedo, con una consecuente degradación de la clorofila y un aumento en la biosíntesis de carotenos lo que concuerda con lo reportado en la literatura en donde se señala que altas temperaturas producen efectos negativos en la calidad de los frutos, deterioro en el color, reblandecimiento de los tejidos por modificación de la estructura celular y senescencia (93,105).

b) Porcentaje de jugo

El porcentaje de jugo de los frutos de limón persa sometidos a las diferentes condiciones de almacenamiento, presentó variaciones a lo largo del experimento. No existieron diferencias significativas ($\alpha \leq 0.05$) en el porcentaje de jugo de los frutos al término del periodo de almacenamiento (Tabla 17 y 18).

Los frutos acondicionados por calor húmedo alcanzaron un porcentaje de jugo de 52, salvo el grupo control que presentó un porcentaje de jugo de 43.90 menor al resto de los tratamientos. Por otro lado, los limones acondicionados por calor seco manifestaron un porcentaje de jugo de 29.73, mientras que los frutos sin acondicionamiento almacenados a 13° C presentaron un porcentaje de jugo de 48.02. Con base en estos resultados, se infiere que pudieron haber ocurrido daños en las estructuras de las vesículas que contienen el jugo por efecto de la temperatura de acondicionamiento.

Este parámetro no está relacionado con la pérdida fisiológica de peso, ya que los cítricos pierden principalmente agua del flavedo (105).

c) Grados Brix

En el acondicionamiento por hidrocalentamiento, los frutos almacenados a 4, 8 y 13° C y el grupo control no registraron diferencias significativas ($\alpha \leq 0.05$) en los valores de grados Brix, siendo de 8.8, mientras que a 25° C se presentaron los valores más altos (10.1) (Tabla 17). Los limones acondicionados por calor seco y el grupo control no presentaron diferencias significativas ($\alpha \leq 0.05$) en los resultados de grados Brix, registrando un valor promedio de 8.3.

En general, al confrontar los resultados de ambos acondicionamientos por calor se observó que son similares, lo cual sugiere que los tratamientos no provocaron cambios significativos a nivel interno de los frutos (Tabla 18).

Se sugiere que el aumento en los ácidos orgánicos, específicamente ácido cítrico puede aumentar los valores de grados Brix, este último argumento se aprecia solamente en el tratamiento a 25° C al compararlos con el porcentaje de acidez (96) (Tabla 17). De acuerdo con la literatura puede ocurrir solubilización de constituyentes de la pared celular por galactosidasas y glucosidasas, que también contribuyen al aumento de los grados Brix (98).

d) Acidez titulable

El tratamiento por hidrocalentamiento de los frutos almacenados a 25° C, registró el mayor porcentaje de acidez expresado como ácido cítrico (6.61 %), durante todo el experimento ($\alpha \leq 0.05$). Según la literatura, el aumento de los grupos carboxilos durante la madurez incrementa el contenido de ácido cítrico (96,98). Con base en estas diferencias en el porcentaje de acidez, se confirma que el almacenamiento a 4, 8 y 13 ° C retardó el efecto de tal etapa fisiológica (Tabla 17).

Los frutos tratados con calor seco no mostraron una tendencia definida en el porcentaje de acidez, debido al corto periodo de almacenamiento, como consecuencia de la senescencia prematura que manifestaron los cítricos (Tabla 18).

e) pH

Al final del periodo de almacenamiento los frutos acondicionados con calor húmedo almacenados a 4° C mostraron un pH de 2.56, mientras que el menor valor se manifestó en los limones almacenados a 25° C . El resto de las temperaturas de almacenamiento mantuvo valores intermedios (Tabla 17).

El acondicionamiento por calor seco provocó el mismo efecto en los valores de pH (2.54 en promedio), ya que no hubo diferencia significativa ($\alpha \leq 0.05$) entre las temperaturas de almacenamiento, mientras que el grupo control presentó un valor de pH de 2.23 (Tabla 18).

Tabla 17. Influencia del hidrocalentamiento (53° C-3 minutos) en los parámetros de calidad del limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C

Temperatura de Almacenamiento	Días de Almacenamiento								
	0	3	6	9	12	15	20	25	30
PORCENTAJE DE JUGO									
4° C	49.69 a	54.40 a	50.20 ba	47.67 a	43.57 a	49.70 a	51.61 a	48.60 ba	52.67 a
8° C	49.69 a	45.41 a	53.03 a	49.46 a	46.89 a	47.46 a	50.81 a	48.80 ba	50.71 a
13° C	49.69 a	47.85 a	51.12 a	50.02 a	46.87 a	49.03 a	50.84 a	52.94 a	52.12 a
25° C	49.69 a	43.28 a	48.02 ba	49.59 a	48.31 a	50.88 a	52.53 a	50.23 a	52.45 a
Control 13° C	49.69 a	51.76 a	45.14 b	48.02 a	47.55 a	47.35 a	48.73 a	43.28 b	43.90 b
GRADOS BRUX									
4° C	8.2 a	8.5 a	8.8 ba	8.3 a	8.8 ba	8.3 b	8.6 b	9.0 a	8.5 b
8° C	8.2 a	9.0 a	8.5 b	8.3 a	8.7 ba	8.4 b	8.8 ba	8.8 a	8.7 b
13° C	8.2 a	8.8 a	9.0 ba	8.5 a	8.9 a	9.1 a	9.0 ba	8.8 a	8.9 b
25° C	8.2 a	8.6 a	9.3 a	8.8 a	8.6 ba	9.1 a	9.3 a	9.1 a	10.1 a
Control 13° C	8.2 a	8.5 a	9.0 ba	8.5 a	8.5 b	8.9 ba	8.7 b	8.9 a	9.0 b
PORCENTAJE DE ÁCIDO CÍTRICO									
4° C	5.57 a	5.72 a	5.38 b	5.47 b	6.06 a	6.28 a	5.91 a	5.52 b	5.51 b
8° C	5.57 a	5.81 a	5.74 ba	5.46 b	5.78 a	6.07 a	6.00 a	5.51 b	5.64 b
13° C	5.57 a	6.00 a	6.17 a	5.72 ba	6.06 a	6.31 a	6.24 a	6.28 a	5.98 ba
25° C	5.57 a	6.04 a	6.19 a	5.95 a	6.14 a	6.33 a	6.44 a	6.38 a	6.61 a
Control 13° C	5.57 a	5.86 a	5.91 ba	5.64 ba	6.01 a	6.21 a	6.32 a	6.16 a	6.21 ba
pH									
4° C	2.36 a	2.58 a	2.46 a	2.21 a	2.25 a	2.51 a	2.27 b	2.57 a	2.56 a
8° C	2.36 a	2.49 a	2.28 a	2.13 a	2.30 a	2.59 a	2.45 ba	2.56 a	2.54 ba
13° C	2.36 a	2.44 a	2.15 a	2.15 a	2.37 a	2.66 a	2.36 ba	2.51 a	2.54 ba
25° C	2.36 a	2.57 a	2.17 a	2.41 a	2.27 a	2.51 a	2.50 a	2.45 a	2.48 b
Control 13° C	2.36 a	2.48 a	2.31 a	2.23 a	2.32 a	2.64 a	2.37 ba	2.54 a	2.52 ba

Los resultados presentados son un promedio de las tres réplicas. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$).

Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan

Tabla 18. Influencia del acondicionamiento con calor seco (38° C-3 días) en los parámetros de calidad del limón persa almacenado a 4, 8, 13 y 25° C

Días de Almacenamiento								
Temperatura de Almacenamiento	0	3	6	9				
PORCENTAJE DE JUGO								
4° C	49.69	a	29.44	b	28.97	b	30.58	b
8° C	49.69	a	32.73	b	37.66	ba	30.11	b
13° C	49.69	a	28.40	b	30.26	b	30.15	b
25° C	49.69	a	32.21	b	31.13	b	28.09	b
Control 13° C	49.69	a	51.76	a	45.14	a	48.02	a
GRADOS BRIX								
4° C	8.2	a	7.9	b	7.9	b	8.0	ba
8° C	8.2	a	8.3	ba	8.0	b	8.0	b
13° C	8.2	a	8.6	a	8.0	b	8.5	ba
25° C	8.2	a	8.1	ba	7.7	b	8.3	ba
Control 13° C	8.2	a	8.5	a	9.0	a	8.5	a
PORCENTAJE DE ÁCIDO CÍTRICO								
4° C	5.57	a	5.02	b	4.68	b	5.14	b
8° C	5.57	a	5.06	b	4.80	b	4.87	b
13° C	5.57	a	5.06	b	4.97	b	4.81	bc
25° C	5.57	a	5.04	b	4.76	b	4.66	c
Control 13° C	5.57	a	5.86	a	5.91	a	5.64	a
pH								
4° C	2.36	a	2.48	a	2.38	a	2.62	a
8° C	2.36	a	2.42	a	2.41	a	2.53	a
13° C	2.36	a	2.40	a	2.33	a	2.50	a
25° C	2.36	a	2.30	a	2.36	a	2.52	a
Control 13° C	2.36	a	2.48	a	2.31	a	2.23	b

Los resultados presentados son un promedio de las tres réplicas. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$). Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan

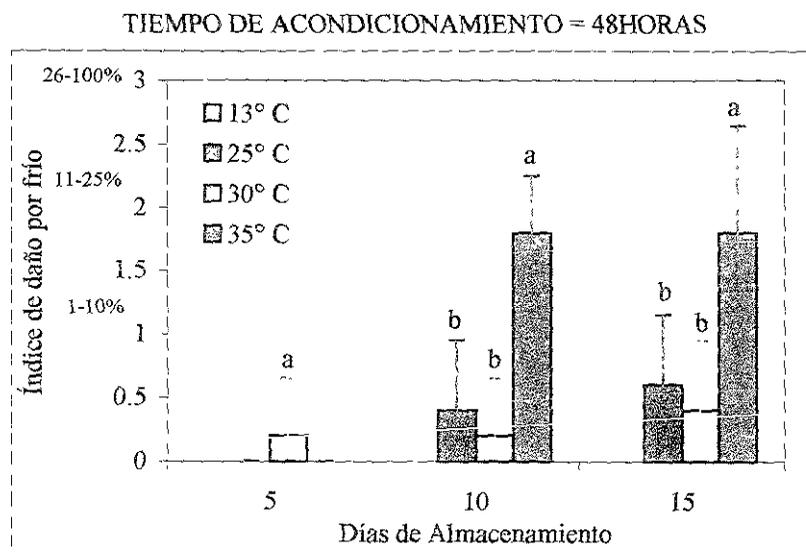
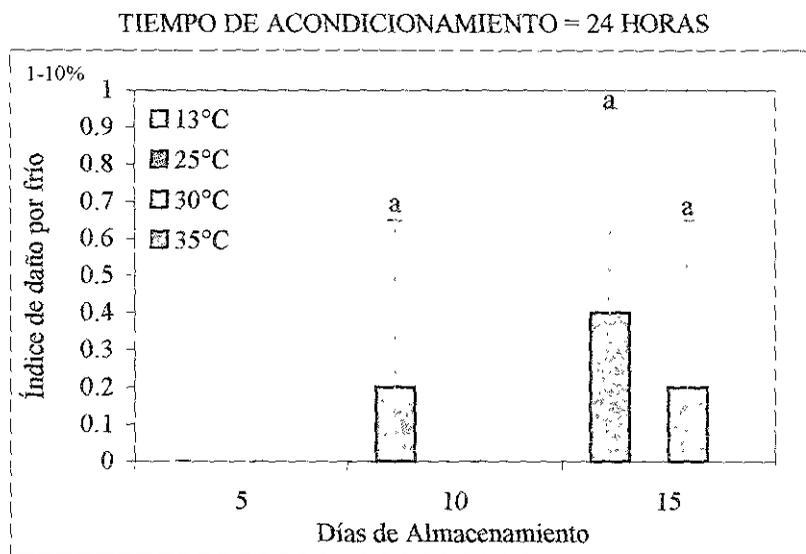
7.2 SEGUNDA ETAPA. Barrido de temperatura y tiempo de acondicionamiento

Como se mencionó en el apartado de metodología, en esta etapa, el interés fue el de investigar las condiciones óptimas de tiempo y temperatura de acondicionamiento que aminoraran la incidencia de DPF en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka). A continuación se presentan los resultados obtenidos en los dos parámetros fisiológicos que se evaluaron.

Parámetro fisiológicos

a) Daño por frío

Los limones acondicionados durante 24 horas a 13 y 30° C almacenados a 8° C presentaron un índice de DPF despreciable (0.4 y 0.2 respectivamente), tales temperaturas no mostraron una diferencia significativa ($\alpha \leq 0.05$) en su efecto sobre el DPF. Mientras tanto, los limones acondicionados durante el mismo tiempo, a 25 y 35° C no registraron DPF, como era de esperarse (Figura 15).



ESTA TESIS NO SE
DE LA BIBLIOTECA

TIEMPO DE ACONDICIONAMIENTO = 72 HORAS

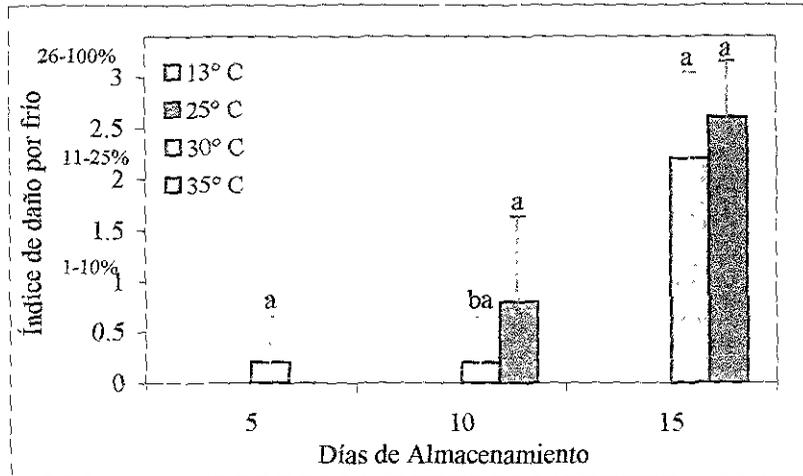


Figura 15. Efecto del tiempo (24,48 y 72 h.) y temperatura (13,25,30 y 35° C) de acondicionamiento en el daño por frío en limón persa almacenado a 8° C. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$). Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan.

Los frutos sometidos a un acondicionamiento de 48 horas a 25, 30 y 35° C mostraron síntomas de DPF, mientras que los acondicionados a 13° C no registraron lesiones. Aparentemente, un periodo de acondicionamiento a altas temperaturas mayor a 24 horas provoca una deshidratación de los limones, haciéndolos más susceptibles al DPF. Las temperaturas de acondicionamiento de 30 y 35° C provocaron un grado ligero de DPF, el mayor índice de DPF ($\alpha \leq 0.05$) se identificó en el tratamiento de 35° C (DPF moderado), contrario a lo que ocurrió a las 24 horas de acondicionamiento (Figura 15).

El acondicionamiento durante 72 horas, provocó en los limones tratados a 30 y 35° C un DPF de moderado a severo, en tanto que los limones sometidos a 13 y 25° C no presentaron DPF. Al final del almacenamiento el mayor DPF ($\alpha \leq 0.05$) se identificó en 35° C con un índice de 2.6 (DPF severo).

A pesar de que existen una gran cantidad de estudios que respaldan la efectividad de los tratamientos con calor usando temperaturas de 37° C por 72 horas, los frutos de limón persa no manifestaron una reducción en el DPF (38,39,43,50,53,78). Posiblemente la pérdida de la integridad de la membrana y de humedad, así como otros disturbios fisiológicos ocasionados por la temperatura y tiempo de acondicionamiento, provocaron mayor severidad del DPF en el limón (93).

Por otro lado, los limones acondicionados a la temperatura comercial (13° C) no manifestaron DPF, lo cual coincide con la literatura, donde tratamientos a bajas temperaturas cercanas a la temperatura crítica de almacenamiento, reducen los efectos del DPF (3, 28, 101). De todos los acondicionamientos aplicados al limón persa, el que logró una mayor conservación del fruto sin alteraciones (cambios de color, textura y DPF) a los 15 días de almacenamiento fue el de 13° C durante 48 y 72 horas. Estos resultados coinciden con los obtenidos en la primera etapa del experimento, lo cual sugiere que la aplicación de tratamientos con altas temperaturas en limón persa cultivado en Martínez de la Torre, Veracruz, no reduce los síntomas de DPF.

La efectividad del acondicionamiento radica en la relación tiempo/temperatura que se maneje en los productos hortofrutícolas, en que se reduzca el DPF y se generen alteraciones fisiológicas en el fruto. (32,37).

La tendencia observada en este estudio, indica que acondicionamientos a bajas temperaturas por un periodo de tiempo mayor a 24 horas resultan más efectivos en la disminución de las lesiones originadas por el frío, que los aplicados a temperaturas más elevadas.

Por ejemplo, se ha encontrado que la exposición de los tejidos de las plantas sensibles al frío a temperaturas elevadas alrededor de 32° C aumenta su sensibilidad a las lesiones en comparación con los frutos expuestos a 12° C (87). Por otro lado, un tratamiento a 21° C durante 3 días en limón Bearss previo a la refrigeración reduce el DPF (53). En toronjas variedad Marsh Seedles se han obtenido resultados favorables en la reducción de DPF, tratadas previamente durante 48 horas a 29° C y por un periodo de 3 a 7 días a 10, 16 y 21° C (28,32). En limas acondicionadas una semana de 7 a 20° C disminuye la incidencia de DPF (101). En limón persa se ha reportado que un acondicionamiento durante 1 semana a 7.2, 10, 12.8, 15.5 o 21.1° C almacenado durante dos semanas a 1.7° C reduce los síntomas de DPF (28).

Contrariamente, el estrés por calor provoca una reducción del DPF al ser aplicado por un lapso de tiempo menor, aparentemente se requieren intervalos cortos de tiempo para inducir resistencia al DPF con estos acondicionamientos.

La literatura reporta que la transpiración constituye un factor determinante en la aparición de defectos de DPF, lo cual se ha asociado con el desarrollo de lesiones microscópicas en el flavedo y albedo (25,92). La pérdida de humedad del flavedo puede estar relacionada con el rompimiento celular, pérdida de la integridad de la membrana, fuga electrolítica y la aparente remoción de las ceras epicuticulares, las cuales juegan un papel importante en el intercambio de agua a través de la cáscara (10,46,93). Se ha comprobado que la PFP acentúa y favorece el desarrollo de DPF en cítricos como limones "Villa franca", toronja y mandarina Fortune y otros productos hortofrutícolas (28,29,30,32,33,36,46,55,82,87,93).

Sin embargo, existen controversias sobre la participación que la pérdida de agua tiene en el desarrollo de DPF, ya que en diversos estudios se reporta que la aplicación de tratamientos reductores de DPF no provocan el mismo efecto en la PFP (55,93). En el acondicionamiento con calor húmedo y seco se observó una correlación entre el porcentaje de PFP y el índice de DPF, como se describió con anterioridad la temperatura de almacenamiento de 8° C disminuyó la PFP en mayor proporción que la de 4° C, a la vez que se registró un índice menor de DPF. En algunos acondicionamientos del barrido de tiempo y temperatura, se apreció esta misma tendencia, donde el acondicionamiento a 35° C durante 48 y 72 horas manifestó altos valores de PFP y DPF. En el caso de las temperaturas que redujeron significativamente la PFP, no se presentaron defectos de DPF en los frutos. En ocasiones, es probable que la relación establecida entre estos factores sea una retroalimentación positiva iniciada por lesiones en el tejido. A partir de observaciones de este tipo, diversos autores han postulado que la PFP es una causa del DPF (92).

Sin embargo, en el presente experimento se cuestiona lo anterior. Tal aseveración surge de los resultados del barrido de tiempo y temperatura, donde los limones acondicionados a 35° C durante 24 horas presentaron un porcentaje de PFP mayor (9.5 %) al resto de los tratamientos aplicados durante el mismo lapso de tiempo sin registrar la incidencia de DPF. En cambio, los frutos acondicionados a 13° C por el mismo tiempo, mostraron DPF a la vez que se redujo considerablemente la PFP. Con base en estos resultados, se apoya la teoría de que la PFP no es causante del DPF sino un factor más que puede contribuir al desarrollo de las lesiones por parte de los frutos o no guardar relación alguna (82).

7.3 TERCERA ETAPA. Acondicionamiento combinado de 13° C y recubrimientos

Parámetros fisiológicos

a) Daño por frío

A partir de los resultados derivados del barrido de tiempo y temperatura, se decidió evaluar el efecto del acondicionamiento a bajas temperaturas en combinación con la aplicación de recubrimientos en la disminución del DPF. El acondicionamiento a bajas temperaturas durante 48 y 72 horas a 13° C causó un efecto benéfico en la reducción del porcentaje de DPF en limón persa, independientemente de la aplicación de recubrimientos, en comparación con el acondicionamiento a altas temperaturas.

Hasta los 18 días de almacenamiento a 8° C, el efecto de los diversos tratamientos a bajas temperaturas sobre el DPF no mostró diferencias significativas ($\alpha \leq 0.05$), registrándose valores máximos de 0.5% (trazas de DPF). Al concluir el periodo de refrigeración, los frutos acondicionados a 13° C durante 72 horas sin recubrimiento, manifestaron el mayor porcentaje de DPF ($\alpha \leq 0.05$) (Figura 17).

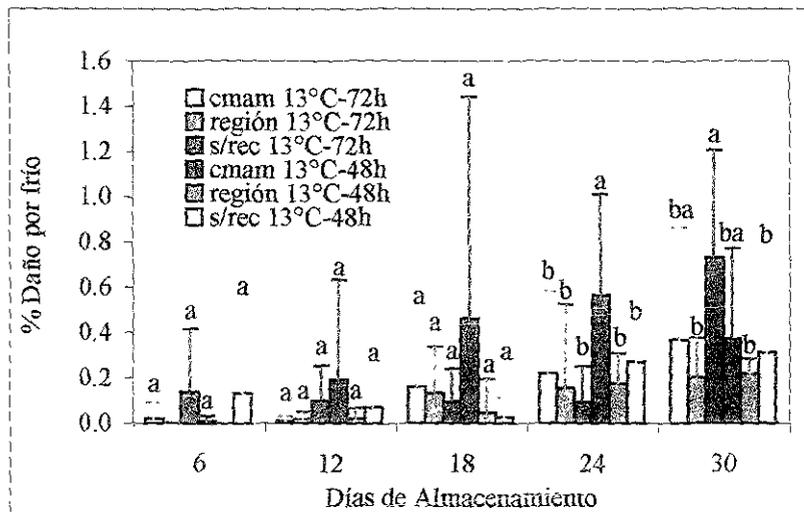


Figura 17. Efecto del acondicionamiento a bajas temperaturas y recubrimiento con CMAM y cera de la región en el daño por frío en limón persa almacenado a 8° C. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$). Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan.

Con base en estas observaciones, se deduce que la aplicación de la cera CMAM y de la región, disminuyó la expresión de DPF. De acuerdo a la literatura, el encerado disminuye el DPF a través de la alteración y/o restricción del intercambio gaseoso entre los frutos y su atmósfera (8,13,14,28,32,55,93,101). No se apreció un efecto sinérgico en la reducción del DPF por efecto del encerado y acondicionamiento a bajas temperaturas.

Cabe resaltar que el tratamiento de los limones a 13° C durante 48 horas sin encerar, mostró resultados similares ($\alpha \leq 0.05$) a los recubiertos con cera CMAM y de la región, acondicionados durante 48 y 72 horas a la misma temperatura. Este hecho es un indicador de la efectividad en la disminución del DPF como respuesta al estrés a bajas temperaturas al que fueron sometidos los frutos. Es factible que el estrés ocasionado por este tratamiento haya disminuido el DPF, aumentando la tolerancia del tejido a la refrigeración. (83). La exposición de los productos hortofrutícolas ligeramente por arriba de su temperatura crítica de enfriamiento incrementa la tolerancia al frío durante la refrigeración (101,102). El estrés moderado por bajas temperaturas puede inducir una respuesta de adaptación en los frutos y vegetales, cuando estos son sometidos posteriormente a un estrés por frío más severo (39,49,95,101). Los resultados del presente experimento, concuerdan con otras investigaciones, donde el tratamiento de limones a 15° C por 3-6 días disminuyó el DPF (3).

La tendencia observada en el barrido de tiempo y temperatura sugirió periodos de acondicionamiento a bajas temperaturas mayores a 24 horas para aminorar las lesiones de DPF ocasionadas durante la refrigeración. Específicamente, en el acondicionamiento a bajas temperaturas el tratamiento de los limones a 13° C durante 48 horas sin recubrimiento provocó un menor porcentaje de DPF que los acondicionados durante 72 horas. Es probable que exista un tiempo óptimo de acondicionamiento en que se logra inducir mayor tolerancia al DPF en el limón persa de la zona de Martínez de la Torre evaluado en este experimento.

Las diferentes respuestas a las bajas temperaturas por parte de los cítricos, ponen en evidencia la variada susceptibilidad que existe por parte de las diferentes especies y variedades citrícolas. Por ejemplo, la literatura reporta que la exposición de limones a 15.5° C en un lapso de 19 días no resultó ser un método adecuado en la prevención del DPF a una temperatura de refrigeración de

1° C (52,55). En cambio, en frutos de naranja Valencia y tangerina Murcott no se reportó desarrollo de DPF tras haber sido acondicionados 17 días a 1° C (28,101). Comparando los resultados obtenidos en el presente estudio con los reportados en otras investigaciones, se infiere que el tejido del flavedo del limón es más susceptible a sufrir lesiones por el acondicionamiento de los frutos durante un mayor tiempo, a diferencia de los frutos de naranja y tangerina. Es por esto que no existe un patrón único o general de tiempo y temperatura de acondicionamiento idóneo para todos los productos cítricos en que reduzca el DPF.

b) Pérdida fisiológica de peso

Al igual que los acondicionamientos de las etapas anteriores, los frutos tratados a bajas temperaturas experimentaron un incremento en el porcentaje de PFP durante el periodo de almacenamiento.

El menor porcentaje de PFP ($\alpha \leq 0.05$) se registró en los limones recubiertos con cera CMAM y acondicionados a 13° C durante 48 (7.89 %) y 72 horas (7.86 %). El comportamiento observado es resultado del efecto de la cera con que los frutos fueron recubiertos, independientemente del acondicionamiento previo que recibieron (Figura 18).

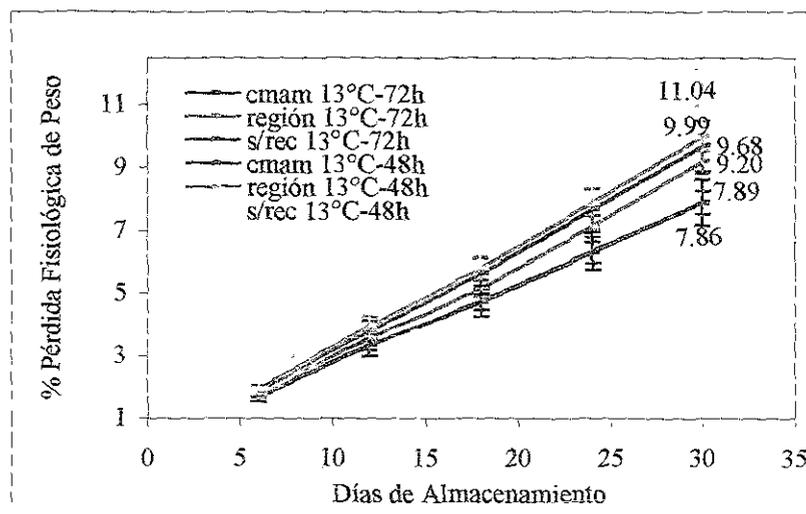


Figura 18. Efecto del acondicionamiento a bajas temperaturas y recubrimiento con CMAM y cera de la región en la pérdida fisiológica de peso en limón persa almacenado a 8° C.

La cera de la región aplicada a los frutos disminuyó en menor proporción el porcentaje de PFP en comparación con la formulación a base de candelilla (CMAM). Los limones recubiertos con cera de la región y acondicionados a 13° C durante 48 y 72 horas reportaron una PFP de 9.99% y 9.20% respectivamente. El recubrimiento con la cera CMAM fue más efectivo en la reducción de la PFP. La eficiencia de la cera CMAM se debe a una mayor restricción del intercambio gaseoso establecido entre los frutos y la atmósfera de la cámara de almacenamiento. (13,14,32,55,101). El bajo porcentaje de PFP percibido en los frutos recubiertos con la cera CMAM coincide con lo reportado en la literatura, donde se señala el papel relevante de las emulsiones a base de candelilla en la disminución de la PFP en cítricos (6,31). Otro de los componentes de esta emulsión que constituye una barrera efectiva contra la humedad es el aceite mineral (6).

Los limones sin recubrimiento acondicionados a 13° C durante 48 horas presentaron 11.04% de PFP, siendo mayor al de los frutos acondicionados por un lapso de 72 horas (9.68%). Al comparar estos resultados con los obtenidos en el barrido de tiempo y temperatura existen controversias, ya que los limones acondicionados a 13° C por un menor tiempo registraron un porcentaje mayor de PFP, contrario a lo observado en el barrido. En los frutos acondicionados por frío y encerados, la duración del tratamiento no fue un factor influyente en la PFP. Algunos estudios indican que no existe un efecto sinérgico en la reducción de la PFP al combinar el encerado con acondicionamientos por temperatura, a partir de lo cual se ha sugerido que tales tratamientos operan bajo diferentes mecanismos de acción (101).

El porcentaje más alto de PFP (11.04 %) se reportó en el limón persa acondicionado durante 48 horas sin recubrimiento ($\alpha \leq 0.05$). A partir de estos resultados, es evidente que las ceras evaluadas en los limones recolectados durante el mes de marzo del 2000 contribuyeron a una disminución de la PFP a lo largo del almacenamiento. A pesar de que los frutos acondicionados durante 48 horas a 13° C sin recubrimiento, presentaron el mayor porcentaje de PFP, el estrés por frío inducido por el tratamiento de los frutos sin encerar a 13° C durante un lapso de 72 horas, propició un efecto similar al de los frutos recubiertos con cera de la región. Los resultados descritos anteriormente sugieren la efectividad de las ceras en la reducción de la PFP, sin embargo el recubrimiento con CMAM y cera de la región causa una reducción mínima del porcentaje de PFP en el limón persa en comparación con el tratamiento de los limones

aconicionados por hidrocalentamiento y calor seco, almacenados a la misma temperatura (8° C). Existen otros factores que influyen en la efectividad del encerado tales como la época de recolección, zona de cultivo, factores precosecha y condiciones climatológicas principalmente (3,14,32,33, 37, 82, 87, 101, 107).

e) Relación entre parámetros fisiológicos

Al igual que lo señalado en el barrido de tiempo y temperatura, se apreció en esta etapa que la PFP y el DPF no siempre están correlacionados directamente. Los limones sin encerar acondicionados a 13° C durante 48 horas manifestaron una PFP de 11.04%, mayor que la de los frutos mantenidos a la misma temperatura durante 72 horas cuyo valor fue de 9.68%; estos mismos acondicionamientos reportaron valores de 0.31% y 0.73% de DPF respectivamente. A partir de este comportamiento, cabe la posibilidad de que el mayor porcentaje de PFP del tratamiento de 13° C - 48 horas haya conferido tolerancia al desarrollo de DPF, manifestándose tolerancia cruzada entre el estrés hídrico y el estrés causado por la refrigeración. Este hecho se fundamenta en reportes, donde la pérdida de agua aumenta el contenido de ácido abscísico, el cual directamente induce resistencia a las lesiones por las bajas temperaturas (87).

Parámetros de calidad

a) Color

El acondicionamiento a bajas temperaturas no deterioró el aspecto de los frutos de limón persa. Los cítricos conservaron el color que poseían antes de la aplicación del tratamiento. A los 6 días de almacenamiento los limones sin recubrimiento acondicionados durante 48 y 72 horas a 13° C, presentaron un ligero desverdecimiento (h° 125.92); mientras que los frutos recubiertos con cera CMAM y cera de la región de Mtz. De la Torre, Ver. conservaron el color inicial. Los frutos acondicionados a 13° C por un tiempo de 48 y 72 horas presentaron cambios de color que no repercutieron en la calidad del fruto, mostrando una coloración verde con trazas amarillas (h° 121.20) al final del periodo de almacenamiento. En la figura 19 se aprecia que los diversos tratamientos causaron efectos similares ($\alpha \leq 0.05$) en la coloración del flavedo, lo cual sugiere que

el encerado no influye en la conservación del color de los frutos. De acuerdo a los resultados, se aprecia que la temperatura de acondicionamiento es el factor determinante en la disminución del cambio de color en los limones. Este hecho concuerda con lo reportado en la literatura, donde el estrés por frío confiere protección contra la pérdida de la clorofila (29).

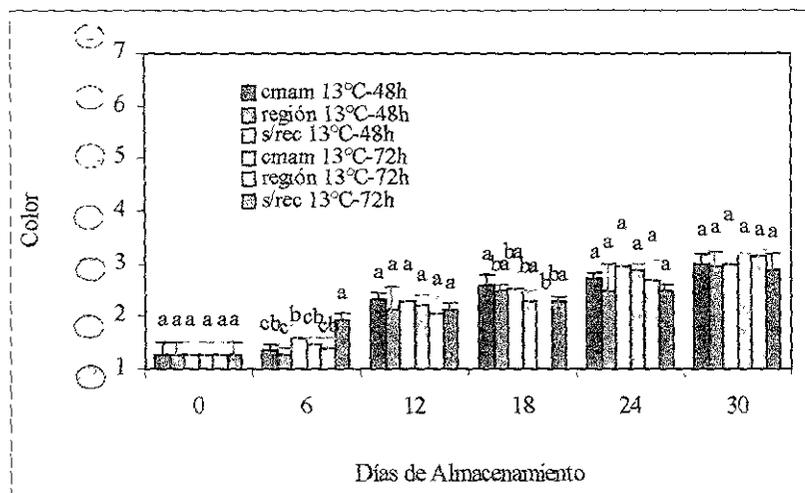


Figura 19. Efecto del acondicionamiento a bajas temperaturas y recubrimiento con CMAM y cera de la región en el cambio de color del limón persa almacenado a 8° C. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$). Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan.

El acondicionamiento a 13° C durante 48 y 72 horas no deterioró el tejido de los frutos como ocurrió con el tratamiento a altas temperaturas. Los frutos acondicionados a bajas temperaturas se desverdecieron ligeramente, resultado de un retraso en la senescencia; mientras que los frutos sometidos a estrés por calor alcanzaron un estado senescente avanzado.

b) Porcentaje de jugo

La aplicación de las ceras CMAM y de la región de Martínez de la Torre no tuvo un efecto consistente en el porcentaje de jugo al concluir el periodo de almacenamiento a 8° C. El acondicionamiento a 13° C por 48 y 72 horas tampoco provocó un comportamiento definido del contenido de jugo durante el periodo de refrigeración (Tabla 19).

c) Grados Brix

Los valores obtenidos de grados Brix, no presentaron diferencias significativas entre los diversos tratamientos aplicados (Tabla 19). No es posible establecer una relación entre estos resultados y

los obtenidos en el DPF, ya que se esperaría que los frutos que presentaron el mayor porcentaje de DPF (13° C - 72 horas sin recubrimiento) manifestaran una tendencia descendente en los grados Brix, durante el periodo de almacenamiento. Tal especulación se fundamenta en diversos estudios, donde se ha manifestado que los azúcares solubles confieren tolerancia al estrés y protegen las membranas celulares de temperaturas extremas, por medio de la estabilización de las proteínas (3).

d) Acidez titulable

No se observó una tendencia clara en los resultados de porcentaje de acidez de los limones encerados y acondicionados a bajas temperaturas, que permitiera establecer diferencias en el efecto de los tratamientos sobre los frutos (Tabla 19).

Tabla 19. Influencia del acondicionamiento a bajas temperaturas y recubrimiento con CMAM y cera de la región en los parámetros de calidad del limón persa almacenado a 8° C

Recubrimiento	Días de Almacenamiento		
	0	18	30
PORCENTAJE DE JUGO			
CMAM 13° C-48 h	52.67 a	42.24 ba	43.77 c
CMAM 13° C-72 h	52.67 a	45.47 a	41.22 c
C.Región 13° C-48 h	52.67 a	38.37 ba	44.96 c
C.Región 13° C-72 h	52.67 a	44.44 ba	52.49 ba
s/recubrimiento13°C-48 h	52.67 a	38.37 ba	52.80 a
s/recubrimiento13°C-72 h	52.67 a	45.54 a	46.99 bc
GRADOS BRUX			
CMAM 13° C-48 h	7.8 a	8.2 a	8.2 a
CMAM 13° C-72 h	7.8 a	8.1 a	7.9 a
C.Región 13° C-48 h	7.8 a	7.9 a	7.9 a
C.Región 13° C-72 h	7.8 a	8.0 a	8.2 a
s/recubrimiento13°C-48 h	7.8 a	8.0 a	7.8 a
s/recubrimiento13°C-72 h	7.8 a	8.1 a	8.0 a
PORCENTAJE DE ÁCIDO CÍTRICO			
CMAM 13° C-48 h	6.03 a	6.28 ba	6.42 ba
CMAM 13° C-72 h	6.03 a	6.11 ba	5.74 b
C.Región 13° C-48 h	6.03 a	5.86 ba	6.25 ba
C.Región 13° C-72 h	6.03 a	6.57 a	6.65 a
s/recubrimiento13°C-48 h	6.03 a	6.11 ba	6.01 ba
s/recubrimiento13°C-72 h	6.03 a	6.15 ba	6.28 ba

Los resultados presentados son un promedio de las tres réplicas. Prueba estadística de ANOVA ($\alpha \leq 0.05$). Letras iguales indican que no hay diferencia significativa aplicando la prueba de intervalos múltiples de Duncan.

8. CONCLUSIONES

- ❖ El hidrocalentamiento (53° C – 3 minutos) y el acondicionamiento con calor seco (38° C – 3 días) provocaron alteraciones fisiológicas de “oleocelosis” y “rompimiento estilar” y senescencia prematura durante el almacenamiento, causando cambios abruptos en el color de los frutos de limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) de la región de Martínez de la Torre, Ver., recolectados durante la época de lluvias.
- ❖ Los acondicionamientos a altas temperaturas por hidrocalentamiento (53° C – 3 minutos) y calor seco (38° C – 3 días) aumentaron la susceptibilidad del limón persa al desarrollo de daño por frío, por lo que se concluye que la aplicación de estrés severo por calor no prolonga el periodo de vida útil de este cítrico. Por el contrario, promueve una senescencia prematura en los frutos, acentuando la sensibilidad al daño por frío. El elevado índice de daño por frío desencadenado por el estrés con calor en el limón persa, coincide con el deterioro fisiológico ocasionado por el tratamiento térmico.
- ❖ La vida de anaquel pronosticada para frutos de limón en general, a una temperatura de 10° C oscila entre 12 y 20 semanas, por lo que se concluye que el acondicionamiento a altas temperaturas no es una alternativa que sustituya al almacenamiento sin tratamiento alguno.
- ❖ El estrés por calor durante cortos periodos de tiempo (30 - 35° C durante 24 horas) en el limón persa recolectado en el mes de diciembre de 1999 de la misma zona, resultó benéfico en la disminución del daño por frío; mientras que intervalos de tiempo mayores (30- 35 ° C durante 48 y 72 horas) favorecieron el desarrollo de lesiones por frío. La eficacia del acondicionamiento a altas temperaturas en la reducción de los síntomas de daño por frío, radica en la relación de tiempo y temperatura, en que el tratamiento induce tolerancia al desarrollo de daño por frío y genera alteraciones fisiológicas en el fruto.
- ❖ En el barrido de temperatura a diferentes tiempos, se comprobó que una temperatura mayor y un tiempo prolongado de acondicionamiento incrementaron la transpiración de los frutos. La

menor pérdida fisiológica de peso en el limón persa se obtuvo con la aplicación de un tratamiento a 13° C durante 24 horas.

- ❖ El tratamiento a bajas temperaturas (13° C durante 48 y 72 horas) no deterioró la calidad del limón persa, retrasando significativamente su desverdecimiento. Por el contrario, el encerado de los frutos no tuvo efecto sobre la conservación del color.
- ❖ El estrés por frío indujo tolerancia al desarrollo de lesiones ocasionadas durante el almacenamiento refrigerado en comparación con el acondicionamiento a altas temperaturas. El tratamiento a bajas temperaturas prolonga por un mayor tiempo la vida útil de los frutos, significando una alternativa para la conservación en fresco del limón persa.
- ❖ La aplicación de las ceras CMAM y de la región y/o el acondicionamiento a bajas temperaturas disminuyeron la expresión de los síntomas de daño por frío durante el almacenamiento refrigerado en el limón persa, registrándose un porcentaje de daño por frío menor al 1%.
- ❖ El tratamiento a 13° C durante 48 horas resulta óptimo en la conservación de la calidad del limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka).
- ❖ Se concluye que no existe un efecto sinérgico en la reducción del daño por frío entre el recubrimiento con las ceras y el acondicionamiento a 13° C durante 48 y 72 horas.
- ❖ El recubrimiento con cera de candelilla-mezquite-aceite mineral (CMAM) y la cera aplicada en Martínez de la Torre causa una reducción mínima del porcentaje de la pérdida fisiológica de peso en el limón persa en comparación con el acondicionamiento a altas temperaturas.
- ❖ La severidad del daño por frío es influida por factores como la humedad relativa, la cual debe ser estrictamente controlada durante el almacenamiento de los limones. Valores de humedad bajos causan desecación de la piel, haciendo más severas las depresiones o picaduras en los frutos.

- ❖ En el acondicionamiento a bajas temperaturas se concluye que no siempre existe una relación sinérgica entre la pérdida fisiológica de peso y el daño por frío, incluso en algunos casos la pérdida fisiológica de peso pudo haber conferido resistencia al daño por frío en el limón persa.
- ❖ Los análisis fisicoquímicos (porcentaje de jugo, °Brix, acidez titulable y pH) no guardaron una relación directa con el daño por frío manifestado en el limón persa acondicionado a altas y bajas temperaturas.
- ❖ Se recomienda realizar un barrido de humedad relativa, con el objetivo de evaluar el efecto de la transpiración sobre el daño por frío, dado que la pérdida de agua de los frutos ha sido considerado un factor contribuyente del desarrollo de daño por frío. Adicionalmente, sería conveniente realizar estudios de daño por frío durante todo el año para evaluar la respuesta del limón persa ante las diferentes condiciones ambientales, debido a que la susceptibilidad a esta alteración varía en los productos dependiendo de los factores pre y postcosecha.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. 1998-1999. Centro de Estadística Agropecuaria. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
2. A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., EE.UU.
3. Aung, L. H., Obenland, D. M. y Houck, L. G. 1998. Conditioning and Heat Treatments Influence Flavedo Soluble Sugars of Lemon. *J. Hort. Sci. Biotech.* 73(3):399-402.
4. Banco Nacional de Comercio Exterior, S.N.C. Exportaciones e Importaciones Definitivas de México. Mayo 2000.
5. Bohnert, H. J. y Sheveleva. 1998. Plant Stress Adaptations-Making Metabolism Move. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1:269-273.
6. Bosquez, M, E., Vernon C, J., Pérez F, L. y Guerrero L, I. 2000. Películas y Cubiertas Comestibles para la Conservación en Fresco de Frutas y Hortalizas. *Ind. Aliment.* 22(1):14-18,20,21,23-29,32-35.
7. Burke, J. J., Hatfield, J. L., Klein, R. R., y Mullet, J. F. 1985. Accumulation of Heat Shock Proteins in Field Grown Cotton. *Plant Physiol.* 78:394-398.
8. Casas, A. 1983. Alteraciones Fisiológicas en la Corteza de los Frutos Cítricos Ocasionadas por el Frío, en el Almacenamiento y en el Transporte Refrigerados. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 23(3):321-336.
9. Close, T.J. 1997. Dehydrins: A Commonalty in The Response of Plants to Dehydration and Low Temperature. *Physiol. Plant.* 100:291-296.

10. Cohen, E., Shapiro, B., Shalom Y. y Klein, J.D. 1994. Water Loss: A Nondestructive Indicator of Enhanced Cell Membrane Permeability of Chilling - Injured Citrus Fruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 119(5):983-986.
11. Consejo Veracruzano del Limón Persa (COVERLIMON). Sistema de Información Agropecuaria, Forestal y del Estado de Veracruz. URL. <http://www.sedapver.gob.mx/limon.htm>
12. Couey, H. Melvin. 1989. Heat Treatment for Control of Postharvest Diseases and Insect Pests of Fruits. Feature. HortScience. 24(2):198-202.
13. Chalutz, E., Waks, J. y Schiffmann-Nadel Mina. 1985. Reducing Susceptibility of Grapefruit to Chilling Injury during Cold Treatment. HortScience. 20(2):226-228.
14. Chávez S, C., Bosquez M, E., Madrid R, R., Pelayo Z, Clara., Pérez F, L. y Ponce de León G. L. 1993. Effect of Harvesting Season and Postharvest Treatments on Storage Life of Mexican Limes (*Citrus aurantifolia* Swingle). J. Food Qual. 16:339-354.
15. D'Aquino, S., Piga, A. y Agabbio, M. 1997. Effect of High Temperature Conditioning, Fungicide Treatment and Film Wrapping on the Keeping Quality of Nova tangelo during Cold Storage. Pack. Tech. Sci. 10(6): 295-309.
16. Desrosier, N. 1970. "The Technology of Food Preservation". p. 60. The Avi Publishing Company., Inc. EE.UU.
17. Dirección General de Desarrollo de Mercados. Empresas Demandantes de Limón. Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. URL. <http://www.infoaserca.gob.mx/proafex/LIMON.htm>

18. Droby, S., Porat, R., Cohen, L., Weiss, B. y Shapiro, B. Philosoph Hadas, S., Meir, S. 1999. Suppressing Green Mold Decay in Grapefruit with Postharvest Jasmonate Application. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124 (2): 184-188.

19. E.Merck. 1982. Manual de medios de cultivo merck.

20. FAO Production 1998-1999. Food And Agriculture Organization of The United Nations. URL.<http://www.fao.org/lim500/nph-wrap.pl?Production.Crops.Primary&Domain=SUA&Language=espa%F1ol>

21. FASonline. World Fresh Citrus Situation. Agosto 2000. Horticultural & Tropical Products Division. URL. <http://www.fas.usda.gov/htp/circular/2000/00-08/ctrs2.htm>

22. Flores, D. y Guzmán, L. 1999. México: Overall Citrus Production Down for MY 1999/2000. Foreign Agricultural Service GAIN Report. USDA. URL. <http://www.fas.gov/gainfiles/200012/60679004.pdf>

23. Foyer, C. H., López-Delgado, H., Dat, J. F. y Scott, I. M. 1997. Hydrogen Peroxide and Glutathione Associated Mechanisms of Acclimatory Stress Tolerance and Signaling. *Physiol Plant.* 100:241-254.

24. Gómez, C. M., Schwentsius, R. R. y Barrera, G. A. 1994. El Limón Persa en México. Una opción para el Trópico. Universidad Autónoma de Chapingo. Colección estructura y dinámica de los sistemas industriales. p. 18, 22, 24, 37, 38, 40, 88, 91.SARH.

25. Gómez C. M., Schwentsius, R. R. y Barrera, G. A. 1994. La Competitividad de la Producción de Limón Persa de México frente a la de Florida, E.E.U.U. Universidad Autónoma de Chapingo. Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial (CIESTAAM). p. 59.

26. González Aguilar, G. A., Zacarías, L. y Lafuente, M. T. 1998. Ripening Affects High Temperature Induced Polyamines and Their Changes During Cold Storage of Hybrid Fortune Mandarins. *J. Agr. Food Chem.* 46(9): 3503-3508.
27. González Aguilar, G. A., Zacarías, L., Mulas, M. y Lafuente, M. T. 1997. Temperature and Duration of Water Dips Influence Chilling Injury, Decay and Polyamine Content in Fortune Mandarins. *Postharvest Biol. Tech.* 12(1): 61-69.
28. Gormley, T. R. 1990. Chilled Foods. The State of the Art. Capítulo 3: Physiological Disorders in Citrus Fruit Peel Produced by Cold Storage and Refrigerated Transport. Elsevier Applied Science Publishers LTD, Luxemburgo.
29. Graham, D. y Patterson, B. 1982. Responses of Plants to Low, Nonfreezing Temperatures: Proteins, Metabolism and Acclimation. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 33:347-72.
30. Grierson, W. y Wardowski, W. F. 1978. Relative Humidity Effects on the Postharvest Life on Fruits and Vegetables. *HortScience.* 13(5):570-574.
31. Hagenmaier, R. D. y Baker R. A. 1996. Edible Coatings from Candelilla Wax Microemulsions. *J. Food Sci.* 61(3):562-565.
32. Hatton, T. T., y Cubbedge, R. H. 1982. Conditioning Florida Grapefruit to Reduce Chilling Injury During Low-Temperature Storage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 107(1):57-60.
33. Hatton, T. T. y Cubbedge, R. H. 1983. Preferred Temperature for Prestorage Conditioning of Marsh Grapefruit to Prevent Chilling Injury at Low Temperatures. *HortScience.* 18(5):721-722.
34. Hyde, J., Jurch, G., Baldwin, E. y Echeverría, E. 1999. Low Temperature Induction of Acid Invertase Activity in Flavedo Tissue of Late Season Grapefruit (*Citrus paradisi*). *Scientia Horticulturae.* 80 (1/2): 49-56.

35. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 1996. Manual de Producción de Limón Persa. Folleto Técnico Núm 14. División Agrícola. Centro de Investigaciones Regional Golfo Centro Campo experimental Ixtacuaco. Martínez de la Torre, Ver. México. p 85-86.
36. Kader, A. A. y Arpaia Mary Lu. 1992. Postharvest Technology of Horticultural Crops. Capítulo 3: Postharvest Biology and Technology: An Overview. 2a edición. Edition Technical Editor. Division of Agriculture and Natural Resources Publication 3311. California. EE.UU.
37. Kader, A. A. y Arpaia Mary Lu. 1992. Postharvest Technology of Horticultural Crops. Capítulo 26: Postharvest Handling Systems: Subtropical Fruits. 2a edición. Technical Editor. Division of Agriculture and Natural Resources Publication 3311. California. EE.UU.
38. Kamps, T. L., Isleib, T. G., Herner, R. C. y Sink, K.C. 1987. Evaluation of Techniques to Measure Chilling Injury in Tomato. HortScience. 22(6):1309-1312.
39. Klein, J. D. y Lurie, S. 1991. Postharvest News Inf. 2(1):15-19.
40. Lafuente, M. T., Belver, A., Guye, M. G. y Saltveit, M. E. 1991. Effect of Temperature Conditioning on Chilling Injury of Cucumber Cotyledons. Plant Physiol. 95:443-449.
41. Lichtenthaler, H. K. 1996. An Introduction to the Stress Concept in Plants. J. Plant. Physiol. 148:4-14.
42. Lloyd, A. 1974. Handling, Transportation and Storage of Fruits and Vegetables". p. 19-36. The Avi Publishing Company., Inc. E.E.U.U.
43. Luna-Guzmán, I., Cantwell M. y Barrett D. M. 1999. Fresh-Cut Cantaloupe: Effects of CaCl₂ Dips and Heat Treatments of Firmness and Metabolic Activity. Postharvest Biol. Tech. 17:201-213.

44. Lurie, S. y Klein, J.D. 1991. Acquisition of Low-Temperature Tolerance in Tomatoes by Exposure to High-Temperature Stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116:1007-1012.
45. Lurie, S. 1998. Postharvest Heat Treatments. *Postharvest Biol. Tech.* 14(3): 257-269.
46. Markhart III, A. H. 1986. Chilling Injury: A Review of Possible Causes. *HortScience.* 21(6):1329-1333.
47. Martínez Tellez, M. A., Lafuente, M. T. 1993. Chilling Induced Changes in Phenylalanine Ammonia Lyase, Peroxidase, and Polyphenol Oxidase Activities in Citrus Flavedo Tissue. *Acta Horticulturae.* No. 343: 257-263.
48. Martínez Tellez, M. A., Lafuente, M. T. 1997. Effect of High Temperature Conditioning on Ethylene, Phenylalanine Ammonia Lyase, Peroxidase and Polyphenol Oxidase Activities in Flavedo of Chilled Fortune Mandarin Fruit. *Journal of Plant Physiology.* 150(6): 674-678.
49. McCollum, T. G., D'Alquino, S. y McDonald, R. E. 1993. Heat Treatment Inhibits Mango Chilling Injury. *HortScience.* 28(3)-.197-198.
50. McCollum, T. G., y McDonald R. E. 1991. Electrolyte Leakage, Respiration, and Ethylene Production as Indices of Chilling Injury in Grapefruit. *HortScience.* 26(9):1191-1192.
51. Mc Collum, T. G. y Mc Donald, R. E. 1993. Tolerance of Cucumber Fruit to Immersion in Heated Water and Subsequent Effects on Chilling Tolerance. *Acta Horticulturae.* 343: 233-237.
52. McDonald, R. E. 1986. Effects of Vegetable Oils, CO₂, and Film Wrapping on Chilling Injury and Decay of Lemons. *HortScience.* 21(3):476-477.
53. McDonald, R. E. 1989. Temperature-Conditioning Affects Polyamines of Lemon Fruits Stored at Chilling Temperatures. *HortScience.* 24(3):475-477.

54. McDonald, R. E., Hatton, T. T. y Cubbedge, R. H. 1985. Chilling Injury and Decay of Lemons as Affected by Ethylene, Low Temperature, and Optimal Storage. *HortScience*. 20(1):92-93.
55. McDonald, R. E., McCollum, T. G. y Nordby, H. E. 1993. Temperature Conditioning Affect Expression of Chilling Injury and Gas Diffusion. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118(4):490-496.
56. McDonald, R. E., Miller, W. R., McCollum, T. G., Eldon Brown, G. 1991. Thiabendazole and Imizalil Applied at 53° C Reduce Chilling Injury and Decay of Grapefruit. *HortScience*. 26(4): 397-399.
57. McDonald R. E., Nordby Harold E., and McCollum T. G. 1993. Epicuticular wax Morphology and Composition are Related to Grapefruit Chilling Injury. *HortScience* 28(4):311-312.
58. McGuire, R. G. 1991. Market Quality of Grapefruit after Heat Quarantine Treatments. *HortScience*. 26(11): 1393-1395.
59. McGuire R. G. 1992. Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience* 27(12):1254-1255.
60. Meir Shimon, Philosoph - Hadas Sonia, Lurie Susan , Droby Samir, Akerman Miriam, Zawberman Giora, Shapiro Boris, Cohen Eliahou and Fuchs Yoram. 1996. Reduction of Chilling Injury in Stored Avocado, Grapefruit, and Bell pepper by Methyl jasmonate. *Can. J. Bot.* 74(6):870-874.
61. Mercer, M. D., Smittle, D. A. 1992. Storage Atmospheres Influence Chilling Injury and Chilling Injury Induced Changes in Cell Wall Polysaccharides of Cucumber. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117 (6):930-933.

62. Miller, W. R., Chun, D., Risse, L. A., Hatton, T. T., Hinsch, R. T. 1990. Conditioning of Florida Grapefruit to Reduce Peel Stress During Low Temperature Storage. *HortScience*. 25(2): 209-211.
63. Miller W. R., and Risse L. A. 1986. Film Wrapping to Alleviate Chilling Injury of Bell Peppers during Cold Storage. *HortScience*, 21 (3):467-468.
64. Mitchell, D. E., Madore, M. A. 1992. Patterns Assimilate Production and Translocation in Muskmelon (*Cucumis melo* L.) II. Low Temperature Effects. *American Society of Plant Physiologists*. July.v.9 (3): 966-971.
65. Mohammed, A., Sankat, C. K. 1995. Intermittent Warming and Cooling Cycles in Alleviating Chilling Injury of the Julie Mango (*Mangifera indica*). *ASAE-Publication*, 1-95: 575-581.
66. *Negocios Internacionales* 96. Marzo 2000. Nichos de Mercado en Estados Unidos. p. 4,5.
67. Nishijima, K. A., Chan, H. T Jr., Sanxter, S. S., Linse, E. S. 1995. Reduced Heat Shock Period of Sharwil Avocado for Cold Tolerance in Quarantine Cold Treatment. *HortScience*. 30(5): 1052-1053.
68. Noctor, G. and Foyer, C. H. 1998. Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:249-279.
69. Nordby, H. E., McDonald, R. E. 1994. Friedelin, The Major Component of Grapefruit Epicuticular Wax. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42(3): 708-713.
70. Nordby, H. E., McDonald, R. E. 1990. Method for Protecting Citrus Fruit from Chilling Injury, and Fruit Protected Thereby. United States Patent. US 292832.
71. Nordby, H. E., McDonald, R. E. 1990. Squalene in Grapefruit Wax as a Possible Natural Protectant Against Chilling Injury. *Lipids*. 25(12): 807-810.

72. Norma de los Estados Unidos de Norteamérica para Grados de Limón. 46 FR 63203, Diciembre 31, 1981.
73. Norma Oficial Mexicana. Productos Alimenticios No Industrializados Para Consumo Humano -Fruta Fresca - Limón Persa (*Citrus latifolia* L.) - Especificaciones. NMX-FF-077-1996-SCFI. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Dirección General de Normas.
74. Nover, L. and K. D. Scahrf. 1984. Synthesis, Modification and Structural Binding of Heat-Shock Proteins in Tomato Cell Culture. *Eur. J. Biochem.* 139:303-313.
75. Nussinovitch, A. and S. Lurie. 1995. Edible Coatings for Fruits and Vegetables. *Postharvest News and Information.* 6: 53N-57N.
76. Obenland, D. M., Margosan, D. A., Houck, L. G., Aung, L. H. 1997. Essential Oils and Chilling Injury in Lemon. *HortScience.* 32(1): 108-111.
77. Parkin, K. L., Kuo, S. J. 1989. Chilling Induced Lipid Degradation in Cucumber. *Plant Physiol.* 90 (3):1049-1056.
78. Picha, David H. 1986. Postharvest Fruit Conditioning Reduces Chilling Injury in Watermelons. *HortScience.* 21(6):1407-1409.
79. Porat, R., Weiss, B., Cohen, L., Daus, A., Goren, R., Droby, S. 1999. Effects of Ethylene and 1-methylcyclopropene on the Postharvest Qualities of Shamouti Oranges. *Postharvest Biol. Tech.* 15(2): 155-163.
80. Predebon, S., Edwards, M. 1992. Curing to Prevent Chilling Injury During Cold Disinfestations and to Improve the External and Internal Quality of Lemons. *Aust.J.Exp.Agric.* East Melbourne: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. v.32(2): 233-236.

81. Purvis, A. C. 1994. Interaction of Waxes and Temperature in Retarding Moisture Loss from and Chilling Injury of Cucumber Fruit during Storage. Proceedings of the Florida State Horticultural Society. p. 107,257-260.
82. Purvis, A. C. 1985. Relationship between Chilling Injury of Grapefruit and Moisture Loss during Storage: Amelioration by Polyethylene Shrink Film. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110(3):385-388.
83. Rab, Abdur and Salveit, Mikal E. 1996. Sensitivity of Seedling Radicles to Chilling and Heat Shock-induced Chilling Tolerance. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121(4):711-715.
84. Risse, L. A., Brecht, J. K., Sargent, S. A., Locasio, S. J., Crall, J. M., Elmstrom, G. W., Maynard, D. N. 1990. Storage Characteristics of Small Watermelon Cultivars. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(3): 440-443.
85. Sabehat, A., Weiss, D. and Lurie, S. 1998. Heat Shock Proteins and Cross Tolerance in Plants. Plant Physiol. Plantarum. 103:437-441.
86. Sabehat, A., Weiss, D. and Lurie, S. 1996. The Correlation between Heat Shock Protein Accumulation and Persistence and Chilling Tolerance in Tomato Fruit. Plant Physiol. 110:536-541.
87. Salveit, Mikal, E. Jr. 1991. Prior Temperature Exposure Affects Subsequent Chilling Sensitivity. Physiol. Plantarum 82:529-536.
88. SAS Institute. 1989. SAS User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary.N.C.
89. Saucedo Veloz, C., Mena Nevarez, G., Chavez Franco, SH. 1995. Effect of Hidrotermal for Quarantine Purpose on the Physiology and Quality of Manila Mango. ASAE-Publication, 1-95: 276-281.

90. Schiffmann-Nadel, Mina, Lattar, F. S. and Waks J. 1971. The Response of Grapefruit to Different Storage Temperatures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 96(1):87-90.
91. Schoffl, F., Prandl, R. and Reindl, A. 1998. Regulation of the Heat Shock Response. *Plant Physiol.* 117:1135-1141.
92. Schirra, Mario, Mulas, Maurizio. 1995. "Fortune Mandarin Quality Following Prestorage Water Dips and Intermittent Warming during Cold Storage. *HortScience* 30(3):560-561.
93. Schirra, M., D'hallewin, G. 1997. Storage Performance of Fortune Mandarins Following Hot Water Dips. *Postharvest Biol. Tech.* 10:229-238.
94. Schirra, M., D'hallewin, G., Cabras, P., Angioni, A., Garau, VL. 1998. Seasonal Susceptibility of Tarocco Oranges to Chilling Injury as Affected by Hot Water and Thiabendazole Postharvest Dip Treatments. *J. Agric. Food Chem.* 46(3): 1177-1180.
95. Serrano, M., Martínez-Madrid, M. C., Pretel, M. T., Riquelme, F., Romojaro, F. 1997. Modified Atmosphere Packaging Minimizes Increases in Putrescine y Abscisic Acid Levels Caused by Chilling Injury in Pepper Fruit. *J. Agric. Food Chem.* 45 (5): 1668-1672.
96. Sinclair Walton B. 1984. The Biochemistry and Physiology of The Lemon and other Citrus Fruits. Ed. Univ. Calif. Div. Agriculture and Natural Resources. U.S.A. p.509,511.
97. Singh Zora and Singh Lakhvir. 1995. Increased Fruit Set and Retention in Mango with Exogenous Application of Polyamines. *J. Hort. Sci.* 70(2):271-277.
98. Taylor, Tucker. 1993. Biochemistry of Fruit Ripening. Citrus Fruit. Cap 4. p 107-135. Citrus Fruit. Baldwin, E. A. Chapman and Hall, Cambridge, G.B.
99. Valero, D., Martínez, D., Riquelme, F., Serrano, M. 1998. Polyamine Response to External Mechanical Bruising in Two Mandarin Cultivars. *HortScience.* 33(7): 1220-1223.

100. Vierling Elizabeth. 1991. The Roles of Heat Shock Proteins in Plants. *Annu. Rev. Plant Physiology Plant Mol. Bio.* 42:579-620.
101. Wang C. Y. 1993. Approaches to Reduce Chilling Injury of Fruits and Vegetables. *Horticultural Rev.* 15:63-95.
102. Wang C. Y. 1994. Chilling Injury of Tropical Horticultural Commodities. *HortScience.* 29(9):986-988.
103. Wang C. Y. 1994. Combined Treatment of Heat Shock and Low Temperature Conditioning Reduces Chilling Injury in Zucchini Squash. *Postharvest Biol. Tech.* 4(1/2): 65-73, 25.
104. Wang C. Y. and Buta, J. G. 1994. Methyl Jasmonate Reduces Chilling Injury in Cucurbita pepo Through its Regulation of Abscisic Acid and Polyamine Levels. *Environmental and Experimental Botany.* 34(4): 427-432.
105. Wardowski F., W. 1986. *Fresh Citrus Fruits.* p. 370,486. The Avi Publishing Company., Inc. United States of America.
106. Wild, B. L. 1990. Hot Dip Treatments Reduce Chilling Injury during Storage of Citrus Fruit at 1 degree. *CSIRO-Food Research Quarterly.* 50(2):36-40.
107. Wild B. L. and Hood C. W. 1989. Hot Dips Treatments Reduce Chilling Injury in Long-term Storage of Valencia Oranges. *HortScience* 24(1):109-110.
108. Wills, R. H., Lee, T. H, McGlasson, W. B., Hall, E. G., Graham, D. 1984. *Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas Post-Recolección.* p. 1,2,28,37-39,42-47,59-61,63-65,76,77,79,81-86,101,134. Ed. Acribia, España.
109. Woolf., A.B. 1995. Reducing External Chilling Injury in Stored Hass Avocados with Dry Heat Treatments. *J. Amer. Soc.Hort. Sci.* 120(6) :1050-1056.

110. Yuen, Christopher MC, Tridjaja Nyoman O, Wilis Ronald B.H. and Wild Brian L. 1995. Chilling Injury Development of 'Tahitian' Lime, 'Emperor' Mandarin, 'Marsh' Grapefruit and 'Valencia' Orange. *J. Sci. Food Agr.* 67 (3):335-339.