



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FRUTICULTURA

**DAÑOS POR FRÍO Y CALIDAD DE FRUTOS DE POMELO 'RIO RED'
SUJETOS A TEMPERATURAS DE ACONDICIONAMIENTO,
ENCERADO Y METIL JASMONATO**

IVÁN FRANCO GAYTÁN

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2012

La presente tesis titulada “**DAÑOS POR FRÍO Y CALIDAD DE FRUTOS DE POMELO ‘RIO RED’ SUJETOS A TEMPERATURAS DE ACONDICIONAMIENTO, ENCERADO Y METIL JASMONATO**” realizada por el alumno **Iván Franco Gaytán** bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

**RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FRUTICULTURA**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. CRESCENCIANO SAUCEDO VÉLOZ

ASESOR



DR. SERGIO HUMBERTO CHÁVEZ FRANCO

ASESOR



DRA. MARIA TERESA COLINAS LEON

ASESOR



DR. JAVIER SUAREZ ESPINOSA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Noviembre de 2012

Daños por frío y calidad de Frutos de Pomelo ‘Rio Red’ Sujetos a Temperaturas de Acondicionamiento, Encerado y Metil Jasmonato

Iván Franco Gaytán, MC
Colegio de Postgraduados, 2012

Se estudió el efecto del tratamiento de cuarentena (1.5°C/17d) autorizado para el control de mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata Wied*) en pomelo ‘Rio Red’. Sin embargo, al ser un fruto de clima tropical presenta alta sensibilidad a la refrigeración, lo que puede inducir una serie de alteraciones fisiológicas (daños por frío), que reducen significativamente su calidad. Es por esto que se evaluó la eficiencia de algunas tecnologías que promueven resistencia al frío y con esto mantener la calidad del fruto tras ser sometidos a tratamientos con bajas temperaturas con fines de almacenamiento y/o transporte. Las tecnologías evaluadas fueron: Acondicionamiento del fruto a 17° C por 7 días, Encerado (frutos tratados con una cera comercial conteniendo 14% de sólidos) y Frutos con Metil Jasmonato 10⁻³ M en forma disuelta, encerrados en cámara hermética durante 24h. Los frutos sometidos a tratamiento de cuarentena se almacenaron posteriormente a 9 ° C por ocho días para completar un periodo de refrigeración de 21 y 25 días. Los resultados mostraron en general la calidad interna (SST, Acidez Titulable e Índice de Madurez) de los frutos no resultó afectada por el tratamiento cuarentenario, con excepción del contenido de Vitamina C que disminuyó hasta en un 50% en todos los tratamientos. El Encerado y la aplicación de Metil Jasmonato fueron los tratamientos que mayor resistencia al frío le aportaron a los frutos, disminuyendo el IDF en un 30 y 40% con un grado de severidad ligero, además de que no presentaron cambios significativos en las variables fisiológicas, biofísicas y bioquímicas. El Acondicionamiento aumento la pérdida de peso y textura en los frutos, lo que generó una disminución de la calidad externa. Los resultados permiten afirmar que la aplicación de tecnologías para mitigar los daños por frío, previas al tratamiento de cuarentena en tránsito con vistas de exportación de pomelo ‘Rio Red’, pueden ser consideradas como factibles con fines de comercialización.

Palabras Clave: Daños por Frío, Pomelo, Tecnologías Postcosecha

Chilling Injury and fruit quality of Grapefruit 'Rio Red' Subject to Temperature Conditioning, Waxing and Methyl Jasmonate

Iván Franco Gaytán, MC

Colegio de Postgraduados, 2012

The effect of applying quarantine treatment (1.5 ° C/17d) approved for control of Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata* Wied) in grapefruit 'Rio Red' was studied. Because grapefruit is a tropical fruit, it has high sensitivity to refrigeration, which can generate a series of physiological responses (chilling injury), that decrease significantly their quality. That is why we evaluated the efficiency of certain technologies that mitigate chilling injury and preserve fruit quality after being subjected to low temperature treatments for their storage or transportation. The technologies were evaluated: Fruit conditioning at 17 ° C for 7 days, surface coatings based on wax (fruits treated with a commercial wax containing 14% solids) and chemical treatments with 10-3 M Methyl Jasmonate in dissolved form, enclosed in hermetic chamber for 24h. The fruits subjected to quarantine treatment were stored at 9 ° C for eight to complete a cooling period of 21 and 25 days. The results show that in general fruit internal quality (TSS, Titratable Acidity and maturation index) was not affected by the quarantine treatment, except in Vitamin C which decreased as much as 50% in all treatments. The Waxing and application of Methyl Jasmonate treatments were the best, reducing the CCI in 30 and 40% with a degree of severity slight. Fruits that received these treatments did not show significant changes in the physiological, biophysical and biochemical properties. The conditioning increased weight loss and texture in fruits, which generated a decrease in external quality. The results confirm that the application of technologies to mitigate chilling injury pretreatment transit quarantine to export grapefruit 'Rio Red' can be considered feasible for marketing purposes.

Key Words: Chilling Injury, Grapefruit, Postharvest Technologies

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por el apoyo económico para terminar la maestría y lograr cumplir un objetivo más en mi desarrollo académico.

Al **Colegio de Posgraduados** por brindarme las facilidades de desarrollarme académicamente en sus instalaciones y por darme la oportunidad de conocer aprender de los profesores durante estos dos años.

Al **Dr. Crescenciano Saucedo Veloz** por creer en mí para la realización de la investigación, por su profesionalismo y su apoyo incondicional durante todo momento en mi desarrollo académico

A la **Dra. María Teresa Colinas León** por su apoyo brindado para la realización de la tesis, pero sobre todo por las aportaciones y sugerencias hechas en la misma.

Al **Dr. Sergio Humberto Chávez Franco** por sus consejos y aportaciones durante la fase experimental de la investigación así como durante el desarrollo de la tesis.

Al **Dr. Javier Suarez Espinosa** por sus aportaciones y sugerencias durante el análisis estadístico de este trabajo.

A **Ma. Del Rocío Cuellar Valdés** por todo su apoyo para realizar los trámites de este trabajo, sus consejos, pero sobre todo por su amistad.

Al Sr. **Arturo López Veloz** por su apoyo y consejos durante la fase del laboratorio de la tesis.

A **Ma. Elena Hernández Pérez y Nallely Sarahi Velazquez Malacara** por su apoyo durante la fase experimental, pero sobre todo por su compañía y amistad que hizo más ameno y agradable el trabajo.

DEDICATORIA

A mi padre **Francisco Franco Ortiz** y mi madre **María Antonia Gaytán Arruel** por sus consejos, apoyo, paciencia, pero sobre todo por enseñarme que todo se puede lograr con esfuerzo y dedicación, cumpliendo un objetivo más en mi vida.

A mis hermanos **Luis, Isis y Aura** que me toleraron en aquellos momentos de desesperación, pero además me animaban a culminar con un logro más en mi vida.

A todas aquellas personas que durante estos dos años tuve el privilegio de conocer me apoyaron, creyeron en mí brindándome una palabra de aliento para terminar la maestría.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
CAPITULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO II	2
2. OBJETIVOS	2
2.1 General:.....	2
2.2 Particulares:.....	2
CAPITULO III	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
3.1 Frutos Cítricos	3
3.2 Maduración y Senescencia del Fruto	5
3.3 Cambios Bioquímicos Durante la Maduración	7
3.4 Calidad.....	8
3.4.1 Calidad Externa	8
3.4.2 Calidad Interna.....	10
3.5 Frigoconservación y Manejo Postcosecha del Fruto	11
3.5.1 Efectos de la Frigoconservación	12
3.5.2 Variables a considerar durante la Frigoconservación.....	13
3.6 Tratamiento Cuarentenario	15
3.7 Daño por frío.....	17
3.7.1 Respuestas Fisiológicas Involucradas al Daño por Frío	20
3.7.2 Tecnologías para la Reducción de Daños por Frío.....	22
CAPITULO IV	27
4. PLAN EXPERIMENTAL	27
4.1 Materiales y Métodos	27
4.1.1 Material Vegetal.....	27
4.1.2 Tratamientos.....	27
4.2 Variables y Metodología	30
4.3 Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	35

CAPITULO V	36
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
5.1 Pérdida De Peso.....	36
5.2 Firmeza.....	38
5.3 Sólidos Solubles Totales	41
5.4 Acidez Titulable	44
5.5 Índice De Madurez.....	47
5.6 Vitamina C.....	49
5.7 Índice De Color.....	52
5.8 Acetaldehído.....	55
5.9 Etanol.....	56
5.10 Daños Por Frío.....	61
5.11 Contenido De Jugo.....	67
CAPITULO VI.....	68
6. CONCLUSIONES	68
CAPITULO VII.....	70
7. LITERATURA CITADA.....	70

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3-1. Parámetros de Conservación para algunos Cítricos.....	15
Cuadro 3-2. Síntomas causados por bajas temperaturas en Cítricos.....	20
Cuadro 4-1. Preparación de las diluciones para la curva estándar de vitamina C.....	33
Cuadro 4-2. Gasto de 2,6- DicloroIndofenol y contenido de vitamina C...	33
CUADRO 5-1. Pérdida de Peso (%) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	36
Cuadro 5-2. Firmeza (N) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	39
Cuadro 5-3. Sólidos Solubles Totales (°Brix) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	42
Cuadro 5-4. Acidez Titulable (% Ácido Cítrico) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	45
Cuadro 5-5. Índice de Madurez (Brix / Acidez Titulable) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	47
Cuadro 5-6. Vitamina C (mg de ácido ascórbico / 100 ml de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	50

Cuadro 5-7. Índice de Color ($IC = (1000 \cdot a) / (L \cdot b)$) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	53
Cuadro 5-8. Acetaldehído ($\square g / 100 \text{ ml}$ de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	55
Cuadro 5-9. Etanol ($mg / 100 \text{ ml}$ de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	56
Cuadro 5-10. Grado de Severidad de Daños por Frío (1 = Frutos que no presentan daños; 2 = Manchado disperso menor al 10% (Daño Ligero); 3= Manchado entre 10 al 20% (Daño Moderado); 4 = Manchado mayor al 20% (Daño Severo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3-1 Sección Transversal de un fruto de Pomelo.....	5
Figura 3-2 Estructura del Ácido Jasmónico.....	25
Figura 4-1. Frutos de Pomelo Durante el Tratamiento Cuarentenario.....	28
Figura 4-2. Frutos de Pomelo Durante el Tratamiento de Acondicionamiento (17° por 7 días).....	28
Figura 4-3. Frutos de Pomelo Encerados.....	29
Figura 4-4. Frutos de Pomelos durante la aplicación de Metil Jasmonato.	29
Figura 4-5. Curva Estándar para Vitamina C.....	34
Figura 5-1. Pérdida de Peso (%) de frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	37
Figura 5-2. Firmeza (N) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	40
Figura 5-3. Sólidos Solubles Totales (°Brix) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	43
Figura 5-4. Acidez Titulable (% Ácido Cítrico) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	46
Figura 5-5. Índice de Madurez (Brix / Acidez Titulable) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	48
Figura 5-6. Vitamina C (mg de ácido ascórbico / 100 ml de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y después de 9 días a Temperatura de Comercialización (9°C)...	51

Figura 5-7. Índice de Color IC= $(1000 \cdot a) / (L \cdot b)$ en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	54
Figura 5-8. Acetaldehído (\square g / 100 ml de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	58
Figura 5-9. Etanol (mg / 100 ml de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	59
Figura 5-10. Grado de Severidad de Daños por Frío (1 = Frutos que no presentan daños; 2 = Manchado disperso menor al 10% (Daño Ligero); 3= Manchado entre 10 al 20% (Daño Moderado); 4 = Manchado mayor al 20% (Daño Severo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	63
Figura 5-11. Índice de Daños por Frío (IDF = No dé frutos con daños por frío / No total de frutos * 100) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).....	64

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

México ha sido un productor relativamente importante de pomelo, con una superficie sembrada para 2009 de 18 530 hectáreas. Siendo Veracruz con el 39.5% el estado con mayor superficie sembrada. Su producción mundial equivale al 9.27% y es el tercer país productor, solo detrás de Estados Unidos y China. El pomelo es exportado por México principalmente a Europa, aunque si bien el volumen de exportación no es significativo en comparación con otros frutales, si lo es su valor unitario por lo que es un fruto rentable. Es importante señalar que uno de los principales factores que han limitado la comercialización de pomelos a otros mercados potenciales, es la aplicación de tecnologías para el control de estados inmaduros de moscas del mediterráneo (*Ceratitis capitata*) que permitan el mantenimiento de la calidad y un tiempo aceptable de comercialización.

Uno de los requisitos para la exportación de pomelo hacia Europa es la aplicación de tratamientos cuarentenarios contra mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*). Las normas de la USDA establecen la aplicación de tratamientos a bajas temperaturas por diversos periodos de tiempo, debido a que cumplen con un grado máximo de seguridad cuarentenaria en plagas de productos Postcosecha (Probit 9). Estas temperaturas y periodos se ubican en: 0°C por 10 días, 0.6°C por 11 días, 1.1°C por 12 días, 1.3°C por 14 días y 1.5°C por 17 días.

Sin embargo, la aplicación de estos tratamientos, favorecen en los frutos, la aparición de respuestas fisiológicas o daños por frío. Estos daños conllevan a una respuesta inicial del tejido o efecto primario que implica la alteración de la composición de los lípidos a nivel membrana, que puede o no presentar una respuesta secundaria y provocar cambios a nivel enzimático (enzimas oxidativas y las relacionadas al oscurecimiento), aumento en la respiración y producción de etileno, aumento de la permeabilidad de las membranas, incrementos en la emisión de volátiles (etanol y acetaldehído) y diversos tipos de manchado tanto a nivel interno como superficial.

Los pomelos como muchos otros frutos son capaces de aclimatarse y responder en mejor medida a las bajas temperaturas, así mismo pueden aplicarse tratamientos físicos y químicos capaces de mitigar el daño por frío.

Por lo que el conocimiento de los mecanismos bioquímicos y fisiológicos que se presentan con los daños por frío, servirán para la correcta aplicación de tecnologías que ayuden a disminuir la presencia de estos daños que demeritan la calidad del fruto.

CAPITULO II

2. OBJETIVOS

2.1 General:

1. Evaluar en la fisiología y calidad de frutos de pomelo 'Rio Red' el tratamiento de cuarentena por bajas temperaturas para el control de estados inmaduros de moscas del mediterráneo y tecnologías para la mitigación de daños por frío.

2.2 Particulares:

- Determinar los efectos de la exposición a la temperatura de tratamiento de cuarentena en la producción de compuestos volátiles.
- Evaluar la incidencia de daños por frío en los frutos expuestos al tratamiento de cuarentena y al periodo de refrigeración establecido.
- Determinar los cambios en la calidad interna y externa de los frutos expuestos al tratamiento de cuarentena y durante la temperatura de comercialización.
- Evaluar los efectos de los diferentes tratamientos en las pérdidas de peso y síntomas de senescencia.

CAPITULO III 3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Frutos Cítricos

El fruto de los cítricos es una baya denominada hesperidio. Surge como consecuencia del crecimiento del ovario y está formado por, aproximadamente, diez unidades carpelares unidas alrededor del eje floral por el que contactan entre sí, formando así lóculos en cuyo interior crecen semillas y los sacos de zumo (Agustí, 2003).

El pericarpio es la parte del fruto exterior a los lóculos y se divide en tres partes: el exocarpo o flavedo, el endocarpo y el mesocarpo o albedo.

El **exocarpo o flavedo**, que es la parte más externa del fruto. Está formada por una epidermis compuesta de células parenquimáticas, de forma tabular y muy estrechamente unidas entre sí, de células estomáticas, células de las glándulas de aceites esenciales y células accesorias. Las células epidérmicas continúan dividiéndose hasta que el fruto madura. Una capa cuticular cubre toda la superficie e incluso se introduce entre los resquicios que puedan dejar entre sí las células epidérmicas (Palacios, 2005).

El **mesocarpo** está situado en el interior de la corteza, ocupando una posición intermedia de pericarpio y, en la mayor parte de los frutos cítricos, es de color blanco, del que toma el nombre de **albedo** (Loussert, 1992). Durante el estado I de desarrollo del fruto sus células son meristemáticas, poseen forma poligonal y están unidas entre sí dando lugar a un tejido compacto. La mayor parte del crecimiento del fruto durante este estado I se debe al crecimiento en espesor del mesocarpo, mientras que los lóculos crecen relativamente poco. Durante el estado II, la división celular en el mesocarpo cesa y se originan numerosos espacios aéreos en las paredes celulares. Estos espacios desarrollan largos brazos que se ramifican a medida que crecen, de modo que las células del albedo acaban siendo

profundamente lobuladas y con grandes espacios aéreos. Por otra parte, a través del mesocarpo existen gran cantidad de ramificaciones reticuladas de haces vasculares que vuelven a unirse con los haces vasculares septales y dorsales (Frederick, 1994).

El **endocarpo** botánicamente es la parte más interna del pericarpo o la cara adaxial de una hipotética hoja carpelar. Está formado por una epidermis que delimita los lóculos y por unas pocas filas de células parenquimáticas y unidas de manera compacta. Durante la fase I del desarrollo del fruto sus células originan las vesículas de jugo (Agustí, 2003).

Los septos separan entre sí los lóculos. Cada septo está formado por las dos membranas locales correspondientes a los dos segmentos adyacentes y entre ellas una porción de tejido parenquimático, esponjoso, semejante al mesocarpo y que se rompe con facilidad cuando se separan los lóculos. La membrana local de un septo está formada por una capa de células epidérmicas, cubierta por una cutícula y unas pocas filas compactas de células parenquimáticas. Este tejido se rompe fácilmente y permite la separación de los lóculos o gajos de los frutos maduros (Palacios, 2005).

Los sacos de zumo o vesículas son estructuras alargadas que se inician a partir del endocarpo y progresan hacia el interior del lóculo hasta llenarlo por completo. Las vesículas maduras son como sacos, formados por una epidermis resistente, cubierta por una capa cuticular cerosa, que engloba grandes células muy vacuoladas que contienen el zumo (Almaguer, 1998).

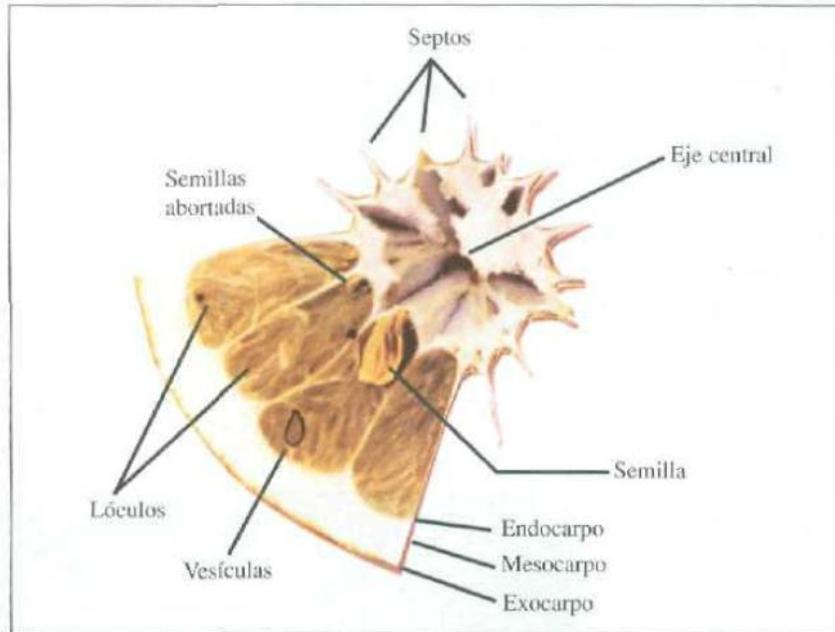


Figura 3-1 Sección Transversal de un fruto de Pomelo (Agustí, 2004)

3.2 Maduración y Senescencia del Fruto

La maduración se puede definir como el conjunto de cambios externos e internos que un fruto experimenta después de completar su crecimiento. Según su comportamiento fisiológico el pomelo acumula directamente monosacáridos durante su crecimiento en el árbol y, por tanto, durante la maduración no experimenta incrementos significativos de su tasa respiratoria ni producción de etileno, sino que este proceso se inicia con una disminución en los inhibidores de la maduración, debido a esto, el fruto de pomelo se puede clasificar dentro del grupo de frutos no climatéricos (Palacios, 2005).

El término senescencia, sin embargo, se define como la fase final de la edad ontogénica de un órgano en el cual se inician una serie de alteraciones, normalmente irreversibles, que conducen al desorden y muerte celular (Brady, 1987).

Esta serie de transformaciones morfológicas y fisiológicas durante la maduración de los frutos conlleva una serie concomitante de cambios bioquímicos.

En el caso de los cítricos (frutos no climatéricos), durante la maduración no se produce un incremento en la respiración y síntesis de etileno. La inducción de las actividades enzimáticas asociadas parece no estar directamente coordinadas por la producción de etileno, sino posiblemente por la disminución de los inhibidores de la maduración, tales como las auxinas, giberelinas y citoquininas (Grierson, 1987).

El fruto de pomelo en proceso de maduración sufre una serie de cambios marcados en color, textura y sabor, que indican que se están efectuando cambios en su composición. Es necesario que estos cambios se completen para que el fruto llegue al máximo de su calidad para el consumo. Sin embargo, esto sólo va a suceder si los pomelos se cosechan en un estado de madurez apropiado, pues de otra manera, los frutos inmaduros alcanzan una calidad no muy satisfactoria, aun después de que se hayan completado los cambios convenientes de la maduración (Agustí, 2003).

Los cambios en color pueden deberse a procesos ya sea, de degradación o de síntesis. En el caso del pomelo, el cambio es consecuencia de la degradación de la clorofila y de la síntesis de carotenoides y licopenos (Frederick, 1994).

El ablandamiento de los pomelos es causado por la degradación de la protopectina insoluble en pectina soluble. El sabor es una percepción sutil y compleja en que se combina el gusto, el olor y la consistencia. La madurez también trae consigo un aumento en los azúcares simples que dan dulzura, disminución de ácidos orgánicos y fenoles para reducir la astringencia, la acidez y un aumento en las emanaciones de sustancias volátiles, para dar al fruto su sabor característico (Loussert, 1992).

3.3 Cambios Bioquímicos Durante la Maduración

Azúcares. Los azúcares ya sea libre o combinados con otros constituyentes, son de importancia para que se alcance un sabor agradable del fruto, mediante un equilibrio en la proporción ácido-azúcar (Cuquerella, 1997).

Ácidos Orgánicos. Los ácidos orgánicos no volátiles se encuentran entre los principales constituyentes celulares que sufren cambios durante la maduración del fruto. El principal ácido que se presenta en pomelo es el cítrico, durante su maduración hay una considerable disminución de acidez en el fruto (Vázquez, 1997).

Lípidos. El contenido de lípidos en las frutas desempeña un papel importante en el mantenimiento de la textura (Almaguer, 1998).

Sustancias Pécicas. Estas son depositadas principalmente en la pared celular y en la lamina media, actuando como materiales aglutinantes. Son derivados de los ácidos poligalacturónicos y se presentan en forma de protopectina y ácido péctico. El total de sustancias pécicas aumenta en el curso de desarrollo del fruto, a medida que este madura, el contenido de pectatos y pectinas solubles aumenta, mientras que disminuye el contenido total de sustancias pécicas (Vázquez, 1997).

Productos Volátiles. Los aromas específicos del fruto en maduración son emanados a su alrededor. Los principales compuestos identificados en ellos son ésteres o alcoholes alifáticos, ácidos grasos de cadena corta y terpenoides (Mercado et al, 1999).

3.4 Calidad

3.4.1 Calidad Externa

Los factores que se valoran como calidad externa en pomelo son: el color de la cascara, la incidencia de imperfecciones y la forma de la fruta, todos estos se ven afectados significativamente por el clima.

El color de la cascara de pomelo es el resultado de una combinación de pigmentos tales como clorofila, carotenoides y licopenos. Inicialmente las células de la cascara contienen niveles altos de clorofila, lo que permite a la fruta producir algunos metabolitos secundarios fotosintéticos. Típicamente, la cascara del fruto no proporciona más del 10% de las necesidades totales de carbono de la fruta joven y mucho menos en la fruta madura, importándose el resto de las hojas (Agustí, 2003).

Aunque la clorofila y algunos pigmentos carotenoides están presentes en el tejido del flavedo desde la floración hasta el final de la segunda etapa de crecimiento, la destrucción de clorofila y la acumulación de carotenoides en el flavedo durante la maduración de los frutos determinará su coloración final (Coggins, 1986).

Se ha determinado que la conversión de cloroplastos a cromoplastos es una respuesta a la acumulación de azúcares en el epicarpio de los frutos y que las transformaciones inversa (reverdecimiento) ocurre cuando desaparecen los azúcares acumulados. Estos incrementos en azúcares reductores, podrían haber sido originados de los galactolípidos de los cloroplastos, que son hidrolizados provocando el consiguiente incremento en la galactosa libre (Goldschmidt, 1988).

En zonas de cultivo donde las temperaturas permanecen altas todo el año, los niveles de clorofila permanecen altos y la cáscara de la fruta permanece verde. Sin embargo, conforme las temperaturas del aire y del suelo caen por debajo de 15°C la clorofila se degrada y los cloroplastos se convierten en cromoplastos que contienen pigmentos amarillos, anaranjados o rojizos. La síntesis de carotenoides se reduce

por encima de 35°C o por debajo de 15°C, pero todavía ocurre a temperaturas que conducen a la degradación de la clorofila (Palacios, 2005).

El color de la cascara de pomelo es el resultado de la síntesis de carotenoides, amarillos y licopenos rojizos en los cultivares rosados y rojos. La síntesis de licopeno se produce incluso a temperaturas moderadas, pero esta síntesis se retrasa conforme aumenta la temperatura (Palacios, 2005).

El pomelo adquiere el color de piel de amarillento a rojo anaranjado, dependiendo del cultivar, incluso en regiones tropicales bajas después de una degradación de la clorofila (Agustí, 2003).

Aparte de la temperatura, el vigor del árbol también tiene un efecto pronunciado sobre el color de la fruta. Generalmente, los árboles que crecen vigorosamente producen fruta de color menos intenso que los árboles que crecen más lento. Como resultado, cualquier factor que mejora el vigor demora el desarrollo del color de piel. Además, los árboles que reciben nitrógeno en exceso tienden a tener poco color de la cascara. Como la luz es necesaria para la síntesis de los carotenoides, la fruta que esté a la sombra tendrá menos color que la fruta expuesta a la luz (Frederick, 1994).

Las imperfecciones de las frutas de pomelo son los principales factores que afectan su comercialización en fresco. Se producen debido a factores bióticos y abióticos. La incidencia de los defectos ocasionados por factores bióticos son mayores debido a la incidencia de enfermedades y plagas. Los insectos, las enfermedades por hongos y ácaros pueden ser sumamente intensas y difíciles de controlar en condiciones de humedad relativa alta (Loussert, 1992).

La forma de la fruta se ve adversamente afectada en los pomelos por las altas temperaturas durante la etapa de división celular. La excesiva división celular en el albedo cerca del extremo del pedúnculo produce una fruta alargada (Frederick, 1992).

3.4.2 Calidad Interna

El agua representa una importante porción de la masa de la fruta (85 a 90%), contribuyendo los carbohidratos al 75 – 80% de los sólidos solubles totales. Como consecuencia, la regulación de los carbohidratos que se incorporan a la fruta tiene un gran impacto sobre la calidad interna de la fruta. El crecimiento de la fruta es función del estatus hídrico del árbol y del reparto de carbohidratos, además de la temperatura (Almaguer 1998).

La fruta se encoge y dilata durante el día al cambiar las relaciones hídricas del árbol. El tamaño definitivo de la fruta aumenta mediante el riego y/o las lluvias. Además, la fruta sirve como órgano de almacenamiento de agua. La mayor parte del agua traslocada a las hojas se almacena en las cascara del fruto (Garza, 1993).

La mayoría de los sólidos solubles totales se acumulan rápidamente en la fruta, los niveles máximos de estos se logran en zonas húmedas. Para la obtención de una fruta de calidad comercial comestible tiene más importancia la tasa de descenso de la acidez titulable que los sólidos solubles totales (Frederick, 1994).

El jugo de pomelo alcanza una calidad muy alta debido a la reducida acidez titulable en regiones tropicales cálidas. Una disminución similar, aunque más prolongada, de la acidez titulable ocurre en áreas de altitud media (Palacios, 2005).

La acidez titulable se encuentra en función de la temperatura (acumulación de unidades calor) y luego de la rápida respiración de ácidos orgánicos a estas temperaturas, aunque la tasa de disminución también crezca y disminuyan los niveles mínimos por el riego o las lluvias excesivas (Agustí, 2003).

Índice de Cosecha. La determinación de la relación E/A (E: contenido del jugo en sólidos solubles totales (azúcares); A: acidez titulable del jugo) permite medir el estado de maduración del fruto. La calidad del fruto, en particular su índice de madurez E/A, es también un factor comercial a tener en consideración, en particular para decidir la fecha de recolección (Vázquez, 1997).

3.5 Frigoconservación y Manejo Postcosecha del Fruto

A pesar de la importancia que los factores precosecha tienen sobre la calidad comercial de los frutos, son necesarios un manejo y almacenamiento adecuados si no se quiere ver reducida su vida útil postcosecha.

El enfriamiento rápido del fruto, para eliminar el calor de campo, reduce su pérdida de agua y retarda la evolución de la maduración, minimizando, así, su deterioro. Con ello, el fruto se puede cosechar en el momento de óptima madurez y presentarlo en el mercado con una mejor coloración y calidad organoléptica. Por otra parte, cuanto más pronto se lleva el fruto a su temperatura de almacenamiento después de que fue cosechado, mayor es el periodo de conservación que tolera.

El almacenamiento en frío es la técnica más ampliamente utilizada para la conservación de frutas. Esta se basa generalmente en la aplicación de ciertas temperaturas constantes a los frutos a conservar, siempre por encima del punto crítico para poder mantener sus cualidades organolépticas, nutritivas, etc. Para cada variedad existe una temperatura óptima de almacenamiento capaz de mantener al fruto en buenas condiciones durante un periodo máximo de almacenamiento (Mañez,

1997). Para el caso de pomelo son sensibles a alteraciones fisiológicas cuando se almacenan a temperaturas inferiores a los 10°C.

La conservación refrigerada bajo condiciones óptimas permite reducir las pérdidas cualitativas y cuantitativas debidas a desórdenes fisiológicos y podredumbres, retrasar la maduración y senescencia y prolongar la vida comercial de los productos hortofrutícolas en general, con calidad idónea para consumo en fresco o industrial (Artés, 1987 y Martínez-Jávega, 1997).

También la frigoconservación persigue entre otros fines, el uso de tratamientos cuarentenarios para el control de insectos en frutos exportados a determinados países que lo exigen, como Estados Unidos y Japón (Martínez, 1999).

3.5.1 Efectos de la Frigoconservación

La conservación de los frutos a bajas temperaturas influye en diferentes procesos biológicos como son:

Respiración: La respiración es el principal proceso de deterioro de los frutos, el mismo es atenuado por las bajas temperaturas, que logran disminuir la tasa respiratoria y la pérdida excesiva de agua, así como la velocidad de las reacciones bioquímicas y enzimáticas. La 5 velocidad de respiración de un fruto se reduce a la mitad por cada 10°C en que disminuye la temperatura (Guerra, 1996).

Transpiración: Las pérdidas de peso en los frutos se incrementan como consecuencia de la transpiración después de la cosecha y significa una disminución de la calidad y aceptabilidad, estas pérdidas suelen ocasionar mermas superiores al 5% durante la comercialización, al 7 % en la conservación frigorífica durante tres meses y posterior comercialización (Martínez, 1999).

Las condiciones de baja humedad provocan un incremento de la transpiración y por tanto una elevada pérdida de agua, lo que acelera la senescencia del fruto y una marcada pérdida de la calidad, tanto por la aparición de arrugas en la corteza como por el encogimiento y ablandamiento (Guerra, 1996).

Pérdida de la calidad y senescencia: En la postcosecha, los frutos evolucionan hacia la senescencia con pérdidas de calidad, ablandamiento, pérdida de acidez, vitamina C y características organolépticas (sabor y comestibilidad). La velocidad de reacción de los procesos metabólicos, que llevan a la pérdida de calidad se duplica por cada 10°C de aumento de la temperatura y en el tramos de 0 a 10°C puede llegar incluso a sextuplicarse (Martínez, 1999).

Enfermedades: La aplicación del frío disminuye los riesgos de aparición y desarrollo de enfermedades. Aunque es importante señalar que puede disminuir la acción de los microorganismos, pero no inhibe la germinación de esporas de los patógenos que contaminan a las frutas. Para reducir la incidencia de alteraciones patológicas durante el almacenamiento frigorífico se deben tomar una serie de medidas higiénicas que van desde evitar el máximo de heridas y golpes en la cosecha y transporte al almacén, pasando por una periódica limpieza y desinfección de las cajas de campo, línea de manipulación, almacén y cámaras frigoríficas y se completan con un tratamiento fungicida aplicado a la propia fruta (Tuset, 1999).

3.5.2 Variables a considerar durante la Frigoconservación

Temperatura: La temperatura constituye una de las variables más importante para la conservación de los cítricos. Siendo necesario su control, ya que a medida que disminuya la temperatura, se retarda la pérdida de calidad de los frutos. Sin embargo, existen limitaciones en cuanto a las temperaturas mínimas que pueden aplicarse en la frigoconservación (Biolatto et al, 2005).

Una limitante en los pomelos es que presentan sensibilidad a las bajas temperaturas, las cuales se manifiestan por diferentes alteraciones y manchas en la piel, conocidas generalmente como lesión o daño por frío y que pueden causar una alta pérdida de calidad comercial.

Humedad Relativa: Para disminuir la transpiración por el empleo de las temperaturas bajas se utilizan humedades relativas elevadas. La humedad relativa adecuada para un determinado producto dependerá de la relación superficie/volumen de éste. A medida que esta relación es mayor, la transpiración también lo es. Un valor de la humedad relativa entre 85 –95 % es lo aconsejable para lograr el objetivo de la conservación (Guerra, 1996). Durante la conservación frigorífica el control de la humedad relativa constituye un aspecto fundamental para disminuir las pérdidas de peso.

Renovación y circulación del aire en las cámaras frías: La renovación y circulación del aire en las cámaras frías son fundamentales para mantener en los niveles adecuados la concentración de O₂ y CO₂. La renovación periódica de la atmósfera se justifica por la necesidad de eliminar los gases y volátiles indeseables que se producen, mucho de ellos derivados de la actividad metabólica de los frutos.

La recirculación es necesaria para uniformar las condiciones deseadas en todos los puntos de las cámaras, siendo necesario estibar y almacenar la carga, para que el aire recircule por todos los alrededores de la unidad (Schirra et al, 1992).

Las condiciones de almacenaje para algunos frutos cítricos varían dependiendo de la especie y variedad:

Cuadro 3-1. Parámetros de Conservación para algunos Cítricos

Especie	T (°C)	H.R (%)	Semanas Almacenaje	Atmosfera Controlada	
				CO ₂ (%)	O ₂ (%)
Pomelo	10 – 15	85 – 90	6 – 8	5.10	3.10
Limón	10 -13	85 – 95	4 -24	0.10	5.10
Naranja	1 -9	85 - 90	3 -12	0.10	5.10

. Fuente. Luchinger (1999)

3.6 Tratamiento Cuarentenario

Algunos países, apoyados por la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, adoptan medidas preventivas a la importación de frutos y hortalizas para evitar la introducción de plagas y enfermedades vegetales en su territorio. Estas son particularmente estrictas para plagas de cuarentena, es decir, aquellas que no se encuentran en el país o se hallan restringidas y bajo control activo. Estos tratamientos reciben el nombre de cuarentenarios y en el caso de los cítricos están basados en tratamientos físicos de frigoconservación (Alonso et al, 2005).

Para el envío de frutos cítricos a países donde no se encuentra la mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata* Wied), los tratamientos de cuarentena por frío se aplican durante su transporte en barco. Para exportar frutos cítricos a E. U; se utilizan temperaturas máximas entre 1° - 2.2°C con periodos de permanencia de la fruta entre 12 y 17 días, respectivamente, en contenedores o bodegas. En el caso de Japón, la normativa para el envío de frutos exige temperaturas inferiores a 2°C en el centro de la fruta durante un periodo mínimo de 16 días, debiéndose transportar los frutos en contenedores especialmente diseñados (Agustí, 2003). La temperatura del tratamiento se encuentra en función con el tiempo de exposición de los frutos.

Los tratamientos para plagas de productos postcosecha que requieren un grado máximo de seguridad cuarentenaria se conocen generalmente como tratamientos **PROBIT 9**. El nombre se origina del método estadístico (análisis PROBIT 9) que se usa para derivar la relación entre la dosis y su respuesta (Palou *et al*, 2008). Una respuesta en el nivel PROBIT 9 tiene como resultado una tasa de mortalidad del 99.9968%. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) ha usado un 99.9986% de mortalidad como base para aprobar muchos tratamientos cuarentenarios. Esta táctica es equivalente a depender únicamente de insecticidas para controlar las plagas de un cultivo. Para productos muy infestados, un tratamiento PROBIT 9 generalmente proporciona una seguridad cuarentenaria adecuada; y la aplicación del tratamiento, con frecuencia ha demostrado ser el método más rápido y de mayor aceptación para superar las restricciones fitosanitarias (Follet y Neven, 2006).

Muchos tratamientos de desinfección postcosecha afectan negativamente la calidad del producto; por lo tanto, reducir la severidad de un tratamiento cuarentenario podría mejorar la vida útil o su comercio del producto (Hallman, 2010).

Trabajos llevados a cabo por el Servicio de Sanidad Vegetal del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de España (Vincent 1999) mostraron que las formas larvarias han sido más resistentes al frío que los huevos sin diferencia entre larvas jóvenes y maduras. Un tratamiento de cuarentena de 17° a 1.5°C asegura una mortalidad del 99.9968% de la forma más resistente del insecto (PROBIT 9) (Martínez, 1999).

3.7 Daño por frío

El daño por frío (temperaturas bajas) es el principal problema en el manejo del pomelo, debido a que impide el almacenamiento del producto. Este daño, básicamente es diferente al que resulta de heladas o temperaturas inferiores a su temperatura crítica de almacenamiento.

En cítricos, los daños pueden mostrar diversas sintomatologías. El más común es el picado (pitting) en el que áreas discretas de la piel colapsan formando lesiones hundidas. Las mismas tienden a juntarse, siendo la demarcación entre las lesiones y el tejido epidérmico sano muy definida. En pomelos, las depresiones pueden adquirir tonalidades rosadas y brillantes. Los frutos de piel delgada son más susceptibles (Chifflet et al 1999).

Los síntomas del daño por frío varían de acuerdo con el tejido afectado. Las cavidades son más evidentes en el caso de pomelo, en las cuales la cubierta más exterior es más dura y gruesa que las capas adyacentes (Agustí, 2003).

La susceptibilidad de los cítricos a bajas temperaturas depende de la especie y variedad, siendo pomelos y limones los más sensibles (Guerra, 1996). Además influyen numerosos factores tanto previos a la cosecha como posteriores a ella. Entre ellos se incluyen: el patrón, condiciones ambientales, tratamientos durante el cultivo, condición del árbol y madurez de la fruta. Una recolección cuidadosa también es importante (Palacios, 2005).

El efecto de las bajas temperaturas, se manifiesta inmediatamente sobre la estructura y composición de las biomembranas vegetales, aumentando la microviscosidad de la matriz lipídica y la rigidez de las membranas, que adquieren una estructura líquido-cristalino y se redistribuyen las proteínas integradas, que son expulsadas de las zonas lipídicas rígidas (adquiriendo una estructura sólido gel) (Mercado et al, 1999).

Los cambios en la temperatura del medio afectan también al funcionamiento de las enzimas y de los transportadores incluidos en la matriz lipídica de las membranas y con esto a los intercambios a través de ella, lo que altera la permeabilidad y perturba las funciones celulares, que en los casos más graves, produce un trasvase de electrolitos y metabolitos entre los diversos compartimentos celulares y entre las células y el medio, llegando incluso a la ruptura de las membranas, necrosis y muerte del órgano (Artés et al 1998).

Las respuestas fisiológicas propuestas como posibles causas primarias de daños por frío son: incremento en la concentración de calcio en el citosol, variación conformacional de las enzimas, cambios estructurales a nivel celular, transición en los lípidos de las membranas. Si las condiciones de frío se mantienen, estas respuestas primarias dan lugar a respuestas secundarias como: aumento de la producción de etileno, cambios en la actividad respiratoria, pérdida de agua, aumento de la permeabilidad, emisión de aceites esenciales, volátiles, producción de enzimas implicadas en el metabolismo de los fenoles (Come, 1998).

Pero también se ha comprobado que la cutícula juega algún papel en el desarrollo de la alteración. Así, en el pomelo, el flavedo es más poroso bajo refrigeración que a temperatura ambiente, facilitando el aporte de O₂ hacia la membrana y la salida de agua, que provoca la deshidratación (Maul et al 2011).

El daño por frío genera diversas alteraciones funcionales, las cuales según el producto y la severidad del daño se pueden ver reflejadas en:

- a) Decoloración interna y superficial, presencia de áreas cafés endógenas, falta de sabor, áreas de la pulpa saturadas de agua, picaduras, descomposición o deterioro acelerado.
- b) Maduración desuniforme o ausencia de maduración
- c) Incidencia de patógenos y desarrollo de enfermedades

Los frutos presentan cambios en su sensibilidad al frío, según la etapa de madurez en que se encuentren. Se ha observado que en pomelo, los frutos verdes, es decir, durante las etapas iniciales de maduración, son más susceptibles al frío. Al ir cambiando de color o pasar de madurez fisiológica a madurez comercial disminuye la sensibilidad a las bajas temperaturas. La temperatura y la duración del almacenamiento son factores que interaccionan fuertemente para determinar la presencia del daño por frío (Pailly et al, 2004).

En algunos casos los síntomas se pueden observar mientras que el producto está a bajas temperaturas, pero en algunos otros aparecen sólo cuando el producto es transferido a una temperatura más elevada.

Las fisiopatías que se producen en los cítricos suelen suceder en la corteza del fruto, especialmente en el flavedo. Los síntomas más habituales del Daño por frío en el flavedo de cítricos (Hyde et al, 1999) son:

1. El manchado o **picado (*pitting*)**. Es el Daño por Frío más frecuente asociado al almacenamiento de los frutos cítricos a bajas temperaturas, y se caracteriza por la formación de manchas en áreas discretas de la piel que se colapsan formando lesiones profundas (Lindhout et al, 2004). Este tipo de Daño por Frío se ha detectado en pomelos, limas, limones, naranjas y tangerinas. (Martínez et al, 1992; Sánchez-Ballesta et al, 2003).
2. El **escaldado** se presenta principalmente en frutos sobremaduros y se caracteriza por un oscurecimiento difuso de la piel que se manifiesta de forma irregular y se extiende paulatinamente por toda la superficie del fruto, por ejemplo en naranjas Navelate (Alferez *et al*, 2005).

Cuadro 3-2. Síntomas causados por bajas temperaturas en Cítricos

FRUTO	T MÍNIMA (°C)	SÍNTOMAS MÁS FRECUENTES
Lima	7 -10	Picado y pardeamiento del flavedo
Limón	11 -14	Picado, adustiosis, membranosis, oleocelosis, pardeamiento del flavedo, necrosis peripeduncular y susceptibilidad a enfermedades
Naranja y Mandarina	3 -9	Picado, escaldadura superficial, necrosis peripeduncular, pardeamiento del flavedo
Pomelo	10	Picado y pardeamiento del flavedo

Fuente. Artés 1999

3.7.1 Respuestas Fisiológicas Involucradas al Daño por Frío

Alteraciones de la Membrana Celular.

Debido a exposiciones prolongadas a bajas temperaturas, las alteraciones que se presentan son la desintegración de la membrana, salida de solutos, pérdida de compartimentación, disminución en la velocidad de la actividad oxidativa de la mitocondria, incremento de la energía de activación de las enzimas asociadas a membranas, detención del movimiento protoplásmico, reducción en el acceso de energía y su utilización, decremento en la velocidad de fotosíntesis, desorganización de la estructura celular, acumulación de sustancias tóxicas (Mercado *et al*, 2005).

Producción de Etileno

La síntesis de etileno es estimulada por el estrés de frío en un gran número de plantas y tejidos (Neven *et al* 2009). El etileno puede afectar los cambios de color en los frutos, así la hidrólisis del pigmento clorofila favorece el cambio de color en naranja y otras tonalidades, también está implicado en diversos daños al producto y por tanto su deterioro. La síntesis y acción del etileno se encuentran relacionados con la temperatura (Neven *et al* 2006).

Respiración

El grado de perecibilidad de los productos cosechados es generalmente proporcional a la tasa de respiración. La incidencia de daño por frío incrementa la intensidad respiratoria. El incremento substancial de la respiración después de un prolongado estrés por frío, puede considerarse como indicativo del disturbio metabólico irreversible y de la acumulación de intermediarios oxidables (Sapitnitskaya et al 2006).

Transpiración

La transpiración significa la evaporación del agua del tejido de las plantas. La pérdida de agua es la principal causa de deterioro debido a que está no solo resulta en pérdida cuantitativa directa (pérdida de peso comercial) sino también en pérdida de la apariencia (marchitamiento), en textura (endurecimiento de la piel) y la calidad nutricional (Moraga et al 2010). La tasa de transpiración se encuentra en función de factores internos (características morfológicas y anatómicas, relación superficie/volumen y la etapa de maduración) y por factores externos relacionado con el medio ambiente (temperatura, humedad relativa, movimiento del aire y presión atmosférica) (Terdwongworakul et al 2009).

La transpiración puede ser controlada con el empleo de tratamientos al producto, con la aplicación de ceras o películas plásticas, además de la manipulación de las condiciones ambientales con el aumento en la humedad relativa y el control en la circulación del aire (Neven et al 2009).

Cambios en proteínas y actividad enzimática

Los sistemas enzimáticos que son afectados por las bajas temperaturas se encuentran asociados con la membrana celular. Los sistemas enzimáticos en las células vegetales son múltiples, sin embargo, los relacionados con reacciones de oscurecimiento y aquellos en respuesta al estrés oxidativo provocado por el estrés por frío son importantes (Porat, 2000).

3.7.2 Tecnologías para la Reducción de Daños por Frío

Las condiciones bajo las cuales crecen los frutos, tienen una función importante en el desarrollo del daño por frío en postcosecha. A este respecto se menciona que la intensidad luminosa, a través de la fotosíntesis y la nutrición mineral al influir sobre el desarrollo celular en los frutos, puede afectar el desarrollo de los síntomas del daño por frío (Agustí, 2003).

La época de cosecha se ha observado que es de importancia en la susceptibilidad del pomelo al daño por frío. Asimismo los frutos cosechados a mediados de la estación, en general, son menos susceptibles al problema que los frutos cosechados antes o posteriormente. En este caso, parece ser que la mayor tolerancia a las bajas temperaturas se presenta durante el periodo de detención del crecimiento del árbol (Palacios, 2005).

Temperaturas de Acondicionamiento

La exposición de los frutos a temperaturas de 15 – 25°C durante 2 – 7 días antes de la frigoconservación permite almacenar naranjas, limones y pomelos a temperaturas cercanas a 2 °C durante 15 – 20 días sin que aparezcan alteraciones (Agustí, 2003).

El acondicionamiento a moderadas temperaturas previas al almacenamiento en frío puede aumentar la resistencia al frío. Esto se encuentra relacionado en algunos frutos con el aumento de los ácidos grasos insaturados, ácido abscísico, escualeno o poliaminas. Se ha utilizado con éxito en pomelos, naranjas, limas y limones. La duración del acondicionamiento debe ser la justa para producir el efecto deseado, ya que si se prolonga en exceso, puede ir en detrimento de la calidad de la fruta. (Vázquez et al 1997).

Aplicación de Ceras

En la citricultura los recubrimientos que se utilizan para el acondicionamiento del fruto son ceras, recubrimientos comestibles y envolturas plásticas. El encerado se realiza con ceras al agua. Estas se dividen en dos grandes grupos: soluciones de resinas y emulsiones acuosas (Agustí, 2003). El uso de ceras en la postcosecha de cítricos puede ser una alternativa para mantener la calidad de los frutos y reducir las pérdidas que se producen en la refrigeración.

Las soluciones de resinas consisten en una mezcla de una o más resinas solubles en álcalis y compuestos naturales (como proteínas de soja); como coadyuvantes se utilizan ácidos orgánicos, agentes tensoactivos y plastificantes. Las resinas que más se utilizan son la colofonia, resina natural con un punto de fusión de 125 – 135°C. El porcentaje total de sólidos solubles de las resinas no debe exceder del 18%, si el fruto va a ser comercializado inmediatamente, o del 10% si va a ser conservado a baja temperatura; en todo caso, cuando es superior al 8% existe la posibilidad de aparición de alteraciones fisiológicas y malos sabores derivados de una fermentación alcohólica. Las emulsiones acuosas están compuestas por ceras vegetales, ceras animales, ceras minerales o ceras sintéticas (Agustí, 2003).

La ventaja que presentan estos recubrimientos es que no aportan residuos químicos en las frutas y como consecuencia no alteran el medio ambiente, siendo inocuos para el consumidor (Locaso et al 2007).

La presencia de una barrea artificial o cera natural de difusión alrededor de los frutos, puede causar diversos efectos, tales como: disminución en los niveles de O₂ y aumento en las concentraciones de CO₂, alteración en las concentraciones de etileno, disminución en el porcentaje de agua y cambios en los proceso fisiológicos (Pérez et al 2005).

Los beneficios de las atmosferas modificadas mediante el encerado se basan en que las bajas presiones parciales de O₂ y etileno (C₂H₄) y/o elevadas de CO₂ y vapor de agua frenan el metabolismo, reducen la transpiración y retrasan el deterioro causado por los daños por frío del fruto a conservar (Kader 2006).

Tratamiento de Acondicionamiento con Ácido Jasmónico

Los daños por frío pueden reducirse con el uso de diferentes tratamientos de acondicionamiento, previo almacenamiento en frío del fruto (De la Cruz Medina et al 2007). Uno de los más recientes es la aplicación de ácido jasmónico en su forma metilada (Metil Jasmonato), en forma de vapor o solución. A nivel fisiológico se ha observado que el tratamiento no afecta la tasa de respiración, pero aumenta la síntesis de etileno (Gonzales 2007).

El ácido jasmónico es el producto final de la oxidación enzimática de ácidos grasos insaturados, linoléico y linolénico principalmente, presente en las membranas celulares, especialmente en las membranas cloroplásticas. Son fitohormonas lipídicas, que actúan como moléculas señalizadoras de la respuesta de las plantas a numerosas situaciones de estrés y participan en diversos procesos de desarrollo. La volatilidad del Metil Jasmonato, ester metílico del ácido jasmónico, permite que los tratamientos sean aplicados sin necesidad de la inmersión del fruto en agua (Lorenzo et al 2007).

Los Jasmonatos son compuestos que poseen homología estructural funcional con esteroides y prostaglandinas originados en animales a partir del ácido araquidónico (Creelman y Mullet, 1997; Blée, 2002; Howe, 2004). El Jasmonato es una ciclopentanona que posee una cadena pentenilo y una cadena carboxílica. Entre los cuatro isómeros posibles, el enantiómero (-)-JA tiene la configuración absoluta (3*R*, 7*R*), la forma (+)-7-*iso*-JA (3*R*, 7*S*) es nativa y fisiológicamente activa (Fig. 3-2)

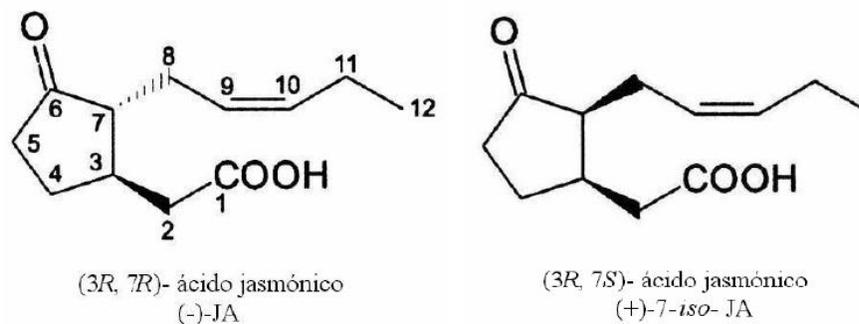


Figura 3-2 Estructura del Ácido Jasmónico

En plantas, especialmente las membranas cloroplásticas, constituyen una fuente muy rica de Acido Linolénico esterificado en glicerolípidos y fosfolípidos. La liberación de Acido Linolénico puede ocurrir por acción de acilhidrolasas o fosfolipasas. Actualmente se postula que la fosfolipasa A (PLA) participa en la reacción inicial para la generación de metabolitos de la vía lipoxigenasa (LOX). Incrementos en actividad de la fosfolipasa A (PLA) han sido encontrados previo al aumento de Jasmonatos luego de la elicitación de cultivos de células en suspensión (Royo *et al.*, 1996; Göbel *et al.*, 2001), bajo daño mecánico a hojas de tomate (Narváez-Vásquez *et al.*, 1999), y en hojas de tabaco infectadas con el virus del mosaico de tabaco (Dhondt *et al.*, 2000). Dada la localización cloroplástica de las enzimas que participan en los primeros pasos de la biosíntesis de Jasmonato, el Acido Linolénico sería liberado dentro del cloroplasto por una PLA1 (hidroliza los fosfolípidos en la posición *sn*-1 del esqueleto glicerol) y no en la membrana plasmática, donde se asume que se localiza una fosfolipasa A2 (PLA2). Otra enzima que podría liberar Acido Linolénico podría ser una fosfolipasa D (PLD), la cual genera ácido fosfatídico, el cual a su vez es activador de la fosfolipasa A (Lee *et al.*, 1997).

El tratamiento con Metil Jasmonato induce cambios en la expresión de genes que codifican la oxidasa alternativa, así como en las enzimas implicadas en la defensa frente al estrés oxidativo. El aumento de los niveles de estas enzimas por Metil Jasmonato se ha correlacionado con una menor incidencia de daño por frío (Lorenzo *et al.* 2007).

Efectos del Metil Jasmonato (MJ) en Frutos. Las aplicaciones externas de MJ incrementan los niveles de ácido abscísico, sólidos solubles totales, contenido de poliaminas, fenoles, pigmentos, la actividad de ACC sintasa y ACC oxidasa, PAL. Disminuye pérdida de peso, firmeza, color, pH y acidez titulable. Incrementa la degradación de clorofila, vitamina C, producción de etileno y CO₂, síntesis de antocianinas, maduración y mejora la calidad; reduce los síntomas de Daño por frío (González *et al*, 2001).

CAPITULO IV 4. PLAN EXPERIMENTAL

4.1 Materiales y Métodos

4.1.1 Material Vegetal

Para el experimento se cosecharon frutos de pomelo '*Rio Red*' en estado de madurez de consumo (Relación °Brix/%ácido cítrico de 8.6 e índice de color 16) y sin ningún tipo de daño físico o fitopatológico, desarrollados en huertos comerciales ubicados en el municipio de Martínez de la Torre, Veracruz. En un lapso de 10 horas se trasladaron al Laboratorio de Fisiología Postcosecha del Colegio de Postgraduados en Montecillo, México, donde fueron lavados y seleccionados por tamaño.

4.1.2 Tratamientos

En total se seleccionaron 240 frutos y se dividieron en cuatro grupos de 60 frutos, correspondiendo cada uno a un tratamiento; los frutos se acomodaron en rejas de plástico de 45cm x 30cm con superficie de ventilación cercano al 50% para facilitar el flujo de aire dentro de la cámara de refrigeración.

Los tratamientos aplicados fueron los siguientes:

1. **Tratamiento de Cuarentena Directo:** frutos expuestos directamente a 1.5°C y 80±1 % de humedad relativa (HR) por 17 días (**1.5° C/17 d**), considerado como tratamiento de cuarentena por bajas temperaturas para larvas de mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata* Wide).



Figura 4-1. Frutos de Pomelo Durante el Tratamiento Cuarentenario

2. **Acondicionamiento previo al tratamiento de cuarentena:** Frutos expuestos 17°C por 7 días y posteriormente a temperatura de tratamiento de cuarentena ($17^{\circ}\text{C}/7\text{ d} + 1.5^{\circ}\text{C}/17\text{ d}$).



Figura 4-2. Frutos de Pomelo Durante el Tratamiento de Acondicionamiento (17° por 7 días)

3. **Encerados y posteriormente expuestos a tratamiento de cuarentena:**
Frutos tratados con una cera comercial conteniendo 14% de sólidos y posteriormente expuestos a condiciones de tratamiento de cuarentena **(Encerados + 1.5°C/17 d)**



Figura 4-3. Frutos de Pomelo Encerados

4. **Tratamiento con Metil Jasmonato y posterior tratamiento de cuarentena.** Frutos de pomelo colocados en cámara hermética y tratados Metil Jasmonato 10^{-3} M disuelta en agua, se encerraron durante 24h y posterior tratamiento de cuarentena **(MJ 10^{-3} M + 1.5°C/ 17 d).**



Figura 4-4. Frutos de Pomelos durante la aplicación de Metil Jasmonato.

4.2 Variables y Metodología

Después de finalizados los tratamientos se mantuvieron los frutos a una temperatura de 9°C por 9 días, en donde se tomaron muestras a los cero, cuatro y ocho días para analizar las variables a temperatura ambiente.

Índice de daños por frío: Se determinó de manera visual en 15 frutos por tratamiento, donde se estableció una relación de escala basada en el grado de necrosis superficial y de la intensidad de oscurecimiento:

Fruto Sano: Aquellos que no presenten daño

Daño Ligero: Manchado disperso menor al 10% de la superficie del fruto

Daño Moderado: Manchas compactas en no más del 10 al 20% de la superficie del fruto

Daño Severo: Manchas extendidas y oscuras en más del 20% de la superficie del frutos

Para determinar el Índice de Daños por frío (IDF) se utilizó la siguiente Ecuación:

$$IDF = \frac{n1 + n2 + n3 + n4}{N} \times 100$$

Donde:

n: Número de frutos dañados

N: Número de frutos por grupo o tratamiento

Los datos se reportaron en % con el grado de severidad del daño.

Pérdida de peso: Se determinó sobre diez frutos previamente identificados durante el periodo de conservación. Los datos se expresaron como porcentaje de pérdidas de peso de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% pp = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso final}} \times 100$$

Etanol y acetaldehído: Se determinó mediante la metodología propuesta por Davis y Chace (1969), tomando cinco extractos de jugo por tratamiento, cada extracto compuesto de un fruto y se colocó 5 mL de cada extracto en un vial y se selló, posteriormente se incubo a baño maría a 32° C/10 min. Una vez incubados se agitaron por 5 segundos. Finalmente se tomó 1 mL del espacio libre del vial y se analizó en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo. 5890 II. . Las temperaturas de operación fueron de 170°C en la columna (inyector inlet), 180°C en el Detector A o TCD (Detector de Conductividad Térmica), 180°C en el Detector B o FID (Detector de Ionización de Flama) y 150°C en el Horno.

Conjuntamente a la preparación de las muestras se prepararon patrones con concentraciones conocidas de etanol y acetaldehídos (118.4 mg/100cc y 1.57mg/100cc, respectivamente). Los resultados se expresaron como mg de etanol o acetaldehídos / 100mL de jugo.

Acidez titulable: Se determinó en muestras de jugo de cinco frutos de acuerdo a la metodológica descrita por la A.O.A.C (1988). Para la cual se tomó 5 mL del jugo de cada fruto y se neutralizaron con NaOH 0.3125 N utilizando fenolftaleína como indicador. Los datos se reportarán como % de ácido cítrico, tomando en cuenta que la acidez valorada es de un 85 a 90% ácido cítrico y el resto otros ácidos orgánicos, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido de Ácido Cítrico (\%)} = \frac{\text{mL de NaOH (N)}(0.064)(100)}{\text{mL de alícuota}}$$

Donde:

mL de NaOH = mL de NaOH gastados durante la titulación

N = Normalidad del NaOH

0.064 = miliequivalentes del ácido cítrico

Sólidos solubles totales (SST): Se determinaron mediante un refractómetro automático Atago modelo. Pr-100, haciendo la corrección correspondiente de temperatura al momento de hacer la determinación y la contribución del ácido cítrico presente en la muestra. Los datos se reportarán en °Brix

Índice de maduración: Se obtuvo la relación de los SST / la Acidez Titulable que es un indicador bastante confiable del grado de madurez en cítricos. Los datos obtenidos se reportarán como un índice de calidad y de cosecha.

Contenido de Vitamina C: Se determinó de acuerdo al método 2,6-dicloroindofenol descrito por la A.O.A.C (1984)

CURVA ESTANDAR DE VITAMINA C

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE

1. Pesar 10mg de Ácido Ascórbico (Vitamina C) y disolver en 100mL de ácido oxálico al 0.5%. Concentración final (0.1mg/mL, 100 μ g/mL).
2. Realizar 12 diluciones a partir de la solución madre tal como se indica en el Cuadro 4-1.

Cuadro 4-1. Preparación de las diluciones para la curva estándar de vitamina C

No	μ L Tomados de la solución madre	μ L de ácido oxálico a agregar	mL totales de solución a titular
1	500	4500	5
2	1000	4000	5
3	1500	3500	5
4	2000	3000	5
5	2500	2500	5
6	3000	2000	5
7	3500	1500	5
8	4000	1000	5
9	4500	500	5
10	5000	0	5

3. Titular con 2,6- Dicloroindofenol para determinar el gasto de acuerdo a cantidad de ácido ascórbico presente en la solución (Cuadro 4-2).

Cuadro 4-2. Gasto de 2,6- DicloroIndofenol y contenido de vitamina C.

No	Gasto de 2,6- Dicloroindofenol (mL)	Contenido total de ácido ascórbico presente en la muestra titulada (mg)	Contenido total de ácido ascórbico presente en la muestra titulada (μ g)
1	1.7	0.05	50
2	2.9	0.1	100
3	3.8	0.15	150
4	4.4	0.2	200
5	5.1	0.25	250
6	6	0.3	300
7	6.9	0.35	350
8	7.3	0.4	400
9	9.6	0.45	450
10	9.7	0.5	500

4. Graficar los datos del Cuadro 2 y obtener la ecuación lineal ($y=mx+b$) que describe la curva.

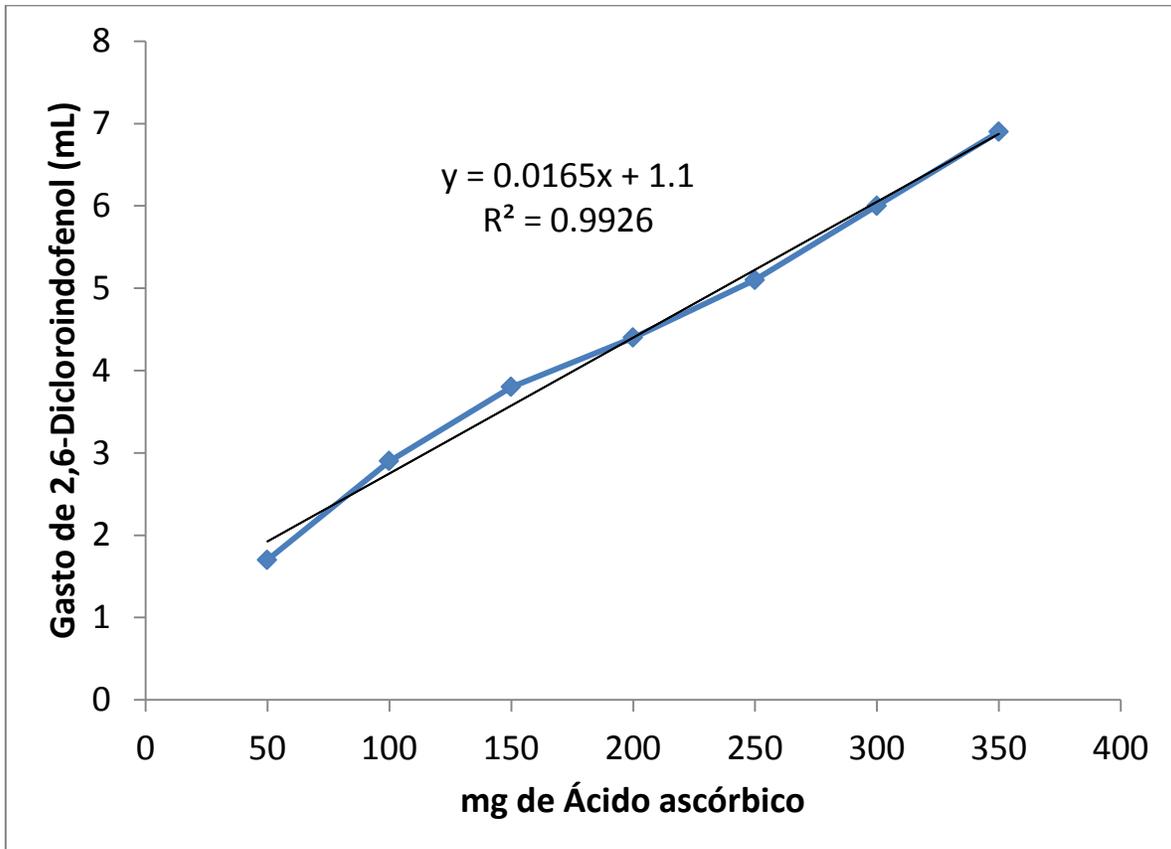


Figura 4-5. Curva Estándar para Vitamina C

5. La ecuación resultante es la siguiente;

$$Y = mx+b$$

$$Y = 0.0165X+1.1$$

Donde;

Y = mL de 2,6- Dicloroindofenol

X= μ g de ácido ascórbico

Es necesario despejar la ecuación para obtener el contenido de ácido ascórbico las muestras desconocidas.

$$X = (Y-1.1)/0.0165$$

$$\mu\text{g de ácido ascórbico} = (\text{mL de 2-6 Dicloroindofenol}-1.1)/0.0165$$

Se procedió conforme a la metodología de la AOAC (1984) por titulación con 2,6-Dicloroindofenol. Se utilizó una solución de 2 mL de jugo de pomelo en 20 mL de Ácido Oxálico 0.05%, 5 frutos por tratamiento cada tercer día durante el periodo de evaluación. Los datos se expresaron como mg/100mL de jugo.

Color: Se determinó en la zona ecuatorial en la piel de diez frutos por tratamiento al inicio del experimento y durante las cero, cuatro y ocho días después de su almacenamiento, mediante un colorímetro Hunter Lab D25A, el cual indica la lectura de color por tres valores: L, a y b, los cuales miden la luminosidad, tonalidades verde-rojo y azul-amarillo, respectivamente. Con esos valores se determino el Índice de Color de los frutos:

$$IC = (1000 \cdot a) / (L \cdot b)$$

Textura: Se determinó a partir de los valores de compresión obtenidos mediante el uso de un texturómetro, Force Five modelo FVD-30. Utilizando cinco frutos por tratamiento. Los valores obtenidos se reportarán en Newton (N) necesarios para comprimir los frutos en la zona ecuatorial

Contenido de jugo: Se determinó sobre la base del peso del fruto y el correspondiente peso del jugo (p/p) de diez frutos por tratamiento.

4.3 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El diseño experimental utilizado fue un completamente al azar, realizando el análisis de varianza correspondiente, haciendo así mismo pruebas de comparación de medias por el método de Tukey a un nivel de significancia del 5%. La unidad experimental fueron 60 frutos por tratamiento y cinco o diez repeticiones dependiendo la variable.

CAPITULO V

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Pérdida De Peso

El cuadro 5-1 muestra un incremento progresivo en la pérdida de peso al finalizar el Tratamiento Cuarentenario y durante el periodo de comercialización. En la figura 5-1 se observa mejor la evolución de la variable a través del tiempo, siendo el tratamiento de Acondicionamiento en el que las pérdidas de peso en los frutos resultaron significativamente mayores con respecto a los demás tratamientos, en donde la pérdida no fue mayor de 8.61% para los frutos encerados. El incremento que va desde 13.83%, 14.16% y 14.89%, para los días 0,4 y 8 respectivamente se debe a la temperatura de acondicionamiento en que estuvieron sometidos los frutos (17°C/7d), previo a la Temperatura de Cuarentena (1.5°C/17d), en donde la transpiración fue mayor debido a que la humedad relativa del aire durante el tratamiento fue baja, lo que provoco mayor pérdida de agua por las lenticelas de los frutos.

CUADRO 5-1. Pérdida de Peso (%) en frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C)

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 4	DIA 8
C. DIRECTA	7.22 b	7.71 b	8.54 b
ENCERADO	6.74 b	7.65 b	8.61 b
METIL JASMONATO	6.28 b	7.40 b	8.38 b
ACONDICIONAMIENTO	13.83 a	14.16 a	14.89 a
CV (%)	17.90	16.58	15.24
DMS	0.44	0.42	0.41

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 10$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

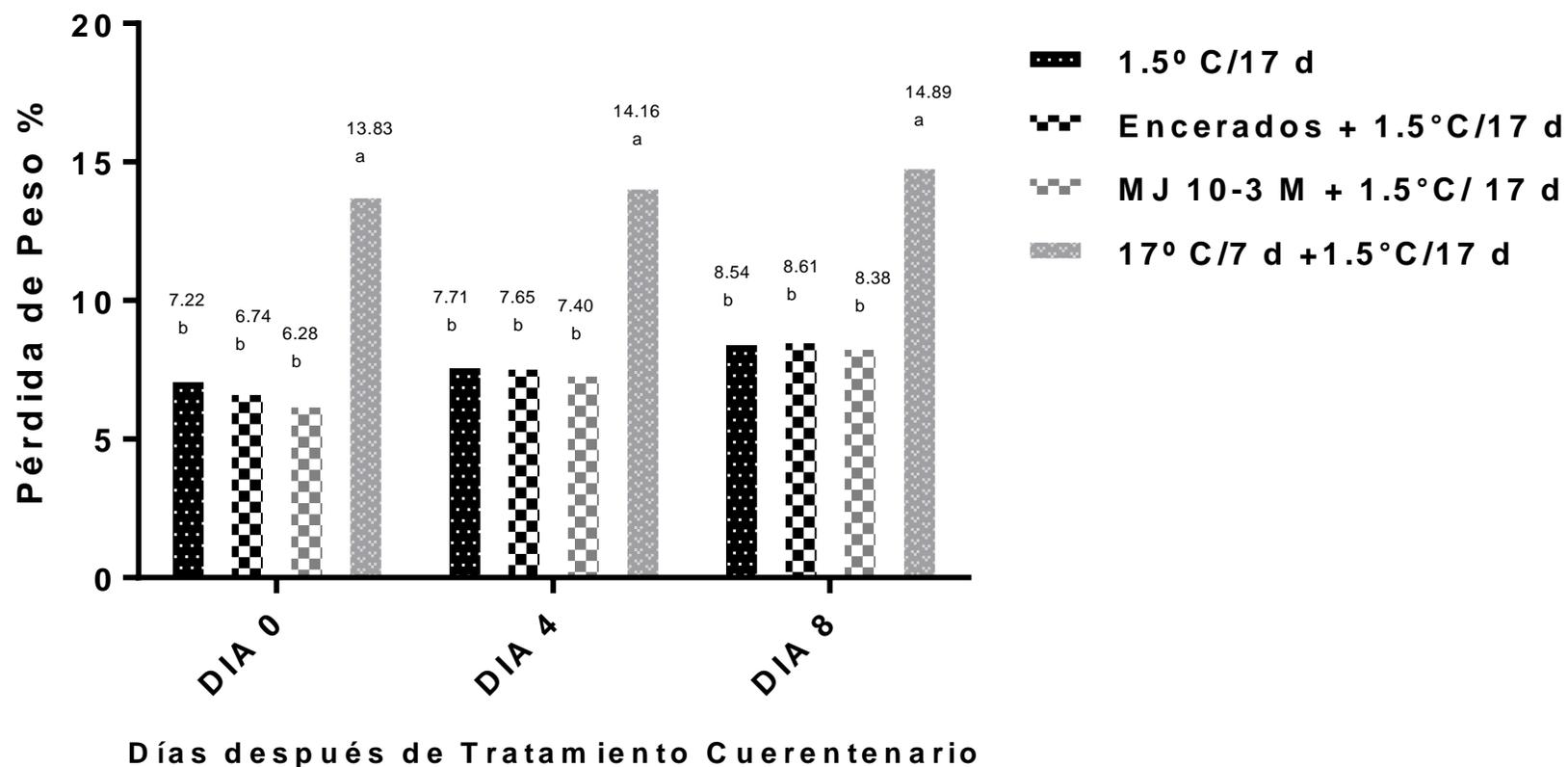


Figura 5-1. Pérdida de Peso (%) de frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C). Medias con las mismas letras entre tratamientos no presentan diferencia significativa de acuerdo a la Prueba de Tukey.

La pérdida de peso es uno de los principales factores de deterioro en cítricos durante su almacenamiento y comercialización. Cuando se utilizan tratamientos de acondicionamiento donde la temperatura se debe mantener constante por un periodo de tiempo establecido, es importante señalar que es crítico el control de la humedad relativa de la cámara de refrigeración con el fin de reducir excesivas pérdidas de agua y evitar como lo han reportado otros autores (Shirra, 1992; Cáceres *et al*, 2003) daños por frío en la fruta. En el experimento se observa que la mayor pérdida de peso se dio en pomelos con tratamiento de Acondicionamiento (**17° C/7 d +1.5°C/17 d**) y el aumento se dio al termino del mismo, debido a que la humedad relativa dentro de la cámara se encontraba en 70%.

Vázquez y Martínez (1997) determinaron que las pérdidas de agua del fruto son un indicador no destructivo de los daños por frío en limones y pomelos, antes de que los síntomas resulten visibles. Este déficit de agua se asocia con el desarrollo de grietas microscópicas alrededor de los estomas, en frutos de aspecto normal.

5.2 Firmeza

El ablandamiento, en el caso de los cítricos, proviene fundamentalmente de la pérdida de agua por transpiración, a diferencia de lo que ocurre en gran número de otros frutos en las cuales la pérdida de firmeza se debe sobre todo a la degradación durante las últimas fases de su maduración, de las sustancias pécticas y carbohidratos poliméricos que contienen.

Por esta causa, la textura de los cítricos se relaciona estrechamente con la pérdida de peso, debido a la deshidratación que experimenta durante su almacenamiento, transporte y comercialización, donde la incidencia en la calidad del fruto es mayor cuanto más sea el tiempo transcurrido desde su cosecha hasta su consumo.

El valor inicial de textura en los frutos un día después de ser cosechado fue de 26 N. En el cuadro 5-2 se puede observar que se presentó diferencia significativa entre tratamientos en los días 0 y 4 en donde la pérdida de firmeza se hizo más evidente en el tratamiento de Acondicionamiento (**17° C/7 d +1.5°C/17 d**) con valores de 18.93 y 13.66 N respectivamente. En el último día de evaluación no se presentó diferencia estadística entre tratamientos, aunque es importante señalar que el tratamiento con Metil Jasmonato (**MJ 10⁻³ M + 1.5°C/ 17 d**) fue en el que los valores de pérdida de textura se mantuvieron estables, esto se puede apreciar mejor en la Figura 5.2.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo que se reporta en las investigaciones, debido a que el tratamiento que mayor pérdida de textura generó en los frutos de pomelo fue el tratamiento de Acondicionamiento (**17° C/7 d +1.5°C/17 d**), el cual también a su vez presentó la mayor pérdida de peso provocando el ablandamiento.

CUADRO 5-2. Firmeza (N) en frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C)

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 4	DIA 8
C. DIRECTA	25.66 a	23.21 a	16.94 a
METIL JASMONATO	20.62 ab	20.84 ab	20.18 a
ENCERADO	18.98 ab	21.70 ab	15.21 a
ACONDICIONAMIENTO	17.95 b	18.01 b	17.99 a
CV (%)	18.93	13.66	17.93
DMS	7.12	5.18	5.70

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 10$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

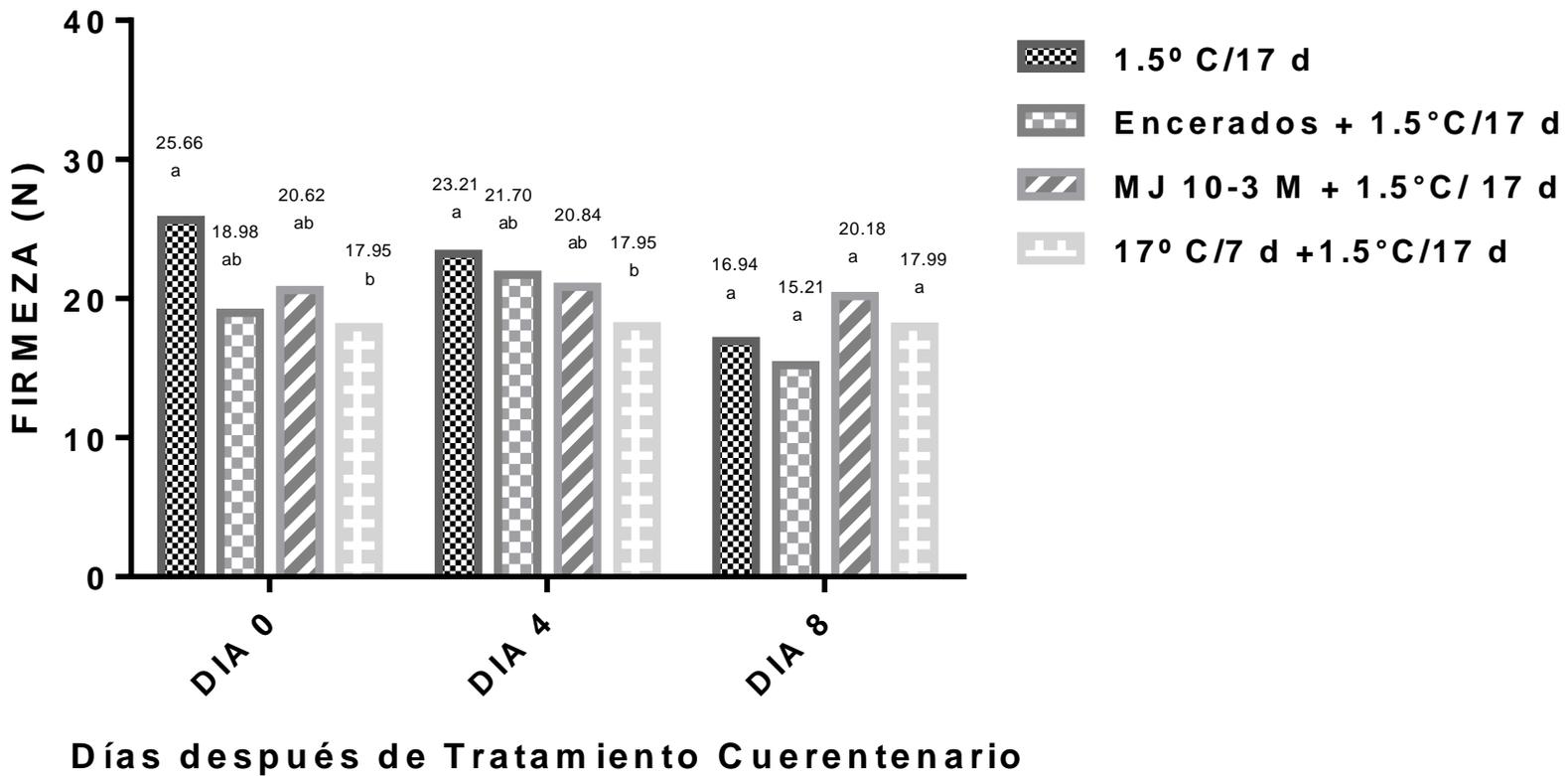


Figura 5-2. Firmeza (N) en frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C). Medias con las mismas letras entre tratamientos no presentan diferencia significativa de acuerdo a la Prueba de Tukey.

5.3 Sólidos Solubles Totales

El contenido inicial de Sólidos Solubles Totales del jugo fue en promedio de 8.60 °Brix, conforme el periodo de evaluación fue transcurriendo los resultados en los tratamientos de Acondicionamiento (**17° C/7 d +1.5°C/17 d**), Encerado (**Encerados + 1.5°C/17 d**) y Metil Jasmonato (**MJ 10⁻³ M + 1.5°C/ 17 d**) se mantuvieron constantes, solamente el tratamiento de Cuarentena Directa (**1.5° C/17 d**) reveló un aumento con valores que van desde 8.78, 8.64 y 9.40°Brix para los días 0, 4 y 8 respectivamente pero sin presentar diferencia significativa ($p < 0.05$).

Durante el periodo de comercialización se puede observar (Cuadro 5-3, Figura 5-3) lo antes mencionado, además que el análisis estadístico por día presentó diferencia significativa en el día 4 en donde el Acondicionamiento generó un valor mayor en sólidos solubles totales con respecto a los demás tratamientos.

En frutos de tipo no climatérica, la cosecha se puede realizar, ya sea en madurez de consumo o puede ser después. Tales frutos sólo muestran cambios lentos constantes en el contenido de azúcar, por lo tanto, la cosecha puede extenderse durante un largo período de tiempo sin pérdida de calidad (Biale, 1960). Los Cítricos pertenecen a este tipo de frutos y el contenido de azúcar puede mostrar un aumento inicial en el almacenamiento como resultado del metabolismo de los polisacáridos de la pared celular (Biolatto *et al*, 2005). En el jugo de pomelo, las concentraciones de azúcares, tanto en el jugo como en la cascara se incrementan inicialmente; posteriormente el contenido de azúcar en la cascara disminuye.

El comportamiento de esta variable durante el periodo de evaluación muestra que las tecnologías aplicadas para reducir el Daño por Frío no modificaron el contenido de Sólidos Solubles Totales en el jugo, esto puede estar relacionado a que el metabolismo de los polisacáridos disminuyo.

CUADRO 5-3. Sólidos Solubles Totales (°Brix) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C)

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 4	DIA 8
ENCERADO	8.96 a	8.25 b	8.42 a
ACONDICIONAMIENTO	8.92 a	9.02 a	8.75 a
C. DIRECTA	8.78 a	8.64 ab	9.40 a
METIL JASMONATO	8.54 a	8.32 b	8.42 a
CV (%)	5.32	4.39	6.88
DMS	0.88	0.79	1.27

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 5$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

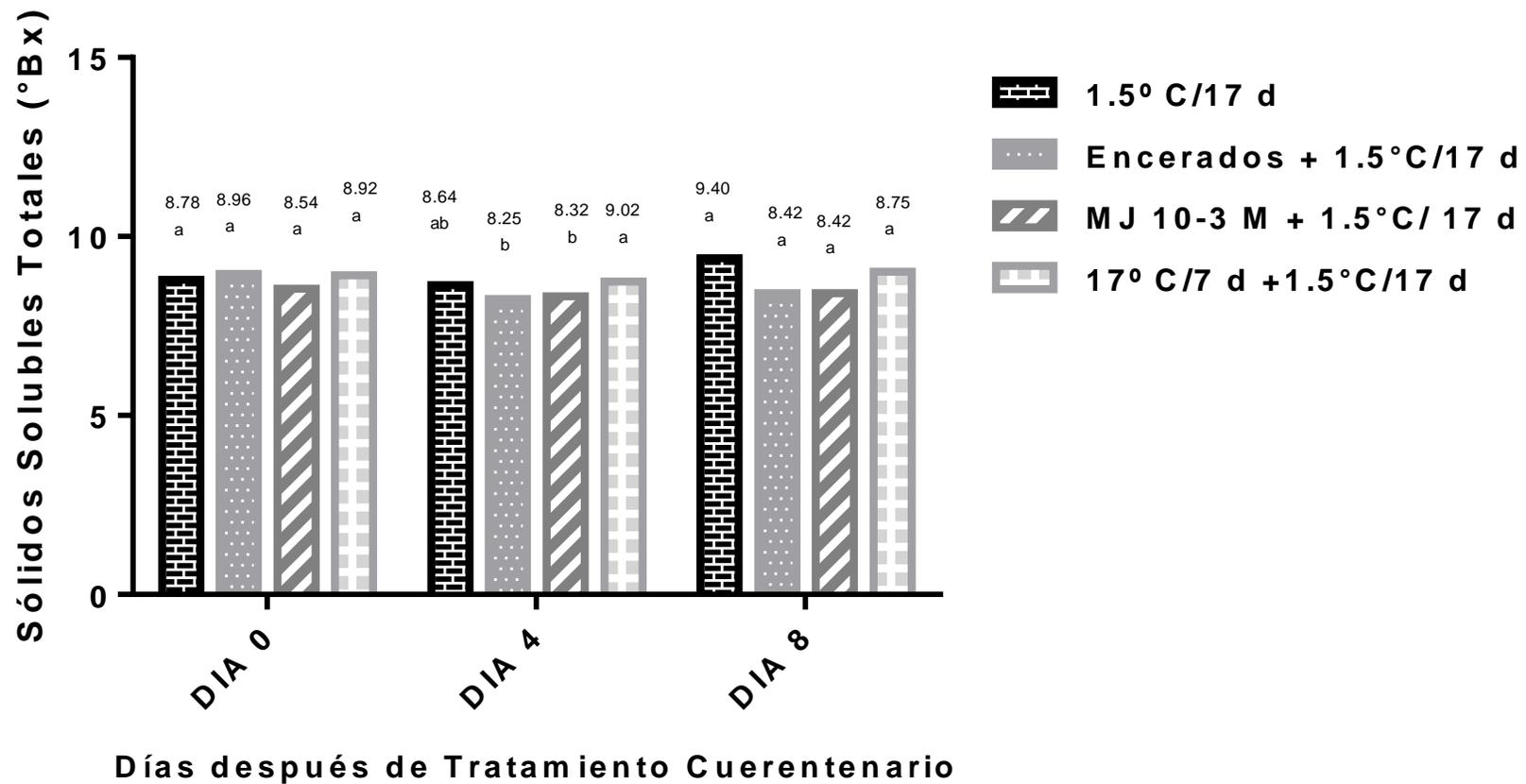


Figura 5-3. Sólidos Solubles Totales (°Brix) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C). Medias con las mismas letras entre tratamientos no presentan diferencia significativa de acuerdo a la Prueba de Tukey.

5.4 Acidez Titulable

El nivel inicial de Acidez Titulable del jugo fue en promedio de 1.2 % de Ácido Cítrico al momento de la cosecha, conforme el periodo de evaluación fue transcurriendo los resultados en los tratamientos de Acondicionamiento (**17° C/7 d +1.5°C/17 d**), Encerado (**Encerados + 1.5°C/17 d**), Metil Jasmonato (**MJ 10⁻³ M + 1.5°C/ 17 d**) y de Cuarentena Directa (**1.5° C/17 d**) reveló una disminución hasta de 0.94% y 0.98% para el encerado y la cuarentena directa respectivamente en el último día de evaluación.

Es importante señalar que la prueba estadística no presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) en el transcurso de evaluación a temperatura de comercialización. En el Cuadro 5-4 y Figura 5-4 se puede observar que en el análisis estadístico por día se presentó diferencia significativa en el día 4 en donde el Encerado (**Encerados + 1.5°C/17 d**) presentó un valor menor en % de Ácido Cítrico con respecto a los demás tratamientos.

Se ha determinado que la acumulación de los ácidos orgánicos se lleva a cabo en las vacuolas y que la disminución de los mismos se encuentra relacionada al aumentar la síntesis de los ácidos en el ciclo de Krebs y en reacciones de descarboxilación (Terdwongworakul *et al* 2009).

CUADRO 5-4. Acidez Titulable (% Ácido Cítrico) en frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C)

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 4	DIA 8
ACONDICIONAMIENTO	1.18 a	1.24 a	1.08 a
ENCERADO	1.12 a	0.82 b	0.94 a
METIL JASMONATO	1.06 a	1.08 ab	1.06 a
C. DIRECTA	1.04 a	1.04 ab	0.98 a
CV (%)	15.21	16.92	14.36
DMS	0.30	0.32	0.26

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 5$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

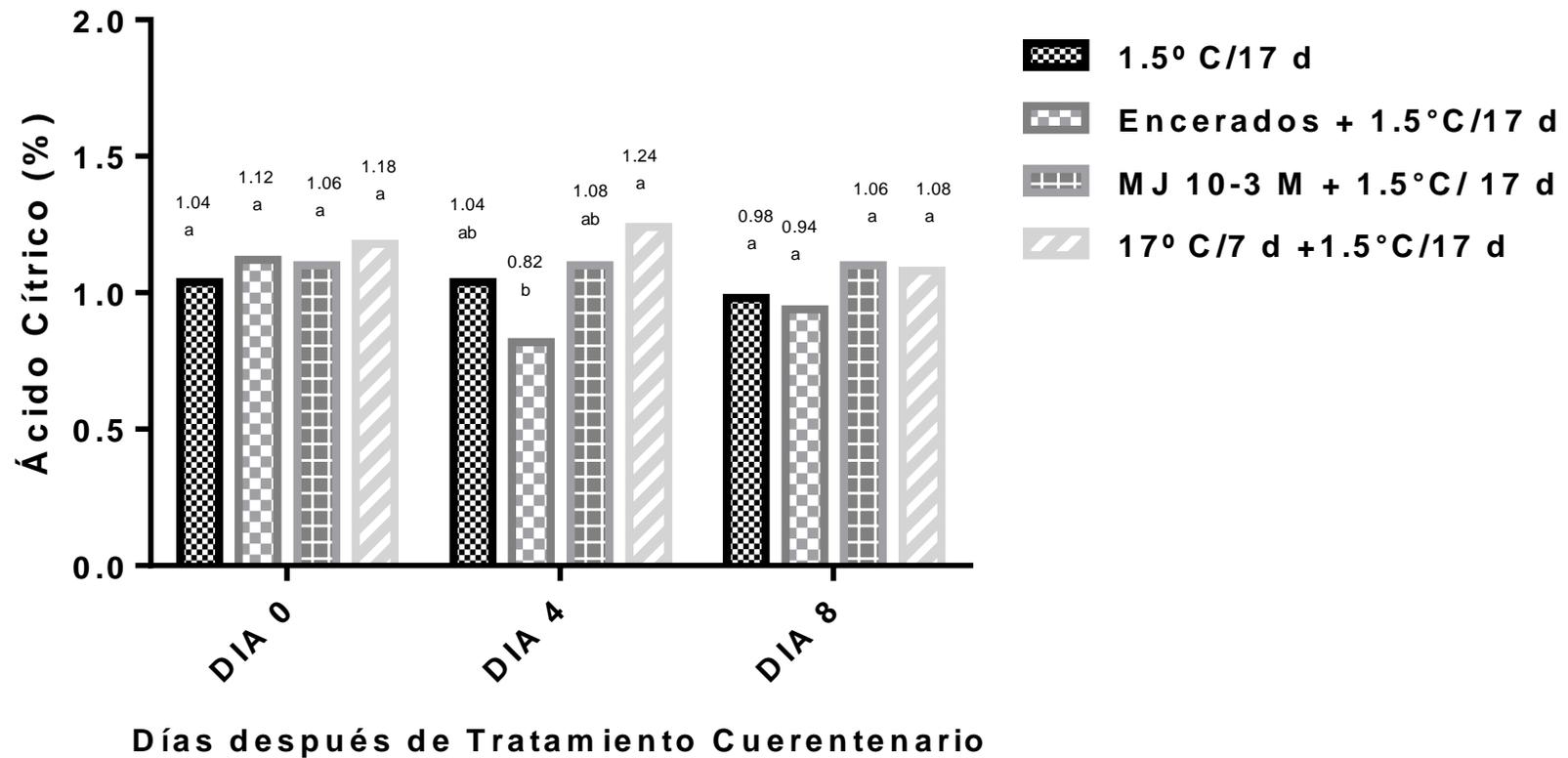


Figura 5-4. Acidez Titulable (% Ácido Cítrico) en frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C). Medias con las mismas letras entre tratamientos no presentan diferencia significativa de acuerdo a la Prueba de Tukey

5.5 Índice De Madurez

El índice de madurez de los frutos se encontraba en promedio alrededor de 7.5, los resultados muestran (Cuadro 5-5, Figura 5-5) un aumento conforme se realizaron las evaluaciones, siendo el día cuatro el único que presentó diferencia estadística entre los tratamientos, donde el Encerado (**Encerados + 1.5°C/17 d**) fue el que alcanzó un mayor valor con 10.44. Para el primer y último día de evaluación del experimento no se presentó diferencia estadística significativa entre tratamientos con valores que van desde 7.63, 7.48, 8.05 y 8.62 hasta 8.24, 8.98, 9.01 y 9.88 para el Acondicionamiento (**17° C/7 d +1.5°C/17 d**), Metil Jasmonato (**MJ 10⁻³ M + 1.5°C/ 17 d**), el Encerado (**Encerados + 1.5°C/17 d**) y Cuarentena Directa (**1.5° C/17 d**) respectivamente. El estado de madurez final de los frutos se encuentra relacionado al aumento en °Brix y disminución del contenido de ácido cítrico lo que generó un cambio en el sabor de los frutos.

CUADRO 5-5. Índice de Madurez (Brix / Acidez Titulable) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C)

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 4	DIA 8
C. DIRECTA	8.62 a	8.50 ab	9.88 a
METIL JASMONATO	7.48 a	7.91 ab	8.98 a
ENCERADO	8.05 a	10.44 a	9.01 a
ACONDICIONAMIENTO	7.63 a	7.39 b	8.24 a
CV (%)	17.98	17.62	14.59
DMS	2.67	3.19	2.70

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 5$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

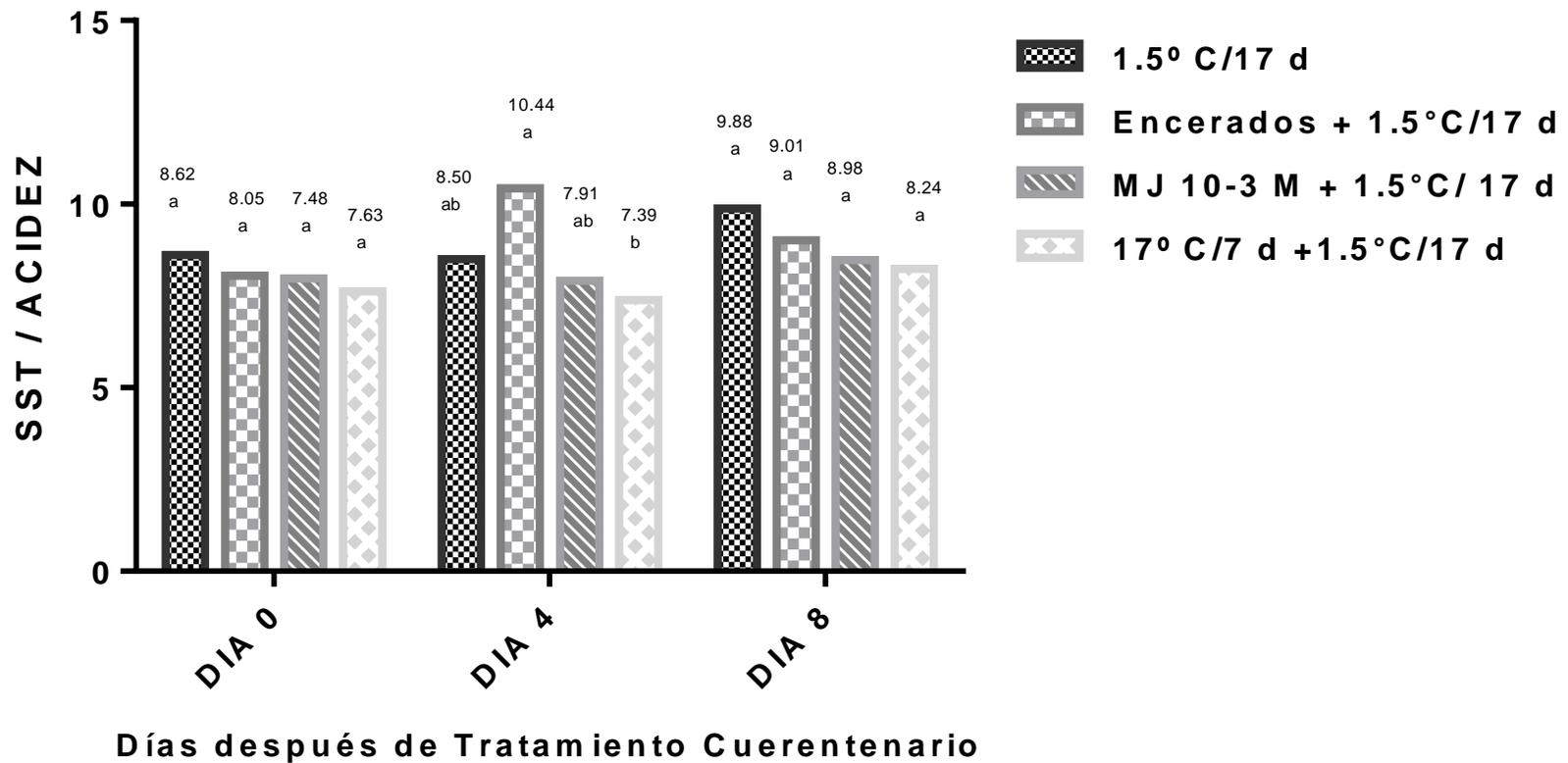


Figura 5-5. Índice de Madurez (Brix / Acidez Titulable) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C). Medias con las mismas letras entre tratamientos no presentan diferencia significativa de acuerdo a la Prueba de Tukey

Estudios sobre los cambios en la composición química de los cítricos durante su almacenamiento han reportado un aumento en sólidos solubles totales y una disminución en la acidez titulable sin presentar una diferencia estadística significativa entre tratamientos de Acondicionamiento, con recubrimientos como el Encerado o tratamientos químicos como el uso de Jasmonatos. Esto coincide con lo expresado por Obenland *et al*, 2011; Creelman *et al*, 1997; Kader, 2006 y Pailly *et al*, 2004.

5.6 Vitamina C

En la Figura 5-6 y Cuadro 5-6 se muestra la pérdida en el contenido de ácido ascórbico durante el periodo de evaluación a temperatura de comercialización por nueve días. En el primer y último día de evaluación los tratamientos presentaron diferencias significativas, en donde los frutos tratados con Metil Jasmonato (**MJ 10^{-3} M + 1.5°C/ 17 d**) fueron los que mayor pérdida presentaron con valores de 37.33 y 19.20 mg de ácido ascórbico / 100 ml de jugo respectivamente. Es importante señalar que el análisis estadístico aplicado a través del tiempo de evaluación presentó diferencia significativa en todos los tratamientos en donde se muestra la pérdida en vitamina C que presentaron los frutos hasta el último día de evaluación en donde los tratamientos con Metil Jasmonato (**MJ 10^{-3} M + 1.5°C/ 17 d**) y Acondicionamiento (**17° C/7 d +1.5°C/17 d**) fueron los que presentaron niveles más bajos.

Esta respuesta está relacionada con un efecto de oxidación del ácido ascórbico para formar ácido mono dehidroascórbico, entre otros productos, este cambio provoca pérdidas en la actividad biológica de la Vitamina C; siendo los principales factores de este cambio la concentración de oxígeno en el ambiente, pH y la temperatura (Beltiz, 1997), además del grado de madurez de los frutos.

Lo anterior podría explicar la pérdida de ácido ascórbico en los frutos sometidos a una temperatura de Acondicionamiento (17°C/7d) en donde a temperaturas elevadas generan la pérdida de la actividad biológica de la Vitamina C.

Los frutos tratados con 10^{-3} M de Metil Jasmonato presentaron pérdidas en el contenido de ácido ascórbico como se encuentra reportado en la literatura. Estos resultados concuerdan con los reportados por González *et al*, 2007 y Lorenzo *et al*, 2007 en sus respectivas investigaciones.

CUADRO 5-6. Vitamina C (mg de ácido ascórbico / 100 ml de jugo) en frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C)

TRATAMIENTO	DIA 0		DIA 4		DIA 8	
C. DIRECTA	46.13 a	A	25.60 a	C	36.53 a	B
ACONDICIONAMIENTO	43.20 ab	A	28.53 a	B	22.93 bc	B
ENCERADO	42.93 ab	A	22.66 a	B	33.06 ab	C
METIL JASMONATO	37.33 b	A	24.00 a	B	19.20 c	B
CV (%)	8.29		32.94		21.48	
DMS	6.36		15.02		10.85	

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Medias con la misma letra en cada fila son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 5$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

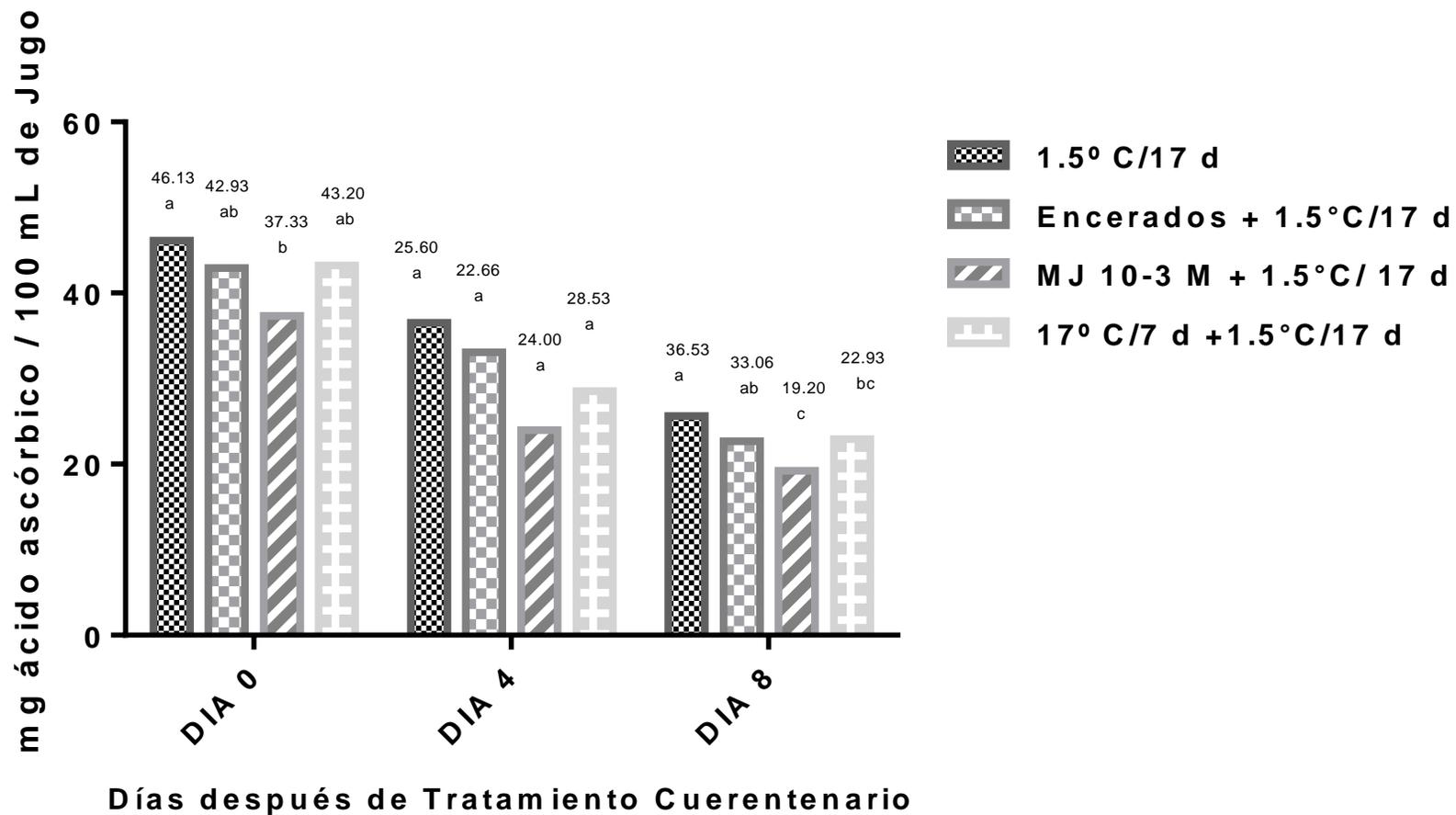


Figura 5-6. Vitamina C (mg de ácido ascórbico / 100 ml de jugo) en frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y después de 9 días a Temperatura de Comercialización (9°C). Medias con las mismas letras entre tratamientos no presentan diferencia significativa de acuerdo a la Prueba de Tukey

5.7 Índice De Color

Se evaluaron los cambios en el color de la cáscara en los frutos de pomelos con base a un índice de color específico para cítricos definido por $IC = (1000 \cdot a) / (L \cdot b)$ (Figura 5-7), el cual proporciona una excelente correlación entre la apariencia visual y la instrumental en un intervalo de colores comprendido entre el verde oscuro (valores negativos) y naranja intenso (valores positivos).

Después de analizar los datos (Cuadro 5-7), el análisis estadístico mostro que no se presentaron diferencias estadísticas significativas en ningún caso por efecto de los tratamientos durante el periodo de evaluación que se determino para el experimento, presentándose poca variación en cuanto al índice al inicio y al final con valores para el Acondicionamiento (**17° C/7 d +1.5°C/17 d**) de 16.88 hasta 15.82, para la Cuarentena Directa (**1.5° C/17 d**) de 16.25 hasta 13.86, para el Encerado (**Encerados + 1.5°C/17 d**) de 14.95 hasta 15.62 y para Metil Jasmonato (**MJ 10⁻³ M + 1.5°C/ 17 d**) de 14.59 hasta 15.11.

Para el caso de esta variable el daño por frio es un factor que no afecta el color de los frutos, por lo que no es un factor de calidad limitante para la aplicación de tratamientos Cuarentenarios.

CUADRO 5-7. Índice de Color ($IC = (1000 \cdot a) / (L \cdot b)$) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).

TRATAMIENTO	A. INICIAL	DIA 0	DIA 4	DIA 8
ACONDICIONAMIENTO	16.88 a	15.00 a	14.11 a	15.82 a
C. DIRECTA	16.25 a	16.61 a	17.71 a	13.86 a
ENCERADO	14.95 a	22.06 a	21.12 a	15.62 a
METIL JASMONATO	14.59 a	14.33 a	14.68 a	15.11 a
CV (%)	48.71	38.85	35.80	47.99
DMS	9.19	8.07	7.28	8.73

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 10$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

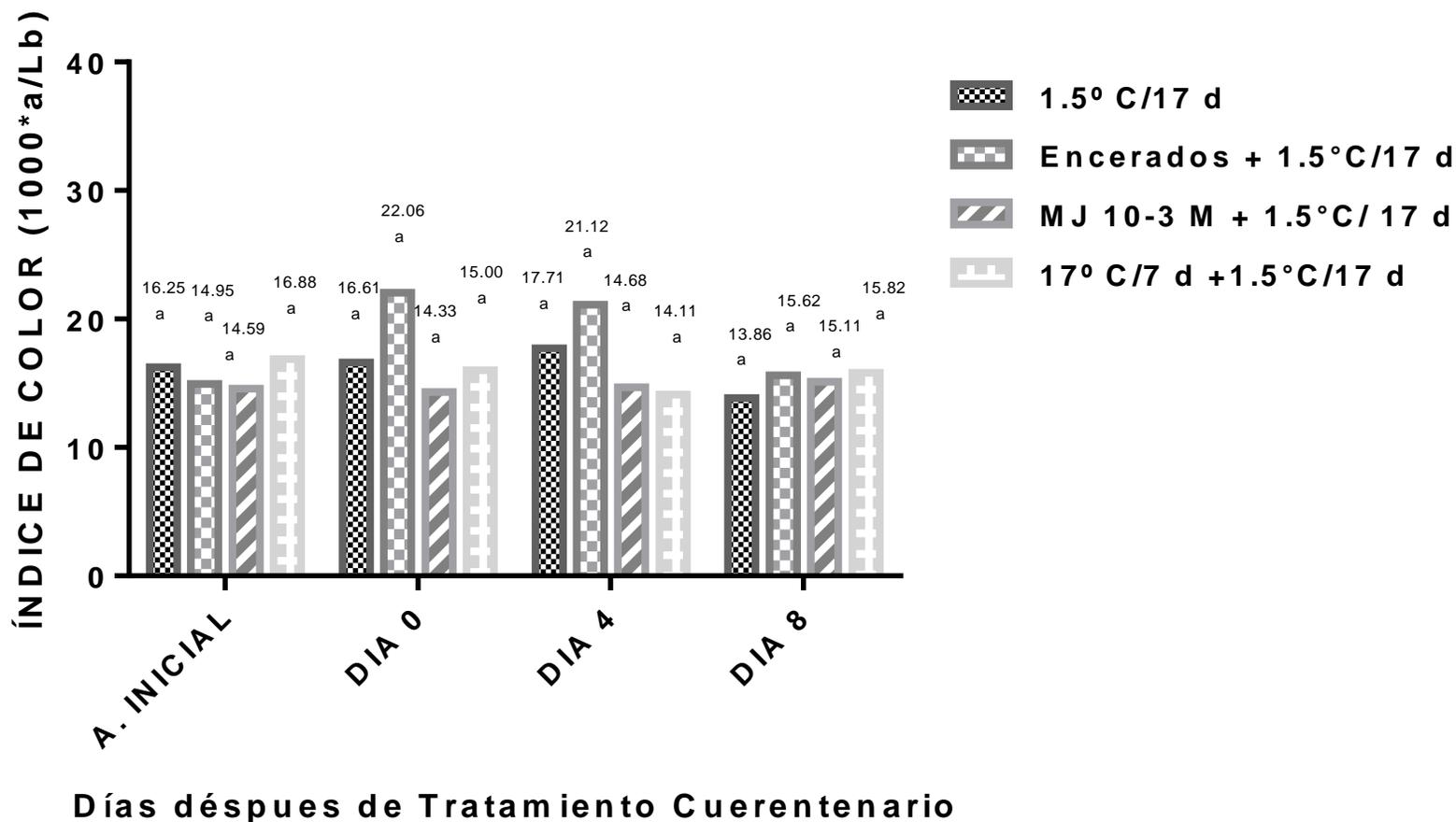


Figura 5-7. Índice de Color $IC = (1000 \cdot a) / (L \cdot b)$ en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C). Medias con las mismas letras entre tratamientos no presentan diferencia significativa de acuerdo a la Prueba de Tukey

5.8 Acetaldehído

De acuerdo con los resultados obtenidos (Cuadro 5-8) después de analizar los datos se observa que el tratamiento de Cuarentena Directa (**1.5° C/17 d**) fue el que mayor acumulación de compuestos volátiles generó en el fruto y presentó diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos con valores de 66, 40.56 y 36.53 $\mu\text{g} / 100 \text{ ml}$ de jugo para los días 0, 4, 8 de evaluación respectivamente. Esto es lógico debido a que los tejidos sensibles al frío y sometidos a bajas temperaturas, presentan un desbalance metabólico que es evidenciado por la acumulación de diferentes metabolitos. Y en el caso de los frutos que no recibieron un tratamiento para disminuir los daños por frío se hizo más evidente.

CUADRO 5-8. Acetaldehído ($\mu\text{g} / 100 \text{ ml}$ de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 4	DIA 8
C. DIRECTA	66.00 a	40.56 a	36.53 a
METIL JASMONATO	29.92 b	27.12 ab	22.93 bc
ENCERADO	26.00 b	26.96 ab	33.06 ab
ACONDICIONAMIENTO	9.36 b	13.36 c	19.20 c
CV (%)	8.29	18.28	21.48
DMS	6.36	8.47	10.85

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 5$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

5.9 Etanol

Los resultados muestran (Cuadro 5-9) que los frutos sometidos a condiciones de Cuarentena Directa (**1.5° C/17 d**) fueron los que más compuestos volátiles acumularon durante el periodo de evaluación y presentaron diferencia estadística significativa con respecto al tratamiento de Encerado (**Encerados + 1.5°C/17 d**) y Metil Jasmonato (**MJ 10⁻³ M + 1.5°C/ 17 d**).

CUADRO 5-9. Etanol (mg / 100 ml de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 4	DIA 8
TESTIGO	203.52 a	157.43 a	48.03 a
ENCERADO	57.54 b	52.32 b	46.63 a
METIL JASMONATO	54.89 b	-	-
CV (%)	28.09	36.24	23.16
DMS	15.81	55.44	15.99

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 5$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

Los frutos encerados acumularon etanol debido a que se modifica la atmosfera interna del fruto incrementando el contenido de CO₂, aunque es importante señalar que al disminuir los daños por frío generados en los frutos la acumulación de compuestos volátiles fue baja con respecto a la cantidad de etanol que se presentó en los frutos con Cuarentena Directa. El tratamiento con Metil Jasmonato presentó acumulación de etanol al día 0 mientras que el Acondicionamiento no presentó, esto se puede relacionar a dos factores:

- el primero es que los compuestos generados pudieron seguir otra ruta metabólica para la generación de otros compuestos aromáticos
- Según Plank, 1941, estableció que la máxima acumulación de compuestos tóxicos en los tejidos vegetales se da a una temperatura baja (en el experimento 1.5°C), pero como un mecanismo de defensa de los tejidos vegetales al transferirlos a una temperatura más alta (en el experimento 9°C), son capaces de desprender los compuestos tóxicos, esto apoyado por la gran volatilidad del etanol, aunque cabe señalar que los datos obtenidos no son suficientes para comprobarlo.

En cítricos el nivel de ambos compuestos volátiles se encuentra asociado con la presencia de daño por frío (Lyons, 1973). La concentración interna de etanol y acetaldehído se encuentra en función de la variedad, grado de madurez, espesor del recubrimiento, duración y tiempo de almacenamiento.

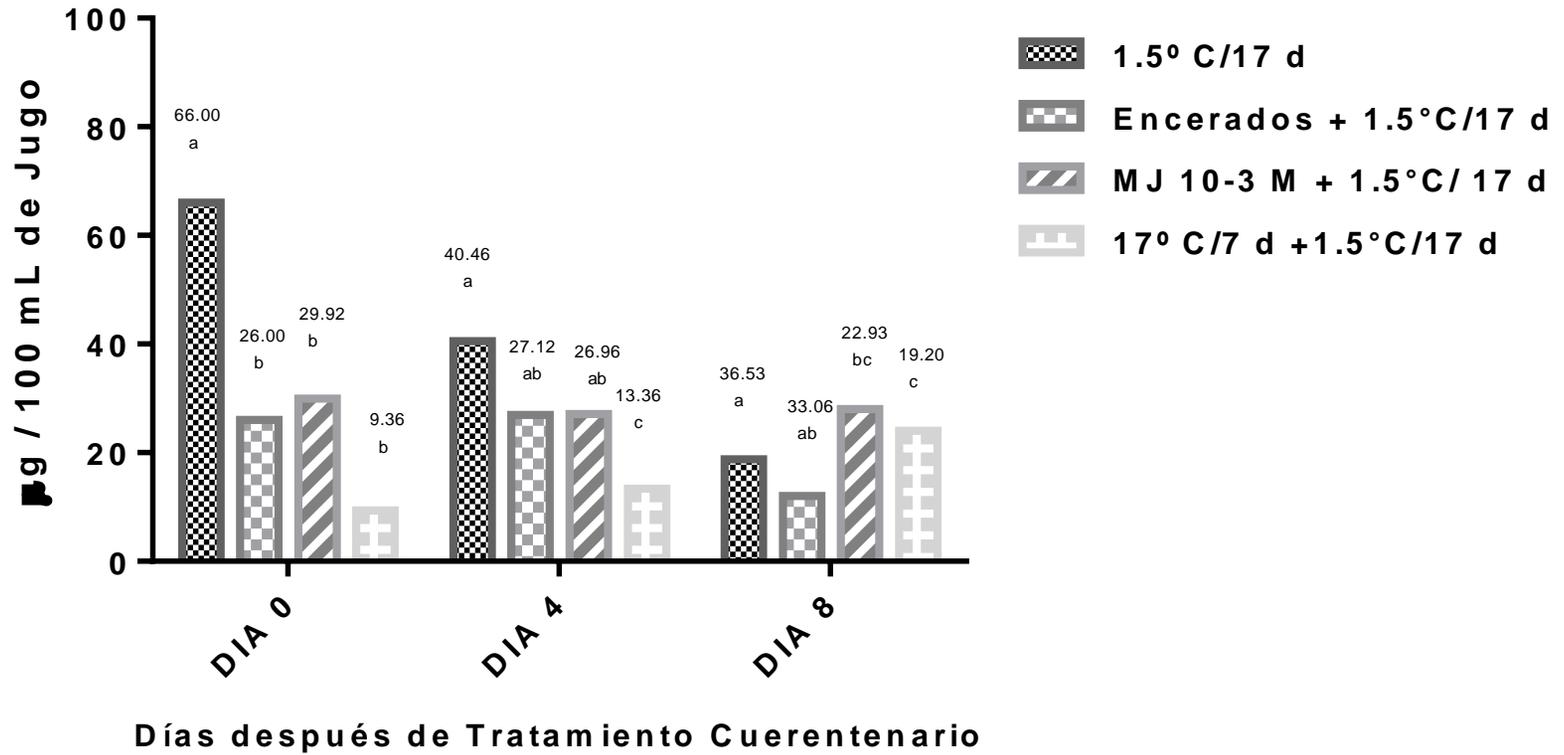


Figura 5-8. Acetaldehído ($\mu\text{g} / 100 \text{ ml}$ de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario ($1.5^\circ \text{C}/17 \text{ d}$) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C). Medias con las mismas letras entre tratamientos no presentan diferencia significativa de acuerdo a la Prueba de Tukey

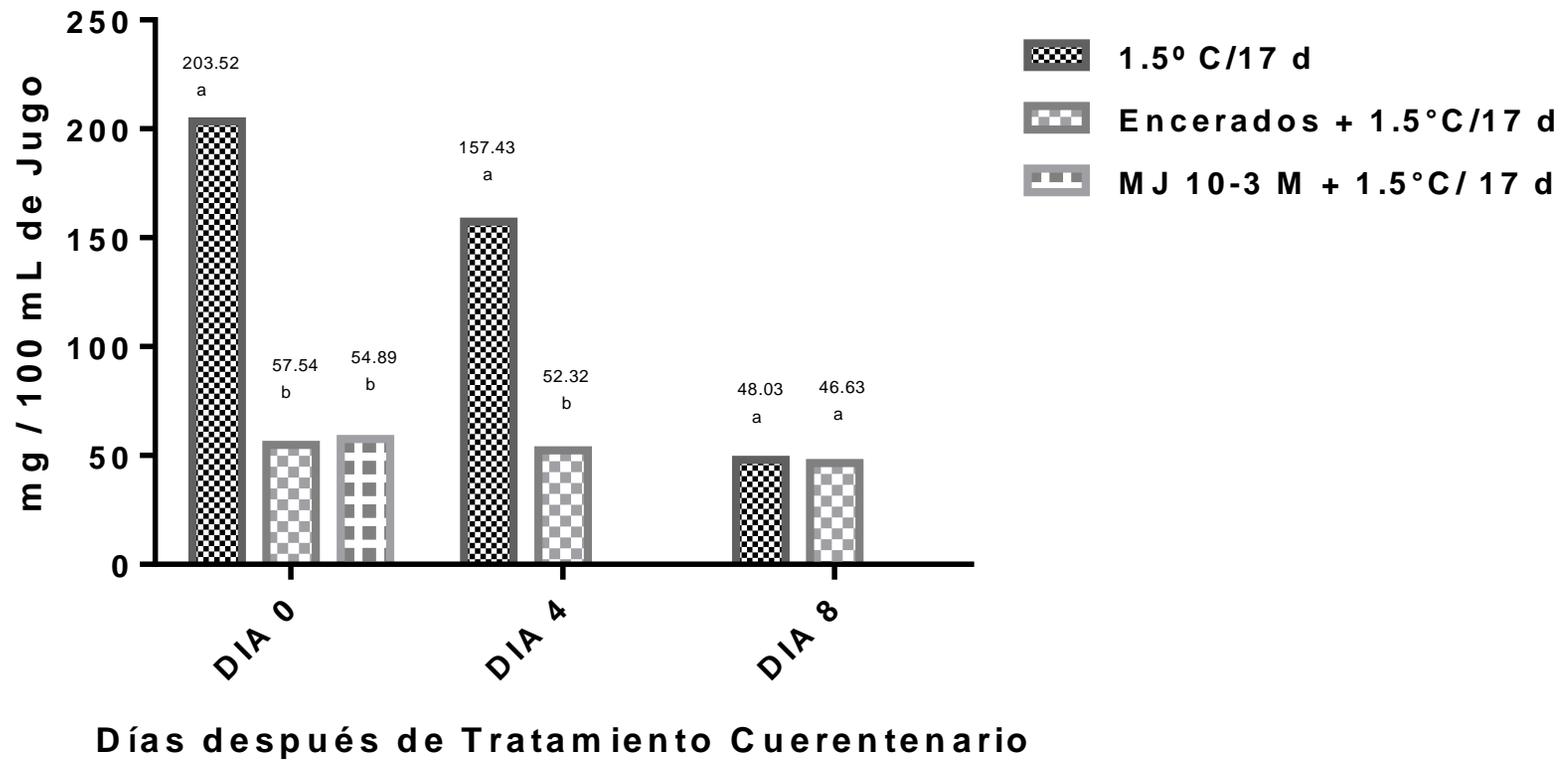


Figura 5-9. Etanol (mg / 100 ml de jugo) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C). Medias con las mismas letras entre tratamientos no presentan diferencia significativa de acuerdo a la Prueba de Tukey

Distintos investigadores mencionan que el encerado de los frutos y el tiempo de almacenamiento provocan un incremento de etanol debido al incremento de CO₂ y una reducción del oxígeno interno (Hagenmaier, 2002). La aplicación de cera bloquea el intercambio gaseoso lo suficiente para disminuir la concentración de oxígeno al punto que la respiración aeróbica es al menos parcialmente reemplazada por la fermentación anaeróbica (Obenland *et al*, 2011). Esto es un factor a considerar al momento de formular la concentración de sólidos en la cera, debido a que se debe encontrar el punto óptimo donde el recubrimiento disminuya los daños por frío en los frutos y por consiguiente se disminuya la concentración de productos volátiles.

Del Rio *et al*, 1992 encontró en pomelos que el nivel de compuestos volátiles fue mayor a temperaturas más bajas de conservación. Martínez-Jávega *et al*, 1992 reportó que durante el almacenamiento de mandarinas Fortune a bajas temperaturas se producían importantes aumentos en el nivel de estos compuestos, coincidiendo con la manifestación de daños por frío.

Marcilla *et al* (2009) y Hagenmaier, (2002) ambos presentaron datos que vinculan la degradación del sabor que se produce en mandarinas a una acumulación de etanol en la fruta. El etanol puede ser un potenciador de sabor si está presente en bajas cantidades pero se cree que afecta adversamente el sabor si está presente en cantidades más altas. Se ha reportado que a partir de valores de 200 mg de etanol / 100 ml de jugo se presentan malos sabores que afectan la calidad del fruto. En el experimento los valores de etanol máximos encontrados fueron de 203.52, 157.43 y 48.03 mg / 100 ml de jugo para los días 0, 4 y 8 respectivamente para los frutos sometidos a Cuarentena Directa por lo que sería complicado relacionarlos con la aparición de sabores extraños debido a que no superaron en gran medida el valor que se encuentra reportado.

5.10 Daños Por Frío

Con el fin de evaluar el efecto de cada tratamiento sobre la sensibilidad en frutos expuestos a una temperatura de Cuarentena (**1.5°C/17d**) a los daños por frío se comparó la incidencia y severidad de estos durante el periodo de refrigeración establecido (Cuadro 5-10, Figura 5-10). La sintomatología presentada fue la formación de manchas en áreas discretas de la piel que se colapsan formando lesiones profundas de color café con diverso grado de severidad.

En cada tratamiento el daño pro frío aumentó en función del tiempo de evaluación siendo en el día 8 de análisis en donde se presentó una diferencia estadística significativa en donde el mayor grado de severidad 3 corresponde a los frutos que fueron sometidos al tratamiento de Cuarentena directa y presentaron un manchado entre el 10 al 20% de la superficie del fruto. El tratamiento de Acondicionamiento (**17° C/7 d +1.5°C/17 d**) no logró mitigar el daño por frío en los frutos debido a que presentaron un grado de severidad 2 con un manchado disperso menor al 10%. El uso de Encerado (**Encerados + 1.5°C/17 d**) y Metil Jasmonato (**MJ 10⁻³ M + 1.5°C/ 17 d**) previo a la temperatura de cuarentena disminuyeron la severidad del desorden fisiológico.

El Índice de Daño por Frío (IDF) también fue aumentando conforme el tiempo de evaluación fue transcurriendo (Figura 5-11). Los frutos sometidos al tratamiento de Cuarentena Directa presentaron en el día 8 un IDF del 73% con un grado de severidad 3, los frutos sometidos a temperatura de Acondicionamiento presentaron un IDF del 60% con un grado de severidad 2, y los tratamientos mejores resultados dieron al darle resistencia al frío a los frutos fueron el Encerado y Metil Jasmonato con un IDF de 46% y 33% y un grado de severidad de 1.60 y 1.33.

CUADRO 5-10. Grado de Severidad de Daños por Frío (1 = Frutos que no presentan daños; 2 = Manchado disperso menor al 10% (Daño Ligero); 3= Manchado entre 10 al 20% (Daño Moderado); 4 = Manchado mayor al 20% (Daño Severo) en frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 4	DIA 8
C. DIRECTA	1.20 a	2.00 a	3.00 a
ACONDICIONAMIENTO	1.40 a	1.60 a	2.03 b
ENCERADO	1.26 a	1.53 a	1.60 b
METIL JASMONATO	1.26 a	1.33 a	1.33 b
CV (%)	5.86	5.20	9.83
DMS	0.45	0.71	0.68

Medias con la misma letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con $n = 5$, CV= Coeficiente de Variación, DMS= Diferencia Mínima Significativa.

La susceptibilidad de los cítricos a bajas temperaturas depende de la especie y variedad, siendo pomelos y limones los más sensibles (Guerra, 1996). Además influyen numerosos factores tanto previos a la cosecha como posteriores a ella. Entre ellos se incluyen: el patrón, condiciones ambientales, tratamientos durante el cultivo, condición del árbol, madurez de la fruta, así como la temperatura y tiempo de exposición.

Cabe señalar que la manifestación de los daños por frío puede no ocurrir durante el periodo de exposición a las bajas temperaturas sin embargo, éstos se hacen más evidentes al transferir los frutos a temperaturas normales de maduración o de comercialización.

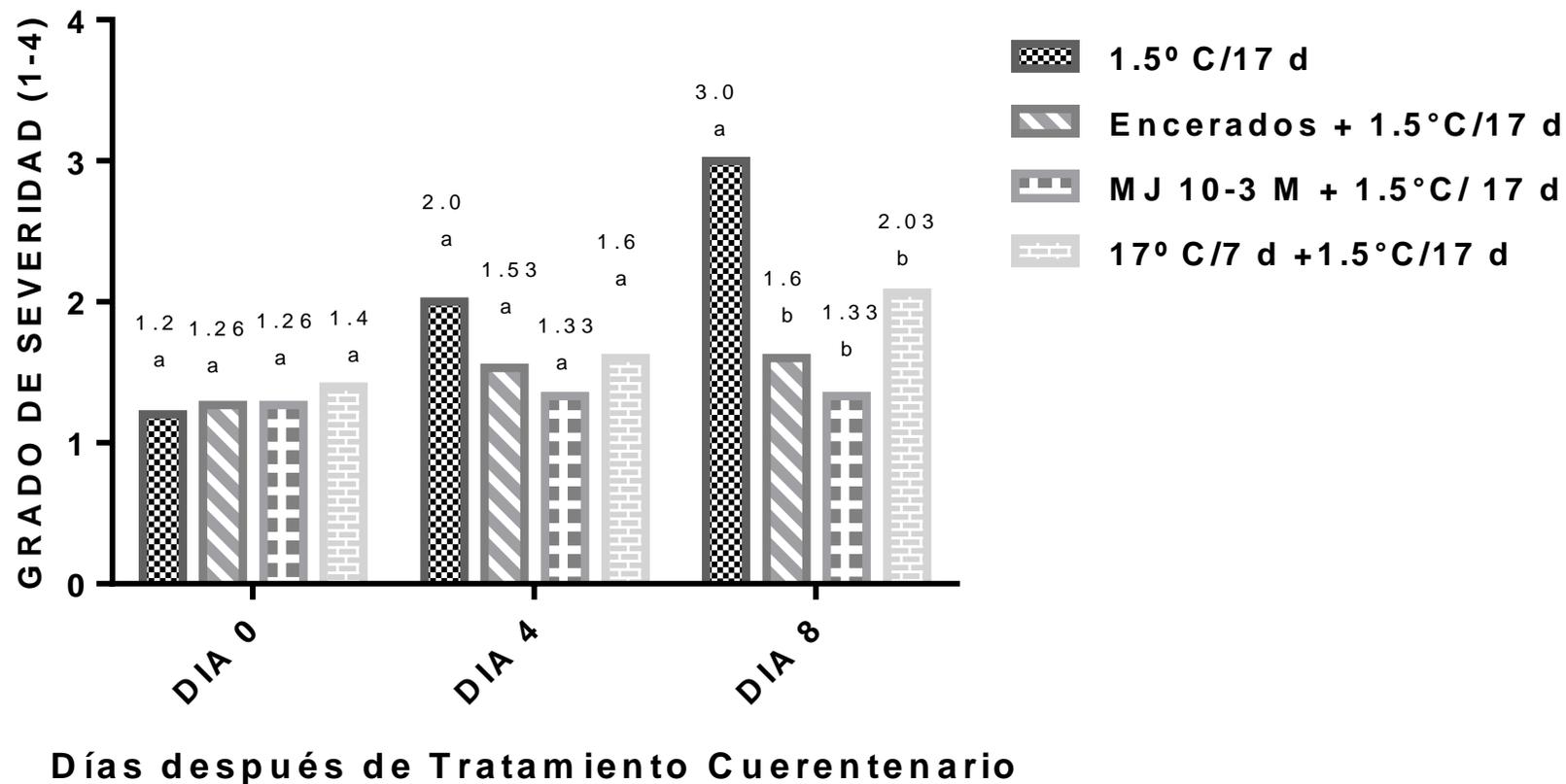


Figura 5-10. Grado de Severidad de Daños por Frío (1 = Frutos que no presentan daños; 2 = Manchado disperso menor al 10% (Daño Ligero); 3= Manchado entre 10 al 20% (Daño Moderado); 4 = Manchado mayor al 20% (Daño Severo) en frutos de pomelo ‘Rio Red’ al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C)

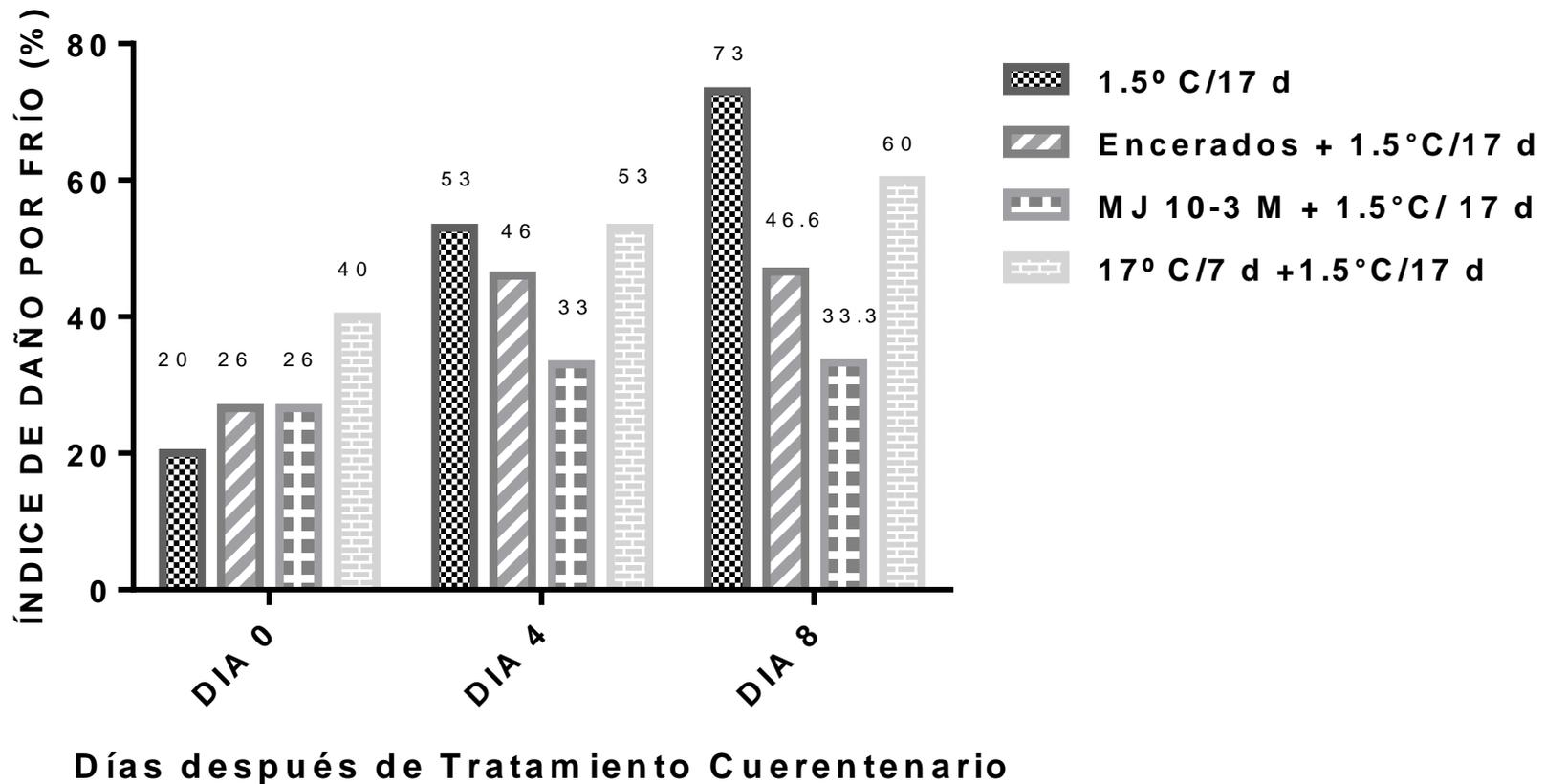


Figura 5-11. Índice de Daños por Frío (IDF = No de frutos con daños por frío / No total de frutos * 100) en frutos de pomelo 'Rio Red' al finalizar el Tratamiento Cuarentenario (1.5° C/17 d) y análisis por 8 días a Temperatura de Comercialización (9°C).

El mecanismo de control del tratamiento de Acondicionamiento para darle resistencia al frío a los frutos se basa en que las membranas celulares están compuestas por diversos lípidos, todos ellos con diferente punto de congelación dependiendo de su grado de saturación; a medida que éstas son expuestas a temperaturas progresivamente más bajas la composición de estos lípidos puede cambiar, de tal manera que aquellos con bajo punto de congelación dominarán en la cáscara del fruto. Cuando los frutos son sometidos a temperaturas elevadas (15 – 40°C) previo a un almacenamiento a bajas temperaturas se somete a estos a un ligero estrés de agua en la piel que induce a un aumento de ácido abscísico (ABA) el cual, para el caso de pomelos modifica el balance de los reguladores de crecimiento y éste a su vez el metabolismo bioquímico y biofísico del mecanismo de resistencia a daños por frío (Lyons, 1973).

En el experimento el tratamiento de Acondicionamiento **(17° C/7 d +1.5°C/17 d)** no fue tan efectivo en disminuir los daños por frío generados en los frutos debido a que se generó una elevada pérdida de agua en los mismos por una alta transpiración, este fenómeno además de reducir el peso de los frutos favorece el manchado de la cascara (pitting) e induce cambios indeseables en la textura.

El mecanismo de control del Encerado en los frutos se basa en que es posible retardar la madurez y/o senescencia de los frutos debido a que las ceras establecen una atmósfera interna en los espacios intercelulares de los frutos provocando bajas presiones parciales de O₂ y etileno (C₂H₄) y/o elevadas de CO₂ y vapor de agua, las cuales frenan el metabolismo, reducen la transpiración y retrasan el deterioro causado por los daños por frío del fruto a conservar (Kader 2006).

Como se mencionó anteriormente las pérdidas de agua del fruto por transpiración son un indicador no destructivo de los daños por frío en cítricos, antes de que los síntomas resulten visibles. La aplicación del Encerado **(Encerados + 1.5°C/17 d)** en los frutos previo al tratamiento de Cuarentena redujo los daños por frío en un 30 %, esto concuerda con los resultados obtenidos en mandarinas (Cáceres *et al*, 2003), en naranja (Locaso *et al*, 2007) y en toronjas (Meza, 2001).

Los tejidos vivos son capaces de activar una amplia gama de mecanismos de defensa en respuesta al estrés por frío. Dentro de las respuestas inmediatas que se generan se encuentran la acumulación de ciertas hormonas, apertura de canales iónicos, síntesis de óxido nítrico, fosforilación y desfosforilación de proteínas e inducción de genes (Ronald, 1998).

La activación de los genes altera las rutas metabólicas, síntesis de proteínas, fosforilación de las paredes celulares, acumulación de ácido benzóico, ácido sialicílico (SA), ácido abscísico (ABA), etileno y ácido jasmónico (JA), este último responsable de la síntesis de Metil Jasmonato (MJ) (Bol *et al*, 1990). El péptido sistemina, JA, ABA, etileno y SA, están implicados en una red de señales que conllevan a la activación de los inhibidores de proteinasas y otros genes de respuesta al estrés. Condiciones bajo estrés activan las rutas de señalización de ácido jasmónico, etileno, SA, auxinas y ABA, estas rutas se combinan de distintas formas para que las respuestas finales sean distintas y específicas para cada estrés y estímulo (Rojo *et al*, 2003).

Diversos estudios han encontrado que las aplicaciones de Metil Jasmonato mantienen más altos los niveles de espermidina y espermina, los cuales han sido reportados como reductores de la peroxidación de lípidos, inhibidores de la actividad de enzimas degradantes y estabilizadoras de las estructuras de membrana (Wang, 1994).

Además de que induce cambios en la expresión de genes que codifican a la enzima oxidasa alternativa, así como en las enzimas implicadas en la defensa frente al estrés oxidativo. El aumento de los niveles de estas enzimas por Metil Jasmonato se ha correlacionado con una menor incidencia de daño por frío (Lorenzo et al 2007). Lo anterior explicaría porque los frutos de pomelo tratados con Metil Jasmonato (**MJ 10^{-3} M + 1.5°C/ 17 d**) previo a la temperatura de Cuarentena lograron disminuir en un 40% los daños por frío.

5.11 Contenido De Jugo

Esta variable se determinó en los frutos de pomelo un día después de ser cosechados como un indicador que mostrara si la fruta se encontraba en el momento óptimo para ser cosechados. En este aspecto la normativa es más concreta y determina contenidos mínimos exigibles para cada variedad o grupo de variedades, expresados en porcentaje de jugo el cual se refiere a la relación peso del jugo / peso del fruto. Para el caso de pomelo en México el Pliego de condiciones para la Toronja que deben cumplir los productores que deseen estar certificados con la marca México Calidad Suprema, establece un contenido mínimo de jugo del 45%.

El contenido de jugo en los frutos se encontraba en un 40% muy cercano a lo que exige el pliego de condiciones. En el caso de la Postcosecha, el contenido de jugo disminuye de forma paralela a la textura debido a la deshidratación del fruto durante su conservación en cámaras de refrigeración. Por ello, en almacenamientos prolongados o transportes de larga duración puede llegar a ser, como la firmeza, un factor de calidad limitante.

CAPITULO VI

6. CONCLUSIONES

1. El someter a un tratamiento de cuarentena por bajas temperaturas (1.5°C / 7d) a los frutos de pomelo 'Rio Red' conlleva a la aparición de desordenes fisiológicos o daños por frío.
2. La incidencia y severidad del daño por frío generado en el flavedo de los frutos varía en función de la tecnología utilizada para mitigar el desorden fisiológico.
3. El tratamiento de Acondicionamiento, fue el que menor efecto tuvo en cuanto a disminuir los daños por frío en los frutos, tanto en incidencia y severidad, debido a que aumentó considerablemente la pérdida de peso. Debido a las condiciones de este tratamiento es necesario tener un control adecuado en los niveles de humedad relativa dentro de la cámara de refrigeración, para favorecer el control del desorden fisiológico.
4. El tratamiento de Encerado disminuyó la manifestación del daño por frío en los frutos. Aunque es necesario tomar en cuenta que el porcentaje total de sólidos solubles no debe exceder del 18%, si el fruto va a ser comercializado inmediatamente, o del 10% si va a ser conservado a baja temperatura; en todo caso, cuando es superior al 8% existe la posibilidad de aparición de alteraciones fisiológicas y malos sabores (etanol y acetaldehídos) derivados de una fermentación alcohólica.
5. Los resultados obtenidos en las variables biofísicas y bioquímicas en los tratamientos con Metil Jasmonato y Encerado mostraron que las diferencias no fueron significativas por lo que cualquiera de estos puede ser recomendado como una tecnología para disminuir los daños por frío en los frutos expuestos a tratamientos de Cuarentena Directa

6. En general el daño por frío no afectó la calidad del jugo debido a que las variables de Sólidos Solubles Totales, Acidez Titulable, la Relación Sólidos Solubles Totales / Acidez Titulable se mantuvieron sin diferencias significativas a lo largo del periodo de evaluación; al igual que el índice de Color de los frutos en donde no se presentó algún cambio significativo.
7. La variable que presentó mayor cambio a través del tiempo en todos los tratamientos fue la Vitamina C. Esto significa que la pérdida de valor nutricional del pomelo es muy acelerado después de ser cosechado, por lo que sería necesario considerar acortar los tiempos de exposición a temperatura de Cuarentena para disminuir la pérdida de ácido ascórbico en los frutos.
8. Los niveles de compuestos volátiles (acetaldehído y etanol) que se generaron en los frutos no fueron un buen indicador para relacionarlos con los daños por frío presentes en los frutos en cada tratamiento utilizado para disminuirlos, en comparación con resultados obtenidos en diferentes investigaciones.

CAPITULO VII

7. LITERATURA CITADA

- Agusti, M., 2004, Citricultura, Mundi-Prensa, Madrid, España
- Alferez F, Zacarias L, Burns JK. 2005. Low relative humidity at harvest and before storage at high humidity influence the severity of postharvest peel pitting in Citrus. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130(2): 225-231.
- Almaguer, V, G., 1998., Fruticultura General, Mundi-Prensa, Tercera Edición, México, DF
- Alonso. M., M.A. Del Río., J.A. Jacas. 2005. Carbon dioxide diminishes cold tolerance of third instar larvae of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) in 'Fortune' mandarins: implications for citrus quarantine treatments. *Postharvest Biology and Technology*. 36:103-111.
- AOAC. 1984. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 13 th. Ed. Arlington, V. 1023p.
- AOAC. 1988. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 14 th. Ed. Arlington, V. 1023p.
- Artés, F. 1987. Refrigeración y comercialización hortofrutícolas en la Región de Murcia. II Edición. Ed. CEBAS-CSIC. 150p.
- Artés, F, Velázquez, P y Marín, J.P. 1998. Reduction of decay Chilling injuries in cold stored oranges. En. *Non conventional Methods for the control of Postharvest Disease and Microbial Spoilage*. Ed. European Commission. Bertolini, P; Sijmons, P.C; Guerzoni, M.E and Serra, F. 243-248p.
- Artés, F. 1999. Avances en los tratamientos post-cosecha para la conservación en fresco de limón y pomelos. *Levante Agrícola, Especial post-cosecha*. (38), 348:289- 294.
- Belitz, W. G. 1997. Química de los alimentos. Editorial ACRIBIA, Zaragoza, España. 567 páginas
- Biale, J.1960. Citrus fruits. En: A.C.Hulme(ed). *The Biochemistry of Fruits and Their Products*. Academic Press. Inc. London. pp. 107-169.

- Biolatto. A., D. E. Vazquez., A. M. Sancho., F.J. Carduza and N. A. Pensel. 2005. Effect of commercial conditioning and cold quarantine storage treatments on fruit quality of 'Rouge La Toma' grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.). *Postharvest Biology and Technology*. 35: 167-176.
- Blée E. 2002. Impact of phyto-oxylipins in plant defense. *Trends in Plant Science* 7, 315- 322.
- Bol, J.F; H. J. Linthorst. M; B. J. Cornelissen. C. 1990. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. *Annu. Rev. Phytopatology*, 28:113-118.
- Brady, C. J, 1987. Fruit Ripening. *Ann. Rev. Plant Physiol*; 38:155-178.
- Cáceres. I., J. M. Jávega., J. Cuquerella., M. A. Del rio, y P. Navarro, 2003, Influencia del encerado en la calidad de mandarina (*clemenules*) procedentes de sistema de producción integrada, *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 5:113-116.
- Chifflet. M., D. Martínez and J. Franco. 1999. Tratamientos Cuarentenarios por bajas temperaturas en la exportación de cítricos, p. 88-93. Crescenciano Saucedo Veloz y Reginaldo Báez Sañudo, *Requerimientos de Tratamientos Cuarentenarios en Frutas Tropicales y Subtropicales*, ISBN, México. D.F
- Coggins. C. W. J. 1986. Fruit development and senescence. In: *Citrus Flowering, Fruit set and development*, p. 15-20. J. J. Ferguson. *Fruit Crops Dep.Univ of Fla. And Inst. Food Agric. Sci. USA*.
- Come, D. 1998. Cellular and metabolic effects of cold on fruits and vegetable. *Procc. of Madrid 98- Cost 915. Conference Physiological and Technological aspects of gaseous and thermal treatments of fresh fruits and vegetable*.
- Creelman RA, Mullet JE. 1997. Biosynthesis and actions of jasmonates in plants. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48, 355-381.
- Cuquerella. J., P. Navarro. 1997. Medidas objetivas de calidad en frutos cítricos con tratamiento de cuarentena por frío, p. 10-15. Crescenciano Saucedo Veloz y Jose Maria Martínez Jávega. *Medición de la Calidad en Frutos Tropicales y Subtropicales con Tratamientos Físicos de Cuarentena*. ISBN. México.
- Davies, P.L and W.G. Chace Jr. 1969. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of headspace. *HortScience*. 4:117-119.

- De la Cruz. J., P. Hernández., A. Rebolledo, y H. García, 2007, Efecto de la Aplicación de Metil Jasmonato sobre la Fisiológica Postcosecha de Piña, Revista Chapingo, 17:42–50.
- Del Río, M.A; Cuquerella, J; Ragone, M. L. 1992. Effects of postharvest curing at high temperature on decay and quality of 'Marsh' grapefruits and 'Navel' oranges. Proc. Int. Soc. Citriculture. 3: 181-183.
- Dhondt S, Geoffroy P, Stelmach BA, Legrand M, Heitz T. 2000. Soluble phospholipase A2 activity is induced before oxylipin accumulation in tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves and is contributed by patatin-like enzymes. Plant Journal 23, 431-440.
- Frederick. S. A, L. G. Albrigo, 1994, Cítricos, Acribia, Zaragoza, España
- Follet. A. P and L. G. Neven. 2006. Current Trends in Quarantine Entomology. Annual Reviews Entomol. 51: 359-385.
- Garza. G. R, J.E.P. Chávez, J. M. R. Díaz, J. A. S. Salas, L. V. Palacios, H. V. Elizondo, 1993, Guía para el cultivo de los cítricos en Nuevo León, Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, No. 1
- Guerra, F. 1996. Tecnología post-cosecha de frutos cítricos. Curso integral de citricultura. Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical. p:242-257.
- Gonzales. G., R. Z. Gatica, y M. E. T. Hernández, 2007, Efecto del Metil Jasmonato en la Respuestas Fisiológicas de guayaba (*Psidium guajaba*) almacenada a bajas temperaturas, Revista Chapingo, 13:63–69.
- Göbel C, Feussner I, Schmidt A, Scheel D, Sanchez-Serrano JJ, Rosahl S. 2001. Oxylipin profiling reveals the preferential stimulation of the 9-lipoxygenase pathway in elicitor-treated potato cells. Journal of Biological Chemistry 276:67-73.
- Goldschmidt. E. E. 1988. Regulatory aspects of cloro-chromoplast interconversions in senescing fruit peel. Hort. Sci. 37:123-130.
- Grierson. D. 1987. Senescence in Fruits. HortScience; 22:859-862.
- Hallman. J. G. 2010. Efficacy of Delayed Atmospheric Modification in a Heat/Modified Atmosphere Phytosanitary Treatment. Journal of Economic Entomology, 103:34-39.

- Hagenmaier, R.D. 2002. The flavor of mandarin hybrids with different coatings. *Postharvest Biol. Technol.* 24:79-87.
- Howe GA. 2004. The roles of hormones in defense against insects and disease. In: Davies PJ, ed. *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action*. Cornell University, NY, USA, 610-634.
- Hyde. J., G. Jurch., E. Baldwin and E. Echeverria. 1999. Low temperature induction of acid invertase activity in flavedo tissue of late season grapefruit (*Citrus paradisi*). *Scientia Horticulturae*. 80: 49-56.
- Kader. A. A, 2006, *Modified atmospheres during transport and storage*, *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, 1:149-163
- Krishana .P.P, and Haq. N, 2007, Variation of pomelo (*Citrus grandis*) in Nepal and participatory selection of strains for further improvement, *HortScience*, 72:195–204.
- Lee S, Suh S, Kim S, Crain CR, Kwak JM, Nam HG, Lee Y. 1997. Systemic elevation of phosphatidic acid and lysophospholipid levels in wounded plants. *The Plant Journal* 12, 547-556.
- Locaso. E. D., M. C. Cruaños., M. S. Velázquez, y M.O Pisonero, 2007, Conservación de Naranja con un recubrimiento formulado con terpenos obtenidos a partir de (*Pinus Elliotis*), *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 18:153-173.
- Lorenzo, M., J, González., G, Michelena, 2007, Métodos de Metilación de Jasmonatos y Análisis por Cromatografía Gaseosa ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de azúcar, *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 41:39-41.
- Loussert. R, 1992, *Los Agrios*, ed. Mundi – Prensa, Madrid, España.
- Luchisinger, L. 1999. Exigencias cuarentenarias para exportación de frutos tropicales y subtropicales. Ed. Mundi. 5 p.
- Lindhout K, Treeby MT, Parish RW. 2004. Chill out: Chilling-related injuries in navel oranges. *Acta Horticulturae* 687: 77-84.
- Lyons, J.M, 1973. Chilling Injury in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24:455-466.

- Mañez. F. V. 1997. Normalización e inspección de frutos cítricos españoles con tratamiento de cuarentena, p. 1-10. Crescenciano Saucedo Veloz y José María Martínez Jávega. Medición de la Calidad en Frutos Tropicales y Subtropicales con Tratamientos Físicos de Cuarentena. ISBN. México.
- Marcilla, A. M. Martínez; J.M. Carrot; L. Palou. 2009. Relationship between sensory and physico-chemical quality parameters of cold-stored 'Clemenules' mandarins coated with two commercial waxes. Span. J. Agric. Res. 7:181-189.
- Martínez. J. M, 2006, Innovaciones en tratamientos postcosecha con gases, Acta Horticulturae, 2:439-451
- Martínez-Jávega. J.M; M.A. Del Río; M. Mateos; C. Saucedo Veloz. 1992. Influence of storage temperature and coating on the keeping quality of 'Fortune' mandarins. Proc. Int. Soc. Citriculture. 3:1102-1103.
- Martínez. J.M. 1999. Uso de Bajas Temperaturas para Exportación de Frutas Cítricas Españolas, p. 127- 142. Ricardo Elesbao Alves. Crescenciano Saucedo Veloz. Exigencias Cuarentenarias para Exportación de Frutas Tropicales y Subtropicales. ISBN. México.
- Maul. P., G. McCollum., C. L. Guy and R. Porat. 2011. Temperature conditioning alters transcript abundance of genes related to chilling stress in 'Marsh' grapefruit flavedo. Postharvest Biology and Technology. 60:177-185.
- Maul. P., M. Mccollu, T. Gregory., M. I. C. K. Popp, and C. L. Guy, 2008, Transcriptome profiling of grapefruit flavedo following exposure to low temperature and conditioning treatments uncovers principal molecular components involved in chilling tolerance and susceptibility, Plant, Cell & Environment, 31:752 -768.
- Mercado, S, E., L, R, Contreras., P, B, Bautista., L, C, Juárez, 2005, Avances en el Tratamiento del Daño por Frío en Frutos de Guayaba (*Psidium Guajava*), p10-18, Crescenciano Saucedo Veloz y Reginaldo Baez Sañudo, Requerimientos de Tratamientos Cuarentenarios en Frutas Tropicales y Subtropicales, ISBN, México. D.F.
- Meza, R. J, 2001. Tecnologías para Disminuir Sensibilidad al Frío en Frutos de Toronja con Cuarentena por Bajas Temperaturas, Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo de México.

- Moraga. L. M., G. Moraga, and N. Martinez, 2010, Effect of the re-use of the osmotic solution on the stability of osmodehydro-refrigerated grapefruit, *LWT - Food Science and Technology*, 44:35–41.
- Narváez-Vásquez J, Florin-Christensen J, Ryan CA. 1999. Positional specificity of a phospholipase A activity induced by wounding, systemin and oligosaccharide elicitors in tomato leaves. *The Plant Cell* 11:49-60.
- Neven, L. G., E. M. Yahia, and G. J. Hallman, 2009, Modified and controlled atmospheres for the storage, transportation, and packaging of horticultural commodities, *J. Econ*, 133: 1002-1010
- Neven. L. G., L. R. Ray, and D. Obenland, 2006, Confirmation and efficacy tests against codling moth and oriental fruit moth in peaches and nectarines using combination heat and controlled atmosphere treatments, *J. Econ*, 99: 1610-1619.
- Obenland, D; S. Collin; B. Mackey; J. Sievert. 2011. Storage temperature and time influence sensory quality of mandarins by altering soluble solids, acidity and aroma volatile composition. *Postharvest Biology and Technology*, 59:187-193.
- Palacios. J, 2005, *Citricultura, Alfa-Beta, Tucumán Argentina*, pp. 71,72.
- Pailly. O., G. Tison and A. Amouroux. 2004. Harvest time and storage conditions of 'Star Ruby' grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) for short distance summer consumption. *Postharvest Biology and Technology*. 34:65-73
- Palou. L., J.A. Jacas., A. Marcilla. M. Alonso and M. A. Del Río. 2008. Physico-chemical and sensory quality of 'Clemenules' mandarins and survival of the Mediterranean fruit fly as affected by complementary cold and carbon dioxide quarantine treatments. *Postharvest Biology and Technology*. 48:443-450.
- Pérez, B., E. Bringas., L. Cruz., R. B. Sañudo, 2005, Evaluación de Cera Comestible en Mango "Tommy Atkins" Destinado a la conservación para el turismo Parte I: Efecto en las características Físico – Químicas, *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 7:24-32.
- Porat. R., D. Pavoncello., J. Peretz., S. Ben-Yehoshua and S. Lurie. 2000. Effects of various heat treatments on the induction of cold tolerance and on the postharvest qualities of 'Star Ruby' grapefruit. *Postharvest Biology and Technology*. 18:159-165.

- Royo J, Vancanneyt G, Pérez AG, Sanz C, Störmann K, Rosal S, Sánchez-Serrano JJ. 1996. Characterization of three potato lipoxygenases with distinct enzymatic activities and different organ-specific and wound-regulated gene expression. *Journal of Biological Chemistry* 271:12-19.
- Rojo, E. R; J. J. Sanchez-Serreano. 2003. Interactions between signaling compounds involved in plant defense. *Journal of Plant Growth Regulation*, 22:82-98
- Ronald, P. 1998. Resistance gene evolution. *Curr. Opin. Plant Biology*, 1:294-298.
- Sanchez-Ballesta MT, Lluch Y, Gosalbes MJ, Zacarias L, Granell A, Lafuente MT. 2003 A survey of genes differentially expressed during long-term heat-induced chilling tolerance in Citrus fruit. *Planta* 218(1): 65-70.
- Schirra. M. 1992. Behavior of 'Star Ruby' grapefruits under chilling and non-chilling storage temperature. *Postharvest Biology and Technology*. 2: 315-332.
- Schirra. M., G. D. Hallewin., P. Cabras., A. Angioni., S. Ben-Yehoshua and S. Lurie. 2000. Chilling injury and residue uptake in cold-stored 'Star Ruby' grapefruit following thiabendazole and imazalil dip treatments at 20 and 50°C. *Postharvest Biology and Technology*. 20:91-98.
- Sapitnitskaya. M., P. Maul., G.T. McCollum., L.G. Charles., W. Batia., S. Alon, and R. Porat, 2006, Postharvest heat and conditioning treatments activate different molecular responses and reduce chilling injuries in grapefruit, *Food Sci. Technol*, 57: 2943–2953.
- Tuset, J.J. 1999. Perspectiva del control de las podredumbres en la post-cosecha de cítricos. *Levante Agrícola. Especial de post-cosecha*. p. 272 -280.
- Vázquez, D., J.M. Martínez. 1997. Determinación de parámetros relacionados con la sensibilidad al frío de frutos cítricos, p. 29-36. Crescenciano Saucedo Veloz y Jose Maria Martínez Javega. *Medición de la Calidad en Frutos Tropicales y Subtropicales con Tratamientos Físicos de Cuarentena*. ISBN. México.
- Vincent, J.M. 1999. Bases para la puesta a punto de un tratamiento de cuarentena contra moscas de las frutas, *Ceratitis capitata Wied* en naranjas Salustianas. Universidad Politécnica de Valencia – Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Tesis de Maestría, p 102.

Terdwongworakul. A., A. Puangsombat, and S. Pathaveerat, 2009, Qualitative and Quantitative evaluation of pomelo maturity using multivariate combination of chemical and physical properties, *Journal of Experimental Botany*, 40:584–605.