



AGENCIA NACIONAL
DE INVESTIGACIÓN
E INNOVACIÓN

Informe final del proyecto Estrategias para la mitigación del daño por frío durante el transporte refrigerado de frutos cítricos

Código de proyecto ANII: FMV_1_2017_1_135612

31/03/2021



Resumen del proyecto

El sector cítrico nacional experimentó un crecimiento gracias a la apertura de nuevos mercados. Si bien el volumen de frutas exportado se incrementó año tras año hacia dichos mercados, como por ejemplo el de EEUU, también generó nuevos desafíos, como la necesidad de aplicar un tratamiento cuarentenario de muy baja temperatura durante el transporte. Esto provoca en algunos casos, que aparezcan manchas negras en la cáscara de diferentes variedades en destino, lo que lleva al rechazo o reclamo del cliente y a una reducción de las ganancias. En este proyecto se evaluaron dos estrategias para intentar minimizar dicho daño y producir frutos más tolerantes a las bajas temperaturas. La primera es la aplicación de una hormona vegetal de respuesta a estrés, ácido abscísico (ABA) cuando la fruta se encuentra en los últimos meses de crecimiento. Por otro lado, se aplicaron diferentes cantidades de los nutrientes magnesio y potasio para evaluar su posible efecto en la tolerancia al frío. Las aplicaciones de ABA logran reducir las manchas en variedades de naranja como Valencia y Navel, aunque su efecto es parcial y depende del año. Además, el ABA también retrasa la aparición del daño en la variedad Salustiana. Respecto a los nutrientes potasio y magnesio, a pesar de que es necesario continuar estos trabajos en un plazo más extenso, niveles más elevados de potasio parecerían reducir el daño por frío, mientras que el magnesio tendría el efecto opuesto. Esto sin embargo no debe ser traducido en un aumento indiscriminado de uso de potasio ni en una reducción drástica del magnesio, sino en encontrar el mejor balance entre ellos. Por lo tanto, de este proyecto se puede concluir que tanto el ABA como los nutrientes, tienen relación con el daño por frío poscosecha y que es necesario continuar estos trabajos.

Introducción

El cultivo de cítricos en Uruguay es una actividad económica relevante especialmente en el norte del país, en los departamentos de Salto y Paysandú. En esta zona concentra el 85% de las 15.000 ha en producción a nivel nacional. Además, tiene una marcada influencia en la mano de obra que emplea para su producción. Durante la pasada década cambiaron los requisitos para la exportación de la Unión Europea con énfasis en reducción de residuos en la fruta, mientras que a mediados de la misma, se abrió el mercado de EEUU. Si bien este mercado ofrece mayores retribuciones económicas, como medida cuarentenaria impone que la fruta sea expuesta a temperaturas muy frías para los cítricos, más bajas que las requeridas por la Unión Europea (4-6°C). La sostenibilidad del sector depende de la exportación de fruta en fresco. Por este motivo, si bien la apertura de EEUU se visualiza como un hito, la exposición de la fruta de esas temperaturas (de 1°C durante 20 días, dependiendo de la especie), hizo que el sector manejara cautelosamente la colocación de fruta en dicho mercado. Dichas temperaturas provocan lo que se conoce como daño por frío (DF), caracterizado por manchas deprimidas y amarronadas que aparecen durante el transporte, en la parte coloreada de la cáscara (flavedo). Si bien no afecta a la calidad interna de la fruta, el aspecto comercial (cosmético) se deteriora, lo que provoca pérdidas en las retribuciones, rechazos de la mercadería u otros costos como la reclasificación en destino (Agustí et al., 2002; Lafuente and Zacarías, 2006). De hecho, varias empresas limitaron la exportación de diferentes variedades más susceptibles a desarrollar daño durante el almacenamiento/transporte, como las naranjas Salustiana, Navel o los limones amarillos. La experiencia local e internacional no es contundente a la hora de presentar alternativas para el control de este desorden fisiológico, ni en el establecimiento de los mecanismos que están involucrados en el desarrollo de este daño (Lafuente & Zacarías 2006). Probablemente esto se deba a la diversidad de factores que han sido relacionados con la incidencia del DF, entre ellos, numerosas variables ambientales como la temperatura, humedad y radiación, así como el manejo de la fruta durante el crecimiento, y sin dudas, las condiciones en las que las frutas son almacenadas en poscosecha (temperatura, humedad, tiempo de almacenamiento, etc. Agustí et al. 2002; Lafuente & Zacarías 2006; Lado et al. 2015; Lado et al. 2019). En este proyecto se propuso comenzar a explorar posibles herramientas de manejo para evitar el manchado de la fruta por frío desde dos abordajes diferentes: un manejo hormonal con ácido abscísico (ABA) y un manejo nutricional (modificando los nutrientes potasio y magnesio). En primer lugar, el ABA ha sido estudiado como un mediador e inductor de respuestas metabólicas y fisiológicas a diferentes condiciones de estrés para los tejidos, entre ellas las bajas temperaturas (Gómez-Cadenas et al. 2015; Lado & Manzi 2017). Específicamente en cítricos, el ABA se relaciona con cambios en el proceso de maduración y toma de color de los frutos (Gambetta et al. 2011; Rodrigo et al. 2013; Leng et al. 2014), así como con el mantenimiento de la calidad de fruta durante el almacenamiento (Alfárez et al. 2005; Romero et al. 2013). Trabajos previos del grupo de investigación sugieren que la tolerancia/sensibilidad a desarrollar DF durante el almacenamiento está fuertemente determinada durante el proceso de crecimiento y desarrollo de los frutos, es decir, varios meses antes de la cosecha (Lado et al., 2019). Sin embargo, es escaso el aporte de medidas de manejo durante esta etapa de la precosecha, mientras que la mayoría de las medidas

poscosecha permiten únicamente atenuar pero no evitar la incidencia del DF (Gosalbes et al. 2004; Alférez et al. 2005; Melgoza et al. 2014). Por lo tanto, para evaluar el efecto del ABA sobre el DF provocado por las bajas temperaturas postcosecha, se realizaron aplicaciones de ABA en campo (precosecha), aproximadamente desde cambio de color hasta cerca de cosecha. Se trabajó con tres variedades de naranja de relevancia productiva nacional y susceptibles a desarrollar DF: Navel, Salustiana y Valencia. La aplicación comercial de ABA a campo es innovadora gracias a la reciente incorporación en el mercado internacional de una formulación comercial de ABA con este fin. El segundo abordaje fue el nutricional. Se conoce que los nutrientes impactan en la calidad de la cáscara de los cítricos y el desarrollo o control de diferentes desórdenes fisiológicos en este tejido (Ezz & Awad 2009; Cronje et al. 2011; Nuñez et al. 2015). En este sentido, los cationes potasio (K), magnesio (Mg) y calcio (Ca) se reconoce como de los más determinantes en relación a diferentes desórdenes fisiológicos de la cáscara de los cítricos (Alva et al. 2006; Magwaza et al. 2013; Farhat et al. 2016). Por lo tanto, se realizó un diseño donde se aumentaron o disminuyeron los niveles de K y Mg, es decir, se redujeron a la mitad o se aumentaron al doble las dosis de esos nutrientes respecto a las dosis aplicadas en la quinta comercial donde se desarrollaron los trabajos de campo. La absorción de cationes por las raíces está determinada no solo por la disponibilidad de cada nutriente en particular, sino también por la presencia de otros cationes (interacción entre ellos). Esto está dado por los transportadores de cationes dentro de los que se encuentran los específicos para K, es decir, que solo permiten la entrada a la planta de K, y de los no específicos de cationes, es decir, que cualquier catión puede ingresar a la planta por ese tipo de canal. Por lo tanto, es común observar que altas disponibilidades de K provocan una deficiencia inducida de Mg (incluso en presencia moderada de Mg). Si bien lo contrario no es tan frecuente, se puede esperar que altas dosis de Mg en comparación al K generen una deficiencia de K (Farhat et al. 2016). Finalmente, el calcio que es el catión más abundante en los suelos, podría también influenciar el ingreso de K y Mg, así como ser influenciado por la disponibilidad de los dos primeros. En definitiva, el objetivo de este ensayo fue generar un amplio rango de concentraciones de estos cationes en el suelo, de forma tal que los tejidos de las plantas, especialmente de los frutos, presentaran diferentes niveles de estos nutrientes. Esto por tanto, sería correlacionado con el DF obtenido en poscosecha. Cada abordaje de estudio contaba con sus propios objetivos y resultados esperados. En el caso del ensayo de ABA, se pretendía conocer si la aplicación de esta hormona en precosecha tenía un efecto en reducir el DF en poscosecha. A su vez, cómo es una hormona asociada a los procesos de abscisión y senescencia, se pretendía evaluar la posible inducción de efectos negativos sobre otros variables de calidad de fruta. Por su parte, en el caso del ensayo de fertilización, también se proponía un primer acercamiento al estudio del efecto de los mencionados cationes sobre el DF. Dado el carácter exploratorio de ambos abordajes, era deseable que los resultados fueran un disparador para posteriores ajustes de los tratamientos para brindar respuestas aplicables a nivel comercial. Por ejemplo, una vez conocido el efecto del ABA sobre el DF, un objetivo final sería conocer cuántas aplicaciones de ABA son suficientes para reducir el DF, identificando por tanto un momento concreto de aplicación del ABA. En el caso de la fertilización, se esperaba lograr un indicador (ejemplo, concentración de algún catión o relación entre cationes en flavedo en cosecha) que permitiera realizar una estimación de la sensibilidad de la fruta a este problema en el momento de la cosecha. En base a esto se pretende avanzar en un ajuste de la fertilización que permita lograr balances de nutrientes para reducir el DF.

Metodología/diseño del estudio

Ambos ensayos se realizaron sobre plantas adultas de una quinta comercial de la zona de Quebracho, Paysandú. Las plantas de las variedades Navel, Salustiana y Valencia estaban injertadas sobre Trifolia. Las diferentes prácticas culturales y de manejo (sanitario y fisiológico) estaban a cargo de la empresa. Las plantas contaban con fertirriego. El suelo era franco arenoso de fertilidad muy baja natural, con contenidos de materia orgánica en el entorno de 1.5%. En el ensayo de ABA uno de los objetivos era determinar una dosis óptima de ABA que reduzca el daño, probándose 300 y 500 mg L⁻¹ en función del relevamiento de la literatura hasta ese momento. Estas dosis fueron utilizadas durante el primer año de ensayos, más un control sin aplicación (CT). En 2018 Rehman et al. (2018), publican el primer reporte de aplicaciones de ABA con una formulación comercial (ProTone, Valent Bioscience, la misma usada en este proyecto), en precosecha de una naranja Navel temprana (M7). En dicho trabajo realizan una serie de ensayos para mejorar el color de dicha variedad con dosis crecientes de ABA, estableciendo que la dosis que induce mejores resultados es la más alta (500 mg ABA.L⁻¹). A partir de reporte se trabajó únicamente con la dosis de 500 mg. ABA.L⁻¹ (1.9 mM), a la vez que se incorporó la aplicación de un inhibidor de la biosíntesis de ABA, el ácido nordihidroguaiarético (NDGA), a una dosis de 1.0 mM, principalmente con fines académicos (la tesis de maestría de la becaria asociada al proyecto), seleccionándose en las variedades Navel y Salustiana por la mayor incidencia del problema en las mismas. Las aplicaciones se realizaron individualmente a frutos, sumergiendo cada fruto en una solución con ABA o NDGA (más un surfactante no iónico Triton X-100 al 0.5%) durante 20 segundos. Se dejaron frutas como controles sin aplicación (CT). Así, en una misma planta existían frutos con los tres tratamientos, ABA, NDGA y CT. Los frutos fueron identificados según su respectivo tratamiento. Se utilizaron 20 plantas con un promedio de 280 frutas por tratamiento. En todos los casos se realizaron tres aplicaciones por fruto en un lapso de 3 meses aproximadamente (una aplicación cada 30 días), comenzando unos 3.5 meses antes de la cosecha estimada. En Navel y Salustiana la primera aplicación se realizó en marzo, mientras que en Valencia, variedad más tardía, las aplicaciones comenzaron en mayo. Por su parte, para el ensayo de fertilización se establecieron tratamientos con distintas dosis de K y Mg. Las dosis aproximadas para el CT fueron 100 unidades de K₂O ha⁻¹ para Salustiana y Navel y 80 unidades de K₂O ha⁻¹ para Valencia. En cuanto a Mg en el caso del CT se utilizaron 20 unidades.ha⁻¹ en las tres

variedades. A dicho tratamiento lo llamamos CT 100%. A partir de esos valores se establecieron el resto de los tratamientos. Por un lado, se duplicaron las dosis de K, Mg y una combinación ambos, mientras que por otro se redujo en un 50% las dosis de esos mismos nutrientes. Por lo tanto, quedaron establecidos 7 tratamientos por variedad; CT (100%), 200% de K, 200% de Mg, 200% de K + 200% de Mg, 50% de K, 50% de Mg, y 50% de K + 50% de Mg. En cada caso, si la dosis del nutriente no fue modificada por el tratamiento, el mismo se mantuvo a nivel de CT (100% de la dosis). Así por ejemplo, a las plantas del tratamiento 200% de K de Salustiana se le aplicaron 200 unidades de K₂O ha⁻¹ y 20 unidades de Mg.ha⁻¹. La fertilización de la quinta es manejada por fertirriego, por lo que los complementos de nutrientes se realizaron al voleo en cobertura. En los casos de reducción de la fertilización (tratamientos de 50% de la dosis), se colocaron llaves en la línea de riego con lo cual se reducía la aplicación de fertilizantes (de la quinta) y se complementaba al voleo con el nutriente que no debía ser afectado. Como ejemplo, en el tratamiento 50% Mg se cerraba la línea de riego en una de las dos veces semanales que se realizaba el fertirriego y se complementaba manualmente la dosis de K hasta llegar al 100%. Del mismo modo, otros nutrientes como nitrógeno (100 kgN.ha⁻¹) o fósforo (30 kgP₂O₅.ha⁻¹) se mantuvieron iguales en todos los tratamientos y variedades. El período de fertilización en cada año fue desde inicios de brotación en primavera hasta fin de enero aproximadamente. Los fertilizantes usados fueron KCl, MgSO₄, superfosfato común y urea. El diseño del ensayo fue el mismo en cada temporada, manteniéndose las mismas plantas bajo los mismos tratamientos. Es decir, a las plantas que se les duplicó la fertilización tuvieron un efecto acumulativo de 3 años con el doble de la dosis del nutriente en cuestión, mientras que aquellos tratamientos de 50% de la dosis CT fueron sometidos a una reducción repetida en el tiempo. Cada tratamiento en cada variedad constó de 3 repeticiones distribuidas aleatoriamente, con 5 plantas por repetición. A los efectos de las evaluaciones solo se consideraron las 3 plantas centrales de cada repetición. Para cada ensayo, al momento de cosecha, la fruta de cada tratamiento fue clasificada y almacenada a 1±0.5 °C y 80% HR durante 58 días. Al final del almacenamiento las frutas fueron sacadas del frío para la evaluación de su comportamiento como vida mostrador. Durante este proceso periódicamente (14, 28, 35, 42 y 58 días de frío más 58+7 días de vida mostrador) se evaluó la incidencia y la severidad del DF. La incidencia se refiere al total de frutos con síntomas de DF/total de frutos evaluados expresado como porcentaje. La severidad se determina mediante una escala de 0 a 3, donde 0 es la fruta sin síntomas de DF, 1 es la fruta con hasta 10% de síntomas, 2 corresponde a fruta con DF entre el 10 y 50% de la superficie y 3 es daño severo con más del 50% de DF en la fruta. Para el cálculo del índice, se obtiene la cantidad de frutas en cada uno de los rangos ponderado sobre el total de frutas (IDF=(número de frutas en cada categoría × valor de la categoría)/número de frutas totales (Lado, et al. 2016). En el ensayo de fertilización, al momento de cosecha a un set de frutas por tratamiento se les removió el flavedo para su análisis de cationes. Además, en cosecha se evaluaron diferentes propiedades de fruta, como su calidad interna (%sólidos solubles, % de acidez, ratio SS/acidez, para los ensayos de ABA y fertilización), color de fruto (ensayo ABA y fertilización), firmeza de fruto (ensayo ABA) y espesor de cáscara (ensayo fertilización). Además, en campo todos los años se realizó el seguimiento de los nutrientes mediante análisis foliar y de suelos (ensayo fertilización). Los datos se procesaron con el software Infostat®. Las variables con distribución normal fueron sometidas a un ANAVA y posteriormente al test de Tukey (p<0.05) para la comparación de medias. En los casos de variables con distribución diferente a la normal o que no cumplieran dicho supuesto, fueron sometidas al test no paramétrico Kruskal-Wallis. Para este informe los datos se presentan como la media±error estándar.

Resultados, análisis y discusión

Ensayos de ABA. En todos los casos se presentan los resultados del efecto del ABA aplicado a una dosis de 500 mg ABA.L⁻¹ y de los años en los que se incorporó el NDGA. En todos los casos el DF aumenta conforme transcurre el tiempo de las frutas a bajas temperaturas, independiente del tratamiento considerado. Por lo general, los síntomas de DF comienzan a hacerse visibles a los 28 días de almacenamiento. El IDF para Navel para el tratamiento CT durante los 3 años de ensayos estuvo en el rango de 0.9±0.2 hasta 1.6±0.1, lo que constituye un daño moderado. En esta variedad, las frutas con aplicaciones de ABA registraron menores IDF durante todo el período de almacenamiento respecto a las frutas sin aplicación. Este descenso es sostenido en los diferentes años, pudiendo alcanzar reducciones de entre el 55 y el 72% de DF al final del almacenamiento (58+7 días). Esto es acompañado por reducciones similares (entre el 45% a 60%) en el porcentaje de frutas dañadas cuando se comparan el tratamiento con ABA y el CT. En cambio, al considerar la variedad Valencia se puede visualizar un comportamiento diferente. En años (2020) con incidencia de DF moderados (valores al final del almacenamiento del tratamiento CT IDF=1.7±0.1 y %DF= 95±1.7) se aprecia un descenso de hasta un 40% en el IDF y un 25% menos de fruta con daño. Por el contrario, cuando la incidencia del daño es muy baja (valores al final del almacenamiento del tratamiento CT IDF=0.3±0.1 y %DF= 33.2±2.1) como en el año 2019, no hay efecto significativos ni en la incidencia ni en la severidad. Finalmente, en la variedad Salustiana el tratamiento CT presentó IDF de entre 1.3±0.1 a 1.5±0.1 al final del almacenamiento, con % de frutas dañadas de entre el 82.7±3.1% al 92.9±3.0 % en todos los años. El tratamiento ABA por su parte, no tuvo diferencias ni el IDF ni en el % de frutas con daño al final del ensayo respecto al CT. Sin embargo, en etapas intermedias del almacenamiento, por ejemplo, a los 28 días de almacenamiento cuando aún el daño aún era leve (CT IDF <0.6 e %DF <35% en promedio), los frutos del tratamiento con ABA presentaron menores niveles de IDF (hasta un 50% menor) y de %DF (hasta un 60% menor) comparados a los frutos CT. Este efecto desaparece al aumentar el tiempo de almacenamiento y el daño, y solo fue significativo en 2019, mientras que en 2020 existió una tendencia a presentar este descenso (p<0.1). Por otro lado, el tratamiento NDGA se comportó en general, similar el tratamiento ABA. Así, en la variedad Navel registró descensos en el DF respecto al CT durante todo el período de

almacenamiento en los dos años ensayados. En Salustiana, los frutos aplicados con NDGA presentaron niveles de DF que los frutos CT. En este caso además, este tratamiento con inhibidor no fue capaz de reducir el DF respecto al CT en etapas intermedias del almacenamiento, tal como lo hizo el tratamiento ABA. Respecto a otras variables de calidad de fruta tales como firmeza y color de frutos, y variables de calidad interna como sólidos solubles, acidez y ratio, no fueron afectados por ningún tratamiento, en ninguna variedad ni en ningún año de ensayos. Es interesante destacar que el ABA no afectó el color en ninguna de las 3 variedades estudiadas, a diferencia de lo mencionado por Rehman et al. (2018) que señalaba una mejora del color en la Navel N7 (variedad más temprana que las empleadas en este trabajo).

Ensayos Fertilización El objetivo de este ensayo fue crear variabilidad en la disponibilidad de nutrientes de forma tal que los tejidos, en especial el flavedo, presentaran diferentes concentraciones de K, Mg y eventualmente Ca. Se estimaba que dichas concentraciones, evaluadas en cosecha, pudieran explicar las diferencias de DF en el almacenamiento. Para esto, se evaluó el DF de cada tratamiento y se realizaron correlaciones (Pearson) con las concentraciones de nutrientes. También se correlacionaron las concentraciones de diferentes relaciones (ejemplo, K/Mg, K/(Ca+Mg), etc) con el DF. Como en todos los casos, el DF aumentó en la medida que transcurre el tiempo en almacenamiento, habitualmente sin DF hasta los primeros 28 días de almacenamiento. De los resultados de los 3 años ensayados y las 3 variedades se pueden resumir de la siguiente manera. Durante el primer año se detectaron niveles bajos de DF al final del almacenamiento en Navel y Salustiana, con IDF máximos de 0.59 ± 0.1 e %DF de 55 ± 1.5 . En cambio, en Valencia el IDF a los 58+7d estuvo en el rango de 1.4 ± 0.1 a 2.32 ± 0.2 en los diferentes tratamientos y %DF de entre 69.6 ± 2.2 a 92.8 ± 2.7 , lo que puede considerarse como daños moderados a altos. Con referencia a la concentración de K, Mg y Ca en flavedo en cosecha, no se encontraron diferencias entre los diferentes tratamientos en Navel. Del mismo modo, en Salustiana se registraron diferencias en Mg (entre $0.08 \pm 0.1\%$ a $0.11 \pm 0.1\%$) y Ca (entre $0.32 \pm 0.2\%$ a $0.45 \pm 0.2\%$), mientras que en Valencia solo se registraron diferencias en la concentración de K entre los diferentes tratamientos (entre $1.13 \pm 0.6\%$ a $1.47 \pm 0.6\%$). Por lo tanto, puede mencionarse que durante el primer año, el efecto de la fertilización con diferentes nutrientes solo tuvo un efecto moderado en generar variabilidad. En principio, esto es atribuible al hecho que las plantas perennes utilizan mayormente los nutrientes disponibles en las reservas, los cuales por ejemplo, son los grandes responsables de contribuir a las necesidades durante la brotación y por lo tanto, basan gran parte de su crecimiento en los nutrientes ya absorbidos en zafrares anteriores (Paramasivam et al. 2000; Xiao et al. 2007). Igualmente, con la variabilidad y el poco DF en Navel y Salustiana, se procedió al estudio de la correlación entre ambas variables (%nutrientes y DF en poscosecha). Para Navel solo se encontró correlación significativa ($p < 0.05$) entre la concentración de Mg, K/Mg, K/Ca y K/(Mg+Ca) con el %DF a los 58 días, con coeficientes r de +0.43, -0.43, -0.45 y -0.44, respectivamente. Para Salustiana se registraron efectos similares, por ejemplo, se verificó correlación significativa entre Mg y K/Mg con el DF a los 58 días, con r de entre +0.46 y -0.41, respectivamente. Para el caso de Valencia, a pesar de obtener los mayores DF en almacenamiento, solo se registraron correlaciones entre la relación Ca/Mg con el %DF con $r = -0.47$. En referencia a los valores de r nos parece importante señalar que a pesar de rondar el 0.4 – 0.5 en valor absoluto, consideramos que son valores importantes y acordes a una variable (el DF) que es explicada por diversos factores. El primer año en particular, a pesar de la poca variación alcanzada en referencia al DF y la concentración de nutrientes, nos dio importantes señales que el Mg y el K y sus posibles relaciones entre ellos dentro en el tejido, podrían estar relacionados al DF. En este sentido, menores concentraciones de Mg y mayores de K podrían relacionarse con menores niveles de DF. El trabajo en los años siguientes fue similar, con la diferencia que las plantas ya se encontraban con una acumulación de 1 o 2 años recibiendo los mismos tratamientos. En la cosecha 2019 los DF fueron algo mayor como en el caso de Salustiana (IDF entre 0.87 ± 0.15 a 1.47 ± 0.15 y %DF entre 57.8 ± 1.9 a 77.0 ± 0.2) y algo inferiores en el caso de Valencia, respecto a la zafra 2018 (IDF entre 0.91 ± 0.09 a 1.33 ± 0.11). A manera de resumen, en Valencia solo se encontraron correlaciones entre las concentraciones de nutrientes y el DF a los 28 días de almacenamiento, cuando el IDF promedio fue 0.09 ± 0.01 . Así se encontraron relaciones positivas entre el Ca, y Mg con el %DF a los 28 días ($r = 0.40$ y 0.53 , respectivamente) y negativas con las relaciones K/Mg, Ca/Mg, K/Ca y K/(Ca+Mg) con $r = -0.40$, -0.37 , -0.39 y -0.37 , respectivamente). En Salustiana en cambio, no se detectó ninguna correlación significativa entre ambas variables ni en ningún momento de evaluación del DF durante el almacenamiento. Este comportamiento nos llevó a estudiar otras posibles opciones. En ese sentido, se estudió también la relación entre el DF durante el almacenamiento y la concentración de nutrientes en hoja muestreada en marzo. En este caso se establecieron relaciones significativas entre el IDF a los 58 días con la concentración de K ($r = -0.48$), con la relación K/Mg ($r = -0.44$) y con la relación K/Ca ($r = -0.48$). El muestreo de hojas realizado en marzo (sobre hoja no fructífera de la brotación de la primavera anterior) está bien documentada que refleja las diferentes disponibilidades de nutrientes y que además, se puede asociar al rendimiento. En el caso de la evaluación de nutrientes en flavedo al momento de cosecha, no existe información previa al respecto. Información generada en forma paralela al proyecto señala que la concentración de nutrientes en este tejido varía en función del desarrollo de la fruta. Por lo general, a pesar del ingreso constante de nutrientes durante todo el período de crecimiento de frutas (aumento del contenido por fruto), existe un descenso en la concentración de nutrientes por lo menos en el caso del K y el Mg (Mansour 2018; Liu et al. 2020). El aumento de la materia seca en el flavedo y en la fruta genera un efecto de dilución del nutriente (la concentración de nutrientes se expresa como % sobre la materia seca). A nuestro entender, esa dilución puede ser de tal magnitud que elimina esas posibles diferencias en las concentraciones de nutrientes tal como lo reflejan (Paramasivam et al. 2000; Xiao et al. 2007). Esto trajo como consecuencia que empezamos a analizar la evolución de los nutrientes en el flavedo de la fruta desde estadíos pequeños hasta la cosecha, actividad que será parte de un nuevo proyecto de investigación en esta misma línea. En la cosecha 2020

se realizaron las determinaciones de nutrientes en flavedo y se siguió la evolución del DF. Los resultados mostraron que el tratamiento con elevados niveles de Mg presentó un deterioro muy marcado de la fruta en poscosecha desde etapas iniciales (ejemplo, IDF de 1.38 ± 0.13 y $75.8 \pm 3.2\%$ de la fruta con síntomas a los 28 días de almacenamiento, comparado por ejemplo con el tratamiento CT 0.33 ± 0.11 y $39.4 \pm 2.5\%$ con DF) en Salustiana. Esto se reflejó en una correlación positiva entre el %Mg en flavedo en cosecha con el IDF desde el día 28 hasta el día 58+7 de almacenamiento (r en el período de entre +0.44 a +0.53) y con el %DF (r en el período de entre +0.48 a +0.57). Además, se encontraron correlaciones negativas entre la relación K/Mg con el DF (IDF y %DF) hacia finales del almacenamiento (días 42 en adelante) con r en el período de entre -0.41 a -0.55, respectivamente. A pesar de las correlaciones positivas del DF con el Mg y negativas con el K/Mg, tal cual el grupo de trabajo había evidenciado en trabajos exploratorios previos, la falta de diferencias en la concentración del Mg en el tratamiento 200%Mg (el cual presentó un DF muy marcado) respecto a otros tratamientos, nos reafirma el hecho que la evaluación de los nutrientes en flavedo en el momento de la cosecha no sería una herramienta válida para predecir el comportamiento postcosecha en relación al DF. Finalmente, como otros resultados relevantes de esta sección de fertilización son: *la ausencia de correlación entre el nivel de DF y el grosor de cáscara. *la ausencia de la correlación entre el color de la fruta y el DF.

Conclusiones y recomendaciones

Los resultados obtenidos confirman las hipótesis planteadas del involucramiento de estas dos variables, hormonal y nutricional, en el desarrollo del DF en poscosecha de los cítricos. De hecho, los datos reafirman la importancia del manejo precosecha en este proceso. De modo individual, el ABA aplicado en precosecha de Navel y Valencia parecería contribuir a minimizar los síntomas de DF. En el caso de Salustiana, el efecto parece ser menor, y constaría de un retraso en la aparición de los síntomas. En este sentido, las aplicaciones de ABA podrían convertirse en una alternativa a combinarse a futuro con otras tecnologías, especialmente cuando se consideren exportaciones que conllevan alrededor de un mes de viaje, como a EEUU. Igualmente, si se consideran embarques a EEUU, el efecto encontrado del ABA en la mitigación del DF no pareciera que a corto plazo pueda convertirse en una recomendación a nivel comercial ya que actualmente, el costo de una sola aplicación comercial podría estar en el entorno de los US\$ 2000. ha⁻¹ con una dosis de 500 mg ABA.L-1 lo que seguramente no pueda ser asumido por el sector productivo en las condiciones actuales. En definitiva, como resultado conocemos que el ABA en aplicado en precosecha puede tener efecto sobre el DF, especialmente en algunas variedades, siendo necesario a futuro ajustar el momento de mayor efecto de las aplicaciones a campo. En todo caso, una posible área emergente de estudio derivado de este trabajo es también algún manejo que favorezca un aumento de ABA endógeno durante las etapa de crecimiento de fruto. Por su parte, el abordaje nutricional resulta interesante y es una de las líneas de trabajo que se continuará en un proyecto futuro. Los resultados muestran que cambios en la nutrición tendrían efecto en la aparición de DF en poscosecha. Si bien no es posible aún obtener conclusiones generalizadas, de los resultados se desprende que una adecuada fertilización con K podría contribuir a un menor DF mientras que excesivos niveles de Mg parecerían favorecerlo. También parece conveniente a futuro revisar en profundidad las relaciones entre dichos cationes. A partir de este proyecto, uno de los trabajos que se están desarrollando es evidenciar en qué momento y tejido es posible evidenciar más acertadamente la relación entre los nutrientes y el DF postcosecha. En este sentido, se continúan con los ensayos sobre las mismas plantas. Por otro lado, se están desarrollando trabajos para evidenciar la dinámica y evolución de los nutrientes en el flavedo durante el desarrollo de frutitos, desde cuajado a cosecha. Todo esto será posible gracias al trabajo acumulativo de fertilización realizado en este proyecto siempre sobre las mismas plantas y servirá como base para continuar los ensayos de un nuevo proyecto de 5 años de trabajo (Financiado por INIA). Por otro lado, se ha comenzado un estudio similar en dos variedades de limones, con un interés especial del sector productivo en el tratamiento cuarentenario de limón amarillo. Además, el mismo grupo de trabajo tiene en marcha un proyecto CSIC (Udelar) para evaluar el efecto de aplicaciones foliares de fertilizantes potásicos en el desarrollo de DF en Navel. Finalmente, entre el presente proyecto ANII y la continuación con los proyectos CSIC e INIA se consolida un trabajo interinstitucional para la resolución de problemas aplicados en el sector productivo.

Referencias bibliográficas

- Agustí M, Martínez-Fuentes A, Mesejo C. 2002. Citrus fruit quality. Physiological basis and techniques of improvement. *Agrociencia*. 6:1–17.
- Alfárez F, Sala JM, Sanchez-Ballesta MT, Mulas M, Lafuente MT, Zacarias L. 2005. A comparative study of the postharvest performance of an ABA-deficient mutant of oranges. *Postharvest Biol Technol*. 37:222–231.
- Alva A, Dirceu Mattos J, Paramasivam S, Patil B, Dou H, Sajwan K. 2006. Potassium management for optimizing Citrus production and quality. *Int J Fruit Sci*. 6:93–116.
- Cronje PJR, Barry GH, Huysamer M. 2011. Fruiting position during development of “Nules Clementine” mandarin affects the concentration of K, Mg and Ca in the flavedo. *Sci Hortic (Amsterdam) [Internet]*. 130:829–837. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2011.09.011>
- Ezz TM, Awad RM. 2009. Relationship between mineral composition of the flavedo Tissue of ‘ Marsh ’ grapefruit and chilling injury during low temperature storage. *Agriculture*. 5:892–898.
- Farhat N, Elkhouni A, Zorrig W, Smaoui A, Abdely C, Rabhi M. 2016. Effects of magnesium deficiency on photosynthesis and carbohydrate partitioning. *Acta Physiol Plant*. 38.
- Gambetta G, Martínez-Fuentes A, Bentancur O, Mesejo C, Reig C, Gravina A, Agustí M. 2011. Hormonal and Nutritional Changes in the Flavedo Regulating Rind Color Development in Sweet Orange [*Citrus sinensis* (L.) Osb.]. *J Plant Growth Regul [Internet]*. [cited 2013 Oct 18]; 31:273–282. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00344-011-9237-5>
- Gómez-Cadenas A, Vives V, Zandalinas SISI, Manzi M, Sánchez-Pérez AMAM, Pérez-Clemente RMRM, Arbona V. 2015. Abscisic acid?: A versatile phytohormone in plant signaling and beyond. *Curr Protein Pept Sci [Internet]*. 16:413–434. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84931830342&partnerID=MN8TOARS>
- Gosalbes MJ, Zacarías L, Lafuente MT. 2004. Characterization of the expression of an oxygenase involved in chilling-induced damage in citrus fruit. *Postharvest Biol Technol*. 33:219–228.
- Lado J, Alós E, Manzi M, Cronje PJR, Gómez-Cadenas A, Rodrigo MJ, Zacarías L. 2019. Light Regulation of Carotenoid Biosynthesis in the Peel of Mandarin and Sweet Orange Fruits. *Front Plant Sci*. 10:1–16.
- Lado J, Manzi M. 2017. Metabolic and Hormonal Responses of Plants to Cold Stress. In: Ghorbanpour M, Varma A, editors. *Med Plants Environ Challenges*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing; p. 409.
- Lado J, Rodrigo MJ, Cronje P, Zacarías L. 2015. Involvement of lycopene in the induction of tolerance to chilling injury in grapefruit. *Postharvest Biol Technol [Internet]*. [cited 2014 Oct 28]; 100:176–186. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925521414002701>
- Lado J, Rodrigo MJ, López-Climent M, Gómez-Cadenas A, Zacarías L. 2016. Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit. *Postharvest Biol Technol [Internet]*. 111:214–223. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925521415301186>
- Lafuente MT, Zacarías L. 2006. Postharvest physiological disorders in citrus fruit. *Stewart Postharvest Rev*. 2:1–9.
- Leng P, Yuan B, Guo Y. 2014. The role of abscisic acid in fruit ripening and responses to abiotic stress. *J Exp Bot [Internet]*. [cited 2014 Aug 27]; 65:4577–4588. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24821949>
- Liu G, Chen Y, He X, Yao F, Guan G, Zhong B, Zhou G. 2020. Seasonal changes of mineral nutrients in the fruit of navel orange plants grafted on trifoliolate orange and citrange. *Sci Hortic (Amsterdam) [Internet]*. 264:109156. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109156>
- Magwaza LS, Opara UL, Cronje PJR, Landahl S, Terry LA, Nicolai BM. 2013. Nonchilling Physiological Rind Disorders in Citrus Fruit. *Hortic Rev (Am Soc Hortic Sci)*. 41:131–176.
- Mansour R. 2018. Determination of nutritional composition in citrus fruits (*C. aurantium*) during maturity. *Nutr Food Sci*. 49:299–317.
- Melgoza FJ, Kusakabe A, Nelson SD, Melgar JC. 2014. Exogenous Applications of Abscisic Acid Increase Freeze Tolerance in Citrus Trees. *Int J Fruit Sci [Internet]*. 14:376–387. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15538362.2014.899138>
- Nuñez F, Campo RM, Pascale D, Díaz LE, Solari J, Larrechart L, Mara H. 2015. Effect of storage temperature on rind pitting and fruit rot in Satsuma ‘ Okitsu ’. *Acta Hortic*. 1065:1541–1548.
- Paramasivam S, Alva AK, Hostler KH, Easterwood GW, Southwell JS. 2000. Fruit nutrient accumulation of four orange varieties during fruit development. *J Plant Nutr*. 23:313–327.
- Rehman M, Singh Z, Khurshid T. 2018. Pre-harvest spray application of abscisic acid (S-ABA) regulates fruit colour development and quality in early maturing M7 Navel orange. *Sci Hortic (Amsterdam) [Internet]*. 229:1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.012>
- Rodrigo MJ, Alquézar B, Alós E, Lado J, Zacarías L. 2013. Biochemical bases and molecular regulation of pigmentation in the peel of Citrus fruit. *Sci Hortic (Amsterdam) [Internet]*. [cited 2014 Jun 24]; 163:46–62. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423813004238>
- Romero P, Rodrigo MJ, Lafuente MT. 2013. Differential expression of the *Citrus sinensis* ABA perception system genes during postharvest fruit dehydration. *Postharvest Biol Technol*. 76:65–73.
- Xiao JX, Yan X, Peng SA, Fang YW. 2007. Seasonal changes of mineral nutrients in fruit and leaves of “Newhall” and “Skagg’s Bonanza” navel oranges. *J Plant Nutr*. 30:671–690.

