

Efecto de 1-metilciclopropeno y temperatura de almacenamiento en la poscosecha de mandarina (*Citrus reticulata* L.) var. Arrayana

1-methylcyclopropene and storage temperature effect in postharvest of mandarin (*Citrus reticulata* L.) var. Arrayana

Carlos A. Gómez ¹, Aníbal O. Herrera ², Víctor J. Flórez ³

Originales: Recepción: 06/10/2014- Aceptación: 08/06/2015

RESUMEN

La producción de mandarina dentro del grupo de los cítricos tiene un aporte significativo en Colombia. El uso del 1-metilciclopropeno (1-MCP) inhibe la acción del etileno y es una práctica común para prolongar la vida poscosecha de productos perecederos. En frutos cítricos, especialmente en mandarina var. *Arrayana*, no se tiene caracterizado el efecto del 1-MCP en combinación con temperatura de almacenamiento. Por tanto, es importante establecer el efecto del 1-MCP y de la temperatura de almacenamiento sobre el comportamiento poscosecha del fruto de mandarina (*Citrus reticulata* L.) var. *Arrayana* cosechados en madurez comercial. Para este estudio se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial 3 x 2: con temperaturas de almacenamiento de 6, 12 y 18°C (ambiente) como primer factor y la presencia o ausencia de 1-MCP (0,5 µL L⁻¹ con 2 h de tratamiento) como segundo factor. Se midieron las variables sólidos solubles totales, tasa respiratoria, acidez total titulable, firmeza, clorofila total e índice de color cada 7 días durante 34 días de almacenamiento. A los 22 días de almacenamiento, independientemente de la aplicación de 1-MCP, el tratamiento a 12°C estimula cambios en la coloración de la epidermis, mayor degradación de clorofilas y mayor índice de color. A esta temperatura no se presenta daño por frío y no es importante la aplicación de 1-MCP. No obstante, a temperaturas menores (6°C) la conservación es mayor, el desverdizado es lento y se presenta menor índice de color, lo que conlleva a mayor tiempo de conservación. De acuerdo con los resultados, la temperatura de 12°C es adecuada para el desverdizado de mandarina var. *Arrayana* hasta los 22 días de almacenamiento, y 6°C es una temperatura alternativa para almacenamientos más prolongados, hasta de 34 días; manejos poscosecha no reportados anteriormente para esta variedad.

Palabras clave

fisiología • poscosecha • retardantes de maduración • conservación • fruto no climatérico

Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Colombia-Sede Carrera 45.
N° 26-85. Bogotá. Colombia.

- 1 M. Sc. Agrarias con énfasis en Fisiología de Cultivos, Estudiante de Doctorado. cagomezg@unal.edu.co; cagomezgun@gmail.com
- 2 Profesor Asociado. aoherreraa@unal.edu.co
- 3 Profesor Asociado. vjflorezr@unal.edu.co

ABSTRACT

Mandarin accounts for a significant part of citrus production in Colombia. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) inhibits the action of ethylene and constitutes a common practice for extending the postharvest life of perishable products. In citrus fruits, especially tangerine var. Arrayana, the effect of 1-MCP in combination with storage temperature has not been characterized. It is therefore important to establish the effect of these two combined factors on the postharvest behavior of mandarin fruits (*Citrus reticulata* L.) var. *Arrayana* harvested at commercial maturity. A completely randomized design with a 3 x 2 factorial arrangement was employed for the study: the first factor corresponded to storage temperatures of 6, 12 and 18°C (room temperature), while the second factor was the presence or absence of 1-MCP (0,5 µL L⁻¹ for two hours). The fruits were kept in storage room for a period of 34 days, during which total soluble solids, respiratory rate, total titratable acidity, firmness, total chlorophyll and color index were assessed every 7 days. After 22 days of storage, and regardless of the application of 1-MCP, 12°C treatment stimulate fruit skin discoloration and increased chlorophyll degradation and color index. At this temperature, no frost damage occurred and the application of 1-MCP was not important. However, at temperatures below 6°C, lower degreening and color index values were observed, thus leading to longer shelf life times. According to the results, 12°C is a suitable temperature for the degreening of tangerine var. *Arrayana* until 22 days of storage; and 6°C is an alternative temperature for longer storage times, up to 34 days. No postharvest management had been previously reported for this variety.

Keywords

physiology • postharvest • ripening retardants • conservation • non-climacteric fruit

INTRODUCCIÓN

La mandarina (*Citrus reticulata* L.) es uno de los cítricos más representativos en Colombia con una producción y área sembrada para el 2013 de 127.450 toneladas y 8.844 hectáreas, respectivamente. Para el año 2014, el departamento con mayor participación en producción y área sembrada fue Santander con 6.670 hectáreas y producción de 103.432 toneladas que corresponde al 81,16% nacional. El rendimiento promedio nacional es de 14,4 ton/ha, lo que aporta al sector de los cítricos un 37,7%; del cual el 43,4% se destina al mercado interno (2, 20). A pesar de ser el producto

más dinámico dentro de los cítricos, la mandarina presenta variación anual en el área cosecha del 6 %. Sin embargo, es necesario reducir las pérdidas poscosecha, que afectan la competitividad del sector, las cuales oscilan entre 12 y 25% dependiendo del nivel tecnológico del sistema de producción (1, 11, 23, 24). Para esto, se requiere entender los factores fisiológicos relacionados con el deterioro y perecibilidad de los frutos que pueden estar asociados, entre otros, con el alto contenido de agua, la tasa respiratoria y la sensibilidad al etileno, a pesar de ser un fruto no climatérico (3, 9). Es decir, que

la tasa de respiración y producción de etileno después de la madurez fisiológica no se incrementa, a diferencia de lo que ocurre en un fruto climatérico (22), lo cual se traduce en mayor tiempo de almacenamiento, alcanzándose hasta 6 a 8 semanas (1).

Aunque la madurez fisiológica del fruto se debe alcanzar en el árbol, la pigmentación al momento de la cosecha no es la aceptada comercialmente por el consumidor, lo que hace necesario el uso de métodos para el desverdizado (24).

Si bien no son productos climatéricos, son frutos altamente perecederos que durante la poscosecha están expuestos a la incidencia de patógenos y trastornos fisiológicos que conllevan a la degradación del fruto (10, 12, 26, 29).

Dentro de las tecnologías poscosecha usadas, el 1-metilciclopropeno (1-MCP) es uno de los inhibidores de la acción del etileno que puede mantener la calidad de los frutos por más tiempo.

En frutos de mandarina variedad Arrayana se ha establecido la dosis ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$) y el tiempo de tratamiento (2 h) (11) en frutos almacenados a 18°C . Sin embargo, se desconoce la respuesta en almacenamiento refrigerado, lo cual tendría la ventaja de prolongar la vida poscosecha del producto y prescindir del uso del 1-MCP.

Las condiciones de almacenamiento en cítricos a nivel comercial para prolongar su vida útil, reducir los daños por frío y disminuir la pérdida de peso no están bien establecidas, lo cual implica pérdidas en poscosecha.

La información no es suficiente para plantear un esquema de almacenamiento con tratamientos con 1-MCP y temperatura de refrigeración en mandarina var. Arrayana, por lo que es necesario realizar investigaciones que permitan

determinar temperaturas de almacenamiento y caracterizar el comportamiento poscosecha de frutos cosechados en madurez comercial y posibles desórdenes fisiológicos asociados a los tratamientos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó frutos de mandarina (*Citrus reticulata* L.) var. Arrayana procedentes de Corabastos, el principal centro de acopio de la ciudad de Bogotá.

Los frutos seleccionados estaban en la dinámica del mercado y para el ensayo se tuvo en cuenta la selección de frutos por uniformidad de tamaño y sin lesiones ni infecciones; para luego acondicionarlos en empaques plásticos termoformados de polietilentereftalato (PET).

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 3×2 , para un total de 6 tratamientos con 4 repeticiones por tratamiento.

El primer factor fue temperatura de almacenamiento ($6, 12$ y 18°C (ambiente)) y el segundo factor la presencia o ausencia de 1-MCP ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$ por 2 h). Como testigo se empleó el tratamiento 18°C (ambiente) sin aplicación de 1-MCP. Cada una de las 24 unidades experimentales contenía aproximadamente cinco frutos, para un total entre 500 y 1000 g de fruta.

Para el análisis estadístico se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas, el análisis de varianza y la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$), mediante el paquete estadístico SPSS statistics 20 y SAS 9.2.

El 1-MCP (Rohm and Haas, 0,43%) se empleó de acuerdo con la metodología utilizada por Gómez *et al.* (2014).

Básicamente, el producto se disolvió en agua caliente ($45 - 50^{\circ}\text{C}$) y se dispuso en una cámara hermética de 5 L que contenía los frutos, por el tiempo de 2h.

Para los tratamientos de almacenamiento refrigerado se utilizó cámaras con control de temperatura y humedad relativa (75%). La evaluación del ensayo se realizó durante 34 días, con muestreos o mediciones semanalmente; considerando las 4 repeticiones de cada tratamiento, se evaluó las siguientes variables: tasa respiratoria (TR), sólidos solubles totales (SST), acidez total titulable (ATT), pérdida de peso (%PP), firmeza (N), clorofila total e índice de color (IC). A continuación se describe las variables poscosecha determinadas en la investigación.

Tasa respiratoria (mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹), TR

La determinación de esta variable se realizó a temperatura ambiente (18°C) en cámara hermética de 2 L y utilizando aproximadamente 100 g de frutos. Se empleó un sensor infrarrojo de CO₂ conectado a un equipo de captura de datos marca Labquest.

Cada 4 segundos y durante 5 minutos se registraron los valores de CO₂, con los cuales se calculó la pendiente, que corresponde a la tasa respiratoria; para convertir los datos a mg de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ se tuvo en cuenta el peso de los frutos y el volumen de la cámara.

Sólidos solubles totales (SST)

Se utilizó aproximadamente 1 mL de jugo para determinar los SST, con el empleo del refractómetro digital marca Hanna HI 96801 de rango 0 a 85% a 20°C, con precisión 0,1°Brix.

Acidez total titulable (ATT)

Esta variable se determinó con un titulador automático Metrohm 800 y de acuerdo con la metodología descrita por la Association of official Analytical Chemist (AOAC) (5, 10).

Mediante titulación ácido-base con NaOH 0,1N se determinó la acidez total

titulable correspondiente al ácido cítrico, incorporando 1 g de jugo en 60 mL de agua destilada y dos gotas de fenoltaleína, procediendo a la titulación potenciométrica hasta pH de 8,2.

Pérdida de peso (%PP)

En una muestra de aproximadamente 100 g de fruto se midió peso fresco en balanza OHAUS de precisión, con aproximación de 0,01 g. Esta variable se calculó de acuerdo con la fórmula $PP (\%) = ((P1 - PF) / P1) * 100$, empleada por McCollum y Maul (2007), donde P1 = peso de frutos a tiempo inicial y PF = peso de frutos a tiempo final.

Firmeza del fruto

La variable se determinó en la sección ecuatorial del fruto, con el uso de un penetrómetro digital PCE-PTR200, con aproximación 0,05 Newton.

Cuantificación de pigmentos, clorofila total (mg g⁻¹PF)

La extracción y cuantificación del contenido de clorofila total se realizó de acuerdo con la metodología utilizada por Carmona *et al.* (2012) y Wellburn (1994), para lo cual se utilizó aproximadamente 0,5 g de material vegetal (epidermis), acetona como agente extractor de pigmentos y un espectrofotómetro Genesys 10s UV-Vis marca Thermo Scientific.

La absorbancia se determinó 647 y 663 nm y el contenido de clorofila total se calculó con la fórmula $Chl_{total} (mg g^{-1}PF) = ((7,15 * A_{647nm}) + (18,7 * A_{663nm})) * 25 / (1000 * W)$, donde W = peso muestra (g).

Durante el procedimiento de extracción y preparación de la muestra se trabajó en condiciones de baja luminosidad, con el fin de evitar la fotodegradación, isomerización y posibles cambios estructurales de los pigmentos extraídos (4).

Color de la epidermis

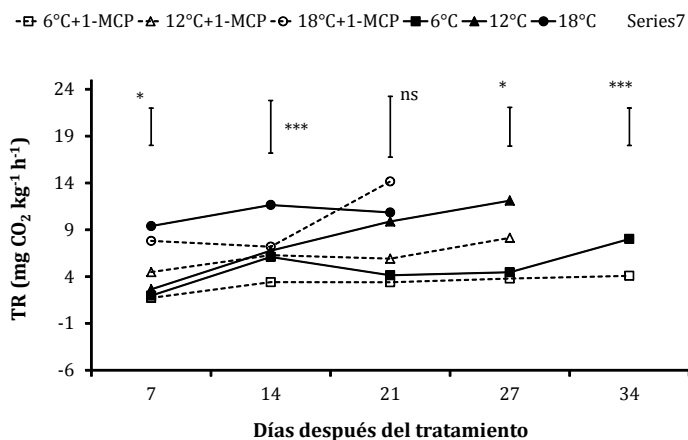
Mediante el empleo del colorímetro digital marca Minolta se determinaron los parámetros del sistema CIELab L, a y b. L indica la luminosidad, donde 0 es negro y 100 blanco; valores de $a < 0$ indican tendencia hacia el verde y > 0 hacia el rojo; b tiene el mismo rango pero valores < 0 indican tendencia hacia el azul y > 0 hacia el amarillo (14).

Se realizaron lecturas en la sección ecuatorial de un fruto para determinar índice de color (IC) con base en el índice propuesto por Hunter Lab $IC = (1000 \times a) / (L \times b)$. A cada fruto se le realizaron tres lecturas en sección ecuatorial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa respiratoria (TR) presentó diferencias significativas entre los tratamientos: fue menor en frutos almacenados bajo el tratamiento $6^{\circ}\text{C} + 1\text{-MCP}$; se presentaron valores mayores en la tasa respiratoria a 18°C , y $18^{\circ}\text{C} + 1\text{-MCP}$ (figura 1).

Resultados similares han sido reportados por Ladaniya *et al.* (2008) donde la TR fue menor a 2°C comparado con 12°C , como consecuencia del efecto de la temperatura en la actividad metabólica, específicamente en la disminución en la actividad de enzimas involucradas en la degradación de la pared celular y clorofila, entre ellas clorofilasas y fosfohidrolasas, además de enzimas involucradas en el proceso respiratorio.



* Diferencias estadísticas al 5%, ** 1%, *** 0,1%, (ns) no hay diferencias de acuerdo con el Anova. La barra vertical representa el valor estadístico de diferencia mínima significativa (LSD) de la prueba de Tukey. Si la diferencia entre dos promedios en cada punto de muestreo es mayor al LSD, habrá diferencia ($P \leq 0,05$).

* Statistical differences at 5%, **1%, *** 0.1%, (ns) no differences according to the Anova. The vertical bar represents the statistical value of least significant difference (LSD) test of Tukey. If the difference between two averages at each sampling point is greater than the LSD, there will be difference ($P \leq 0.05$).

Figura 1. Efecto de la aplicación de 1-MCP ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$ 2 horas) y almacenamiento a 6, 12 y 18°C sobre la tasa respiratoria en frutos de mandarina var. Arrayana durante la poscosecha.

Figure 1. Effect of the application of 1-MCP ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$ 2 hours) and storage at 6, 12 and 18°C on the respiration rate in mandarin fruits var. Arrayana during postharvest.

Por otra parte, no todos los procesos asociados con la maduración en mandarina son etileno-dependientes lo que explica la influencia de la temperatura durante el almacenamiento y el desverdizado (6, 13, 19).

En los resultados obtenidos en este estudio, la tasa respiratoria presenta una tendencia a permanecer estable entre los 14 y 34 días de almacenamiento para los tratamientos a 6°C y 6°C + 1-MCP, es decir, que posterior a la aplicación del 1-MCP y almacenamiento refrigerado no se observan cambios representativos en la intensidad respiratoria (16, 25).

Los valores de TR se encuentran dentro del rango reportado por Pássaro *et al.* (2012), quienes mencionan que la tasa respiratoria en frutos cítricos es de 5 a 15 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

Aunque algunos estudios indican los efectos de 1-MCP en la disminución de la respiración (7), también se ha encontrado que, dependiendo de la dosis de 1-MCP y tiempo de tratamiento, se puede inhibir o estimular la producción de CO₂ por ejemplo, en pomelo. Así, dosis altas hasta de 100 nL L⁻¹ y tiempo de tratamiento menor a 1 h no afectan la TR; en contraste, dosis bajas con exposición de cerca de 2 h, la TR disminuye y se presentan cambios en indicadores poscosecha como SST, ATT Clorofilas, entre otros (17, 21).

Las temperaturas de almacenamiento 6, 12 y 18°C tienen influencia en la conservación de frutos almacenados durante 21, 27 y 34 días respectivamente. Por tanto, el uso de la refrigeración para mandarina Arrayana es una alternativa adicional al 1-MCP, ya que el efecto de este inhibidor tiene duración de 5 días (11).

El contenido de sólidos solubles totales (SST) y acidez total titulable (ATT) no presentaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos durante el almacenamiento

(tabla 1, pág. 33), mientras que la ATT presentó diferencias significativas: ATT fue mayor (0,81%) en frutos almacenados a 6°C + 1-MCP, en comparación con frutos almacenados a 12°C en donde se presenta mayor degradación de ácidos bajo esta condición.

La acidez disminuye porque los ácidos orgánicos son utilizados como sustrato respiratorio (17). Por esta razón, la refrigeración disminuyó la ATT en frutos de mandarina Arrayana.

Ladaniya *et al.* (18) y Sdiri *et al.* (32) reportan que en cítricos la pérdida de la ATT y de ácido ascórbico (vitamina C) es menor a temperaturas de 5°C comparado con temperaturas superiores a 15°C.

Rapisarda *et al.* (28) reportan que para frutos de naranja almacenados a baja temperatura el contenido de sólidos solubles, acidez total titulable, antocianinas, ácidos hidroxicinámicos, flavononas y fenoles totales disminuyeron; en contraste, el contenido de vitamina C aumentó.

Para mandarina Arrayana, en SST no se encontraron diferencias en los tratamientos sin importar la temperatura ni período de almacenamiento; mientras la ATT varió durante el tratamiento a 12°C, siendo menor desde el día 21 hasta el día 27, con diferencias significativas en el día 27, cuando se presentan diferencias al 0,01 de probabilidad.

La pérdida de peso a 18°C (Testigo) no presentó diferencias significativas con el tratamiento a 18°C + 1-MCP; en contraste, se encontraron diferencias significativas con los tratamientos a 6 y 12°C con y sin aplicación de 1-MCP durante los 34 días de almacenamiento (figura 2, pág. 34).

Independiente de la aplicación de 1-MCP, temperaturas de 6 y 12°C disminuyen la pérdida de peso en frutos de mandarina, desde el comienzo hasta el final del almacenamiento.

Tabla 1. Efecto del 1-MCP y la temperatura de almacenamiento sobre los sólidos solubles totales y acidez total titulable de frutos de mandarina Arrayana.**Table 1.** Effect of 1-MCP and storage temperature on total soluble solids and total titratable acidity of fruit mandarin Arrayana.

Factor		SST (°Brix)											
		0		7		14		21		27		34	
1-MCP	SI	9,0	a	9,3	a	9,8	a	9,8	a	9,8	a	10,0	a
	NO	9,0	a	9,1	a	9,5	a	9,6	a	9,3	a	9,7	a
	6	9,0	a	9,3	a	9,8	a	9,5	a	9,6	a		
T °C	12	9,0	a	9,0	a	9,6	a	9,8	a	9,5	a		
	18	9,0	a	9,3	a	9,6	a	9,9	a				
1-MCP		ns		ns		ns		ns		ns		ns	
T °C		ns		ns		ns		ns		ns			

Factor		ATT (% ácido cítrico)											
		0		7		14		21		27		34	
1-MCP	SI	1,58	a	0,80	a	0,72	a	0,78	a	0,74	a	0,64	a
	NO	1,58	a	0,79	a	0,69	a	0,80	a	0,75	a	0,60	a
	6	1,58	a	0,90	a	0,68	a	0,85	a	0,81	a		
T °C	12	1,58	a	0,72	a	0,68	a	0,75	a	0,67	b		
	18	1,58	a	0,76	a	0,62	a	0,75	a				
1-MCP		ns		ns		ns		ns		ns		ns	
T °C		ns		ns		ns		ns		**			

Los datos corresponden a los promedios de cada variable (n=4). Promedios seguidos por letras diferentes en cada columna presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$). (ns) no significativo. * significativo a nivel del 0,05 de probabilidad. ** significativo al 0,01 nivel de probabilidad. *** significativo en el 0,001 nivel de probabilidad.

Data are the averages of each variable (n = 4). Means followed by different letters in each column show significant differences according to Tukey test ($P \leq 0.05$). (ns) not significant. * Significant at 0.05 level of probability. ** Significant at 0.01 probability level. *** Significant at the 0.001 probability level.

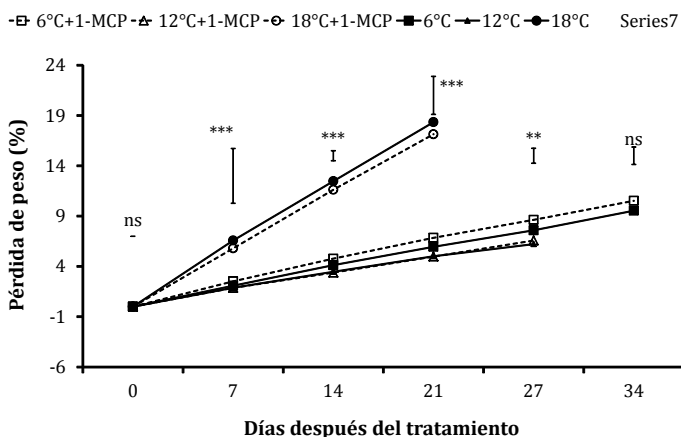
Los tratamientos a 12°C y a 12°C + 1-MCP presentan menor pérdida de peso, si bien es una temperatura que no afecta significativamente esta variable poscosecha. La aplicación de 1-MCP no mostró efectos significativos en la disminución de pérdida de peso, debido a que el efecto de este retardante se pierde durante el almacenamiento.

La pérdida de peso de los frutos está principalmente asociada con la respiración y pérdida de humedad por transpiración a través de la epidermis. Adicionalmente, la temperatura de almacenamiento

determina la transpiración de los tejidos (15): cuanto menor es la temperatura, menor es la pérdida de agua, la cual se manifiesta en baja disminución del peso fresco y en las características de apariencia y calidad.

Porat *et al.* (1999, 2004) reportan mayor transpiración a temperaturas altas, mientras que a temperaturas inferiores a 10°C con humedad relativa > 85% la tasa de transpiración disminuye significativamente.

No obstante, es necesario tener en cuenta que temperaturas inferiores a 8°C pueden causar daño por frío (15).



* Diferencias estadísticas al 5%, ** 1%, *** 0,1%, (ns) no hay diferencias de acuerdo con el Anova. La barra vertical representa el valor estadístico de diferencia mínima significativa (LSD) de la prueba de Tukey. Si la diferencia entre dos promedios en cada punto de muestreo es mayor al LSD, habrá diferencia ($P \leq 0,05$).

* Statistical differences at 5%, **1%, *** 0.1%, (ns) no differences according to the Anova. The vertical bar represents the statistical value of least significant difference (LSD) test of Tukey. If the difference between two averages at each sampling point is greater than the LSD, there will be difference ($P \leq 0.05$).

Figura 2. Efecto de la aplicación de 1-MCP ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$ 2 horas) y almacenamiento a 6, 12 y 18°C sobre la pérdida de peso en frutos de mandarina var. Arrayana durante la poscosecha.
Figure 2. Effect of the application of 1-MCP ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$ 2 hours) and storage at 6, 12 and 18°C on the weight loss in mandarin fruits var. Arrayana during postharvest.

En general, naranjas y mandarinas son menos susceptibles a los daños por frío que limas, limones y pomelos (27).

En los frutos de mandarina Arrayana, la firmeza (N) no mostró diferencias significativas bajo tratamientos de temperatura a 6, 12 y 18°C y aplicaciones de 1-MCP.

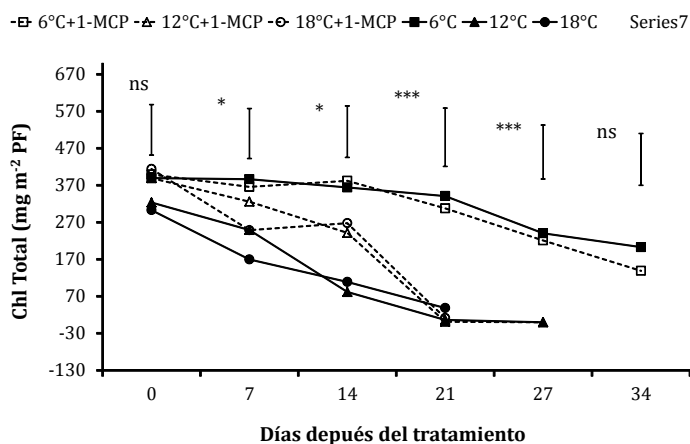
Como se mencionó, la pérdida de firmeza es ocasionada por la actividad de enzimas que degradan pared celular, las cuales a su vez son estimuladas por el etileno. En este sentido, la mandarina -un fruto no climatérico- es poco sensible al etileno y presenta baja producción endógena; por tanto, el proceso de ablandamiento es lento e independiente de la temperatura (17, 18). En mandarina var. Clementina se han encontrado

resultados similares al tratamiento de cuarentena por frío.

Luego del desverdizado durante 60, 72, 96 y 120 horas, seguido de tratamientos en cámaras a $1 - 2^\circ\text{C}$ durante 17 días, más 7 días a 20°C , la firmeza y sólidos solubles (SST) no presentan cambios asociados a desórdenes fisiológicos por frío (1).

El contenido de clorofila total fue mayor en los tratamientos a 6°C y a $6^\circ\text{C} + 1\text{-MCP}$, sin diferencias significativas durante los 34 días de almacenamiento (figura 3, pág. 35).

En general, la velocidad de degradación de clorofilas muestra una pendiente decreciente menos acentuada cuando no se realizaron aplicaciones de 1-MCP.



* Diferencias estadísticas al 5%, ** 1%, *** 0,1%, (ns) no hay diferencias de acuerdo con el Anova. La barra vertical representa el valor estadístico de diferencia mínima significativa (LSD) de la prueba de Tukey. Si la diferencia entre dos promedios en cada punto de muestreo es mayor al LSD, habrá diferencia ($P \leq 0,05$).
 * Statistical differences at 5%, **1%, *** 0.1%, (ns) no differences according to the Anova. The vertical bar represents the statistical value of least significant difference (LSD) test of Tukey. If the difference between two averages at each sampling point is greater than the LSD, there will be difference ($P \leq 0.05$).

Figura 3. Efecto de la aplicación de 1-MCP ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$ 2 horas) y almacenamiento a 6, 12 y 18°C sobre el contenido de clorofila total en frutos de mandarina var. Arrayana durante la poscosecha.

Figure 3. Effect of the application of 1-MCP ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$ 2 hours) and storage at 6, 12 and 18°C on the total content of chlorophyll in mandarin fruits var. Arrayana during postharvest.

La menor concentración de este pigmento se obtuvo en los frutos de mandarina almacenados a 12°C con y sin tratamiento con 1-MCP, a partir del día 14 y 21 respectivamente. Así, en frutos de mandarina Arrayana, la temperatura de almacenamiento incide en la pigmentación de la epidermis; al igual que en naranja, las temperaturas entre 8° y 15°C estimulan degradación de clorofilas (8, 28).

El almacenamiento a 12°C como estrategia de conservación es eficiente, disminuye el contenido de clorofila y, posiblemente, la biosíntesis de carotenoides.

La disminución del contenido de clorofilas se debe al incremento de la actividad de enzimas clorofilasas, las cuales son

estimuladas por el etileno, la temperatura de almacenamiento, e inhibidas por 1-MCP (21, 31, 36). Sin embargo, el efecto de la temperatura sobre la expresión de estas proteínas con actividad enzimática en cítricos aún no se ha reportado.

El índice de color en respuesta al tratamiento a 6°C con o sin 1-MCP se mantiene entre los valores más bajos hasta los 34 días, y es significativamente menor en comparación con los tratamientos 18°C y 12°C , debido a la disminución en la degradación de clorofila y acumulación de carotenoides (21, 34).

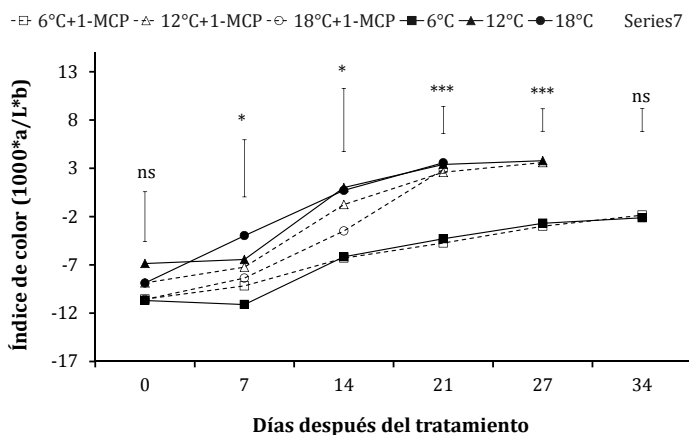
Al realizar el almacenamiento a 6°C + 1-MCP, el índice de color aumenta, comportándose de forma similar al tratamiento 6°C hasta el final del ensayo (figura 4, pág. 36).

A los 4 y 22 días después de almacenamiento bajo los diferentes tratamientos (6°C, 6°C + 1-MCP, 12°C, 12°C + 1-MCP, 18°C, 18°C + 1-MCP), los frutos presentaron las características que se aprecian en la fotografía 1-2 en cuanto a coloración.

Los días de almacenamiento y temperatura son importantes ya que es necesario un índice de color inicial cerca de -12 para alcanzar un color comercial apreciado por el consumidor. La práctica

más común para el desverdizado es el uso de etileno (1); sin embargo, de acuerdo con los resultados, en mandarina Arrayana la temperatura de 12°C podría ser una alternativa para un desverdizado más lento en frutos con fines de exportación que necesiten almacenamiento hasta por 22 días después de cosecha.

En cítricos se ha reportado que la temperatura de almacenamiento tiene influencia en la pigmentación de la epidermis; por ejemplo, en mandarina temperaturas entre 8° y 15°C estimulan la degradación de clorofilas y la acumulación de carotenoides, especialmente β -citraurina y, en menor medida, β -caroteno y β -criptoxantina (8, 28).



* Diferencias estadísticas al 5%, ** 1%, *** 0,1%, (ns) no hay diferencias de acuerdo con el Anova. La barra vertical representa el valor estadístico de diferencia mínima significativa (LSD) de la prueba de Tukey. Si la diferencia entre dos promedios en cada punto de muestreo es mayor al LSD, habrá diferencia ($P \leq 0,05$).

* Statistical differences at 5%, **1%, *** 0.1%, (ns) no differences according to the Anova. The vertical bar represents the statistical value of least significant difference (LSD) test of Tukey. If the difference between two averages at each sampling point is greater than the LSD, there will be difference ($P \leq 0.05$).

Figura 4. Efecto de la aplicación de 1-MCP ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$ 2 horas) y almacenamiento a 6, 12 y 18°C sobre el índice de color en frutos de mandarina var. Arrayana durante la poscosecha.

Figure 4. Effect of the application of 1-MCP ($0,5 \mu\text{L L}^{-1}$ 2 hours) and storage at 6, 12 and 18°C on the rate of colour in mandarin fruits var. Arrayana during postharvest.

La temperatura estimula la expresión de genes que participan en la ruta de biosíntesis de carotenoides, como PSY (fitoeno sintasa), PDS (fitoeno desaturasa), ZDS (ζ -caroteno desaturasa), β LCY1 y β LCY2 (β -licopeno ciclasa 1 y 2) y β CHX (β -caroteno hidroxilasa). Stewart y Wheaton (1971) indicaron que temperaturas superiores a 20°C inhiben la acumulación de β -citraurina en cítricos y estimulan la acumulación de clorofilas, lo que resulta en una coloración predominantemente verde en los frutos (9).

Por su parte, Carmona *et al.* (2012) aseguran que a temperaturas cercanas a 2°C el contenido de carotenoides no aumenta, debido a que la expresión de genes involucrados en su biosíntesis disminuye. Por otro lado, el 1-MCP, que retrasa el desverdizado, reduce la expresión de genes involucrados en la biosíntesis de carotenoides y la acumulación de fitoeno, fitoflueno y β -citraurina.

El efecto de 1-MCP depende de la concentración utilizada, la duración del tratamiento y la temperatura de almacenamiento.

Para el caso de la var. Arrayana objeto de este estudio los resultados son similares a los reportados por Carmona *et al.* (2012), quienes mencionan el efecto del almacenamiento a 12°C sobre la biogénesis de carotenoides mediada parcialmente por la acción del etileno.

Sin embargo, los autores mencionan que a 2°C, por el contrario, la expresión de estos genes se mantiene o disminuye ligeramente.

Así, según los resultados obtenidos en Carmona *et al.* (2012), posiblemente el patrón de cambios en la expresión génica que favorece la pigmentación estaría asociado a la temperatura de almacenamiento y no al efecto del 1-MCP.

La temperatura de 12°C, independiente del uso del inhibidor, está relacionada con el incremento en el contenido de carotenoides. En conjunto, los resultados de este estudio indican que la estimulación de la biosíntesis

de carotenoides durante el almacenamiento de los frutos a 12°C mejora la coloración en la epidermis (foto 1, foto 2, pág. 38).

El almacenamiento a 6°C es la temperatura mínima recomendada para la var. Arrayana según los resultados obtenidos, que son similares a los reportados por Tietel *et al.* (2012) entre 5° y 8°C en mandarina.

Sin embargo, debido a la preocupación con respecto al desarrollo de moho verde causado por *Penicillium* sp., los frutos se almacenan a temperaturas de 3-4°C. En estas temperaturas de almacenamiento hay pérdida de color en la epidermis (pálida y amarillenta), eventos que pueden ser asociados a daños por frío (34).

Según los mismos autores, en mandarinas Odem el almacenamiento a 2°C provocó la acumulación de 13 compuestos volátiles, principalmente los terpenos y derivados, mientras que el almacenamiento a 8°C resultó en una disminución de 6 compuestos volátiles, que comprenden cinco terpenos y un derivado de terpeno.

En mandarina Arrayana, el almacenamiento a 12°C aumentó considerablemente el índice de color y la coloración tanto en flavedo como en pulpa.

Es necesario incorporar en estudios poscosecha expresión de genes en respuesta a tratamientos que afectan biosíntesis de carotenoides, acumulación de fitoeno, fitoflueno y β -citraurina de acuerdo con Rodrigo *et al.* (2013), donde las características externas del fruto, color, forma e imperfecciones se ven influenciadas por condiciones climáticas.

Por ejemplo, la clorofila se degrada a temperaturas menores de 15°C y los cloroplastos se convierten en cromoplastos que contienen pigmentos anaranjados rojizos y amarillos (carotenoides, licopenos, etc.), estas circunstancias generan problemas en poscosecha asociados a temperaturas superiores a la óptima para el desverdizado.



6°C+1-MCP 12°C+1-MCP 18°C+1-MCP 18°C (Test. Sin 1-MCP)

Foto 1. Frutos de mandarina Arrayana a los 4 días después del tratamiento con 1-MCP 0,5 $\mu\text{L L}^{-1}$ 2h. El efecto del metilciclopropeno disminuye durante el almacenamiento a temperaturas mayores a 6°C. A 18°C (test) la pigmentación es mayor; temperatura promedio a la cual los frutos utilizados en el estudio son expuestos en la cadena de suministro.

Photo 1. Arrayana mandarin fruits at 4 days after treatment with 1-MCP 0.5 $\mu\text{L L}^{-1}$ 2h. The effect of methylcyclopropane decreases during storage at temperatures higher than 6°C. At 18°C (test), the fruit presents better pigmentation; this is the average temperature where the fruits used in the study are presented in the supply chain.



6°C+1-MCP 12°C+1-MCP 18°C+1-MCP 6°C 12°C 18°C (Test)

Foto 2. Frutos de mandarina Arrayana a los 22 días después del tratamiento con 1-MCP 0,5 $\mu\text{L L}^{-1}$ 2h. El almacenamiento a 6°C con o sin 1-MCP mantiene los frutos de pigmentación principalmente verde. A 12°C independientemente de la aplicación de 1-MCP la pigmentación es uniforme y no se presentan diferencias en el índice de color, SST, y ATT.

Photo 2. Arrayana mandarin fruits at 22 days after treatment with 1-MCP 0.5 $\mu\text{L L}^{-1}$ 2h. The storage at 6°C with or without 1-MCP keeps the fruits mainly on green pigmentation. A 12°C, independently of the application of 1-MCP, the pigmentation is uniform and no differences were found in the color index, SST and ATT.

CONCLUSIÓN

Para prolongar la vida poscosecha del fruto de mandarina variedad Arrayana, los frutos pueden ser almacenados a 12°C y prescindir del uso del 1-metilciclopropeno.

El almacenamiento a 12°C por 34 días es una alternativa donde la coloración de la epidermis, entre otras variables poscosecha, presenta un buen comportamiento durante el almacenamiento.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abad, I.; Martínez-Jávega, J. M.; Cuquerella, J. 2003. Respuesta al tratamiento de cuarentena por frío de la mandarina miro sometida a desverdización. Rev. Iber. Tecnología Postcosecha. 5: 117-121.
2. Aguilar, P.; Escobar, M.; Pássaro, C. 2012. Situación actual de la cadena de cítricos en Colombia: limitantes y perspectivas. En: Garcés, L.; Pássaro, C. (Eds.). Cítricos: Cultivo, poscosecha e industrialización. Itagüí, Colombia. 9-47.
3. Alayón Luaces, P.; Rodríguez, V. A.; Píccoli, A. B.; Chabbal, M. D.; Giménez, L. I.; Martínez, G. C. 2014. Fertilización foliar con macronutrientes a plantas de naranja Valencia late (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) y tangor Murcott (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 46(1): 87-96.
4. Amorim-Carrilho, K. T.; Cepeda, A.; Fente, C.; Regal, P. 2014. Review of methods for analysis of carotenoids, TrAC. Trends in Analytical Chemistry. 56: 49-73.
5. Association of official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. AOAC. 1998. 16 ed. Washington, D. C. USA.
6. Blanch, G. P.; Flores, G.; Castillo, M. L. R. 2011. Influence of methyl jasmonate in conjunction with ethanol on the formation of volatile compounds in berries belonging to the Rosaceae. Postharvest Biology and Technology. 62: 168-78.
7. Blankenship, S.; Dole, J. 2003. 1-Methylcyclopropene: a review. Postharvest Biology and Technology. 28: 1-25.
8. Carmona, L.; Zacarías, L.; Rodrigo, M.; 2012. Stimulation of coloration and carotenoid biosynthesis during postharvest storage of 'Navelina' orange fruit at 12 °C. Postharvest Biology and Technology. 74: 108-117.
9. Céccoli, G.; Panigo, E. S.; Gariglio, N.; Favaro, J. C.; Bouzo, C. A. 2013. Fruit yield and growth parameters of several *Carica papaya* L. genotypes in a temperate climate. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 45(2): 299-310.
10. Godoy, C.; Dome, C. 2013. Relación entre la madurez fisiológica y la madurez comercial de frutos de kiwi 'Hayward' producidos en el sudeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina). Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 45(2): 311-325.
11. Gómez, C. A.; Balaguera-López, H. E.; García, J.; Herrera, A.; Flórez, V. 2014. Efecto de 1-metilciclopropeno en la poscosecha de mandarina (*Citrus reticulata* L.) var. Arrayana. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 67: 1159-1162.
12. Guo, J.; Fang, W.; Lu, H.; Zhu, R.; Lu, L.; Zheng, X.; Yu, T. 2014. Inhibition of green mold disease in mandarins by preventive applications of methyl jasmonate and antagonistic yeast *Cryptococcus laurentii*. Postharvest Biology and Technology. 88: 72-78.
13. Hadi, M. A.; Zhang, F. J.; Wu, E. F.; Zhou, C. H.; Tao, J. 2013. Advances in fruit aroma volatile research. Molecules. 18: 8200-8229.
14. Hernández M.S.; Martínez, O.; Fernández-Trujillo, J. P. 2007 Behavior of arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) fruit quality traits during growth, development and ripening. Scientia Horticulturae. 111: 220-227.

15. Jamori, M.; Kluge, R.; Jacomino, A. 2003. Cold storage of 'Tahiti' lime treated with 1-methylcyclopropene. *Scientia Agricola*. 60: 785-788.
16. Kader, A. A. 2002. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. 3 ed, Division of Agriculture and Natural Resources. UCANR Publications. University of California (System). Vol. 3311.
17. Kader, A.; Yahia, E. 2011. 3 - Postharvest biology of tropical and subtropical fruits. En: Yahia, E. (Ed.). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*. Woodhead Publishing. 79-111.
18. Ladaniya, M. 2008. *Citrus Fruit: Biology*. Academic Press Inc. Technology and Evaluation. Ed. Academic Press, NY. 333-373 p.
19. Liu, L.; Wei, J.; Zhang, M.; Zhang, L.; Li, C.; Wang, Q. 2012. Ethylene independent induction of lycopene biosynthesis in tomato fruits by jasmonates. *Journal of Experimental Botany*. 63 (16): 5751-5761.
20. MADR, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. Estadísticas Anuales. (2014). En: Anuario estadístico del sector agropecuario. Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/agronetweb1/Estad%C3%ADsticas.aspx> consultada: mayo 20 de 2015.
21. McCollum, G.; Maul, P. 2007. 1-Methylcyclopropene Inhibits degreening but stimulates respiration and ethylene biosynthesis in grapefruit. *Hortscience*. 42: 120-124.
22. Muy, D.; Siller, J.; Díaz, J.; Valdez, B. 2004. Las condiciones de almacenamiento y el encerrado afectan el estado hídrico y la calidad de mango. *Rev. Fitotec. Mex.* 27: 201-209.
23. Orduz-Rodríguez, J. 2012. La ecofisiología de los cítricos en el trópico: el caso del piedemonte llanero de Colombia. En: Garcés Giraldo, L. (Ed.). *Cítricos: Cultivo, Poscosecha e Industrialización en Colombia*. Itagüí, Colombia. 107 - 128.
24. Orduz-Rodríguez, J.; Monroy, H.; Fisher, G.; Herrera, A. 2009. Crecimiento y desarrollo del fruto de mandarina (*Citrus reticulata*) 'Arrayana' en condiciones del piedemonte del Meta, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 3: 149-160.
25. Pássaro, C.; Navarro, P.; Salvador, A. 2012. Poscosecha. En: Garcés L.; Pássaro, C. (Eds.). *Cítricos: Cultivo, poscosecha e industrialización*. Itagüí, Colombia. 223-284.
26. Porat, R.; Weiss, B.; Cohen, L.; Daus, A.; Goren, R.; Droby, S. 1999. Effects of ethylene and 1-methylcyclopropene on the postharvest qualities of "Shamouti" oranges. *Postharvest Biol. Technol.* 15: 155-163.
27. Porat, R.; Weiss, B.; Cohen, L.; Daus, A.; Aharoni, N. 2004. Reduction of postharvest rind disorders in citrus fruit by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*. 33: 35-43.
28. Rapisarda, P.; Bianco, M. L.; Pannuzzo, P.; Timpanaro, N. 2008. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biology and Technology*. 49: 348-354.
29. Ríos-Osorio, O.; Chávez-Servia, J. L.; Carrillo-Rodríguez, J. C.; Vera-Guzmán, A. M. 2014. Variación agromorfológica y cambios biofísicos poscosecha en frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Argentina. 46(2): 29-44.
30. Rodrigo, M. J.; Zacarias, L. 2007. Effect of postharvest ethylene treatment on carotenoid accumulation and the expression of carotenoid biosynthetic genes in the flavedo of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 43: 14-22.
31. Rodrigo, M. J.; Alquézar, B.; Alós, E.; Lado, J.; Zacarías, L. 2013. Biochemical bases and molecular regulation of pigmentation in the peel of Citrus fruit. *Scientia Horticulturae*. 163: 46-62.
32. Sdiri, S.; Navarro, P.; Monterde, A.; Benabda, J.; Salvador, A. 2012. Effect of postharvest degreening followed by a cold-quarantine treatment on vitamin C, phenolic compounds and antioxidant activity of early-season citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 65: 13-21.
33. Stewart, I.; Wheaton, T. 1971. Effects of ethylene and temperature on carotenoid pigmentation of citrus peel. *Florida Agricultural Experiment Stations Journal*. Serie 4151. 3p.
34. Tietel, Z.; Lewinsohn, E.; Fallik, E.; Porat, R. 2012. Importance of storage temperatures in maintaining flavor and quality of mandarins, *Postharvest Biology and Technology*. 64: 175-182.

35. Wellburn, A. R.; 1994. The spectral determination of chlorophyll a and chlorophyll b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*. 144: 307-313.
36. Win, T.; Srilaong, V.; Heyes, J.; Kyu, K.; Kalanayarat, K. 2006. Effects of different concentrations of 1-MCP on the yellowing of West Indian lime (*Citrus aurantifolia*, Swingle) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 42: 23.

AGRADECIMIENTOS

Al Ministerio de Agricultura por la financiación del proyecto "Evaluación de diferentes tecnologías poscosecha para la conservación de frutos de mandarina (*Citrus reticulata*)" No. CE-13158-111-09, y a CENIREC por su apoyo en la ejecución del proyecto.