

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



**ESTUDIO SOBRE EL EFECTO DE MELATONINA EN LA
CALIDAD POST-COSECHA DE LIMONES CON HOJA**

UNIVERSITAS
Miguel Hernández

TRABAJO FIN DE GRADO

JULIO 2022

AUTORA: ALBA CORDONES GARCÍA

TUTOR: JUAN MIGUEL VALVERDE VERACRUZ

COTUTOR: DANIEL VALERO GARRIDO

ESTUDIO SOBRE EL EFECTO DE MELATONINA EN LA CALIDAD POST-COSECHA DE LIMONES CON HOJA

RESUMEN

España es un gran productor de limón ecológico, sin embargo, es preciso reducir las pérdidas ocasionadas por enfermedades post-cosecha. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto post-cosecha de melatonina en limones con y sin hoja. El tratamiento se realizó con inmersiones durante 15 minutos de 0 mM, 0,01 mM, 0,1 mM y 1 mM. Se almacenaron durante 21 días a 2 °C más 2 días a 20 °C. Se determinó la pérdida de peso, la tasa de respiración, la textura por deformación, los sólidos solubles, la acidez titulable, la fuga de electrolitos y el índice de color de cítricos. La melatonina mejoró la calidad de los limones sin hoja. La presencia de hoja en los limones produce mayores pérdidas de peso. El limón con hoja mejoró su calidad gracias a la melatonina. La melatonina podría ser un tratamiento eficaz en mejorar la calidad post-cosecha de los frutos que se comercialicen con hoja.

Palabras claves: Pérdidas de peso, cítrico, elicitor, calidad, fuga de electrolitos.

ABSTRACT

Spain is a large producer of organic lemons, however, it is necessary to reduce the losses caused by post-harvest diseases. The aim of this work is to study the post-harvest effect of melatonin on lemons with and without leaves. The treatment was carried out with 15-minute immersions of 0 mM, 0.01 mM, 0.1 mM and 1 mM. They were stored for 21 days at 2 °C plus 2 days at 20 °C. Weight loss, respiration rate, deformation texture, soluble solids, titratable acidity, electrolyte leakage and citrus colour index were determined. Melatonin improved the quality of leafless lemons. The presence of leaf in lemons resulted in higher weight losses. Leafy lemons improved their quality due to melatonin. Melatonin could be an effective treatment in improving the post-harvest quality of fruits marketed with leaves.

Key words: Weight loss, citric, elicitor, quality, electrolyte leaka

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	6
1.1 LA AGRICULTURA ECOLÓGICA EN ESPAÑA.....	6
1.2 IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA EN ESPAÑA DEL SECTOR DEL LIMÓN	7
1.3 CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO.....	10
1.3.1 EL LIMONERO	10
1.3.2 VARIEDADES	11
1.3.3 PORTAINJERTO	13
1.3.4 PROCESO DE MADURACIÓN DEL LIMÓN	13
1.4 LA POST-COSECHA EN CÍTRICOS	14
1.4.1 RECOLECCIÓN, PROCESADO Y DISTRIBUCIÓN DEL FRUTO	14
1.4.2 DESVERDIZADO.....	15
1.4.3 CONSERVACIÓN FRIGORÍFICA	16
1.5 PRINCIPALES FISIOPATÍAS Y DAÑOS POST-COSECHA	16
1.5.1 DAÑOS POR FRÍO.....	16
1.5.2 OLEOCELOSIS.....	17
1.5.3 PETECA	17
1.6 PRINCIPALES HONGOS QUE PRODUCEN PODREDUMBRES EN LIMÓN	18
1.7 TECNOLOGÍAS Y TRATAMIENTOS POST-COSECHA	18
1.7.1 PLAGUICIDAS TRADICIONALES	18
1.7.2 MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROL POST-COSECHA	19
1.8 ELICITORES: MELATONINA.....	19
1.9 COMERCIALIZACIÓN DE CÍTRICOS CON HOJA	20
2. OBJETIVOS	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1 MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL	21
3.2 MÉTODOS ANALÍTICOS	24
3.2.2 PÉRDIDA DE PESO	24
3.2.1 TASA DE RESPIRACIÓN.....	24
3.2.3 TEXTURA POR DEFORMACIÓN.....	24
3.2.5 CONTENIDO EN SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (SST).....	25
3.2.6 ACIDEZ TITULABLE (AT).....	25
3.2.7 FUGA DE ELECTROLITOS	25
3.2.3 ÍNDICE DE COLOR DE CÍTRICOS.....	26

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	26
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1 PÉRDIDAS DE PESO.....	26
4.2 TASA DE RESPIRACIÓN.....	27
4.3 TEXTURA POR DEFORMACIÓN.....	31
4.4 SÓLIDOS SOLUBLES	34
4.5 ACIDEZ TITULABLE.....	36
4.6 FUGA DE ELECTROLITOS	38
4.7 ÍNDICE DE COLOR.....	40
4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	42
5. CONCLUSIONES	43
6. BIBLIOGRAFÍA	43



1. INTRODUCCIÓN

1.1 LA AGRICULTURA ECOLÓGICA EN ESPAÑA

La producción ecológica es un sistema general de gestión agrícola y producción de alimentos que combina las mejores prácticas en materia de medio ambiente y clima, un elevado nivel de biodiversidad, la conservación de los recursos naturales y la aplicación de normas exigentes sobre bienestar animal y acerca de la producción que responde a la demanda, expresada por un creciente número de consumidores, de productos obtenidos a partir de sustancias y procesos naturales. Desempeñando un papel social existe la norma sobre el mercado específico, la cual responde a una demanda de productos ecológicos por parte de los consumidores y proporciona al público bienes que contribuyen a la protección del medio ambiente, al bienestar animal y al desarrollo rural, dicha norma está regulada por el Reglamento (UE) 2018/848 del parlamento europeo y del consejo de 30 de mayo de 2018 sobre producción ecológica y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CE) 834/2007 del Consejo.

La producción ecológica se encuentra regulada en España desde 1989, situándose España en el segundo país europeo en superficie y producción ecológica y el tercero del mundo (MAPAMA, 2022). El sector ecológico es un mercado emergente en el que hay una gran oportunidad de crecimiento y rentabilidad a través de la innovación, la investigación y la promoción (CAECV, 2022). La evolución de la producción ecológica en España mostró un incremento desde 2004 hasta 2010. No obstante, la velocidad de crecimiento se ralentizó hasta 2015, momento en el que se inició de nuevo un periodo de crecimiento hasta 2018 (Figura 1).

En cuanto al cultivo del limón ecológico, en 2020 España alcanzó la producción de 8300 ha. Respecto a 2012 ha aumentado un 386 % su producción realizada en las comunidades autónomas de Andalucía, Región de Murcia y Comunidad Valenciana (Alimarket, 2022).

GRÁFICO: Evolución de la superficie de agrícola ecológica (hectáreas)

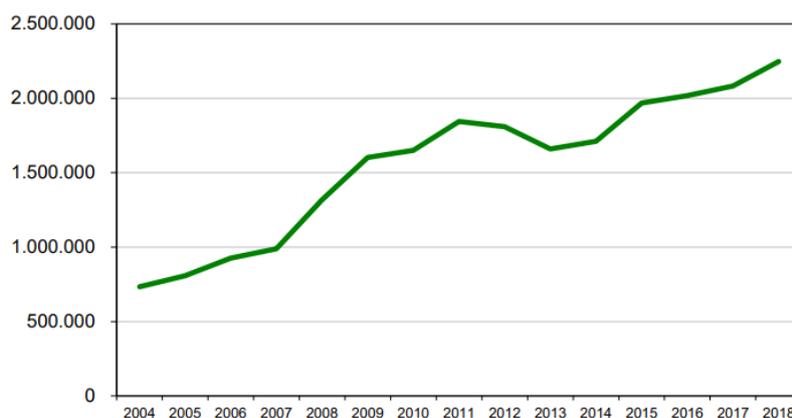


Figura 1. Evolución de la superficie agrícola ecológica (MAPAMA, 2019).

1.2 IMPORTANCIA SOCIOECONÓMICA EN ESPAÑA DEL SECTOR DEL LIMÓN

España es el segundo productor mundial de limón sólo superado por Argentina.

En cuanto a la producción en fresco, se sitúa como el primer país productor con un 20 % de producción mundial (735.000 toneladas). El segundo puesto con un 12 % (240.000 toneladas) es destinado a la industria como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Producción anual del limón en el mundo (Tm) (AILIMPO, 2022).

Argentina	España	EE.UU	Turquía	Italia	África Sur	Otros ¹
Fresco 302.000	Fresco 735.000	Fresco 623.000	Fresco 723.000	Fresco 418.000	Fresco 207.000	Fresco 650.000
Industria 1.086.000	Industria 240.000	Industria 230.000	Industria 33.000	Industria 81.000	Industria 78.000	Industria 240.000
Producción 1.388.000	Producción 975.000	Producción 853.000	Producción 756.000	Producción 499.000	Producción 285.000	Producción 890.000
TOTAL	Fresco 3.660.000		Industria 1.986.000		Producción 5.646.000	

En España podemos destacar como productor principal la Región de Murcia con un 55 %, siguiéndole Comunidad Valenciana con un 30 % y Andalucía con un 15 % (AILIMPO, 2022).

El 56 % de la producción de limón en España es exportada a otros países de la Unión Europea. Seguidamente se encuentra la parte destinada al sector de la industria, el 24 %. El resto de la producción se destina al mercado interior (13 %) y a la exportación a países no comunitarios como se puede apreciar en la Figura 2.

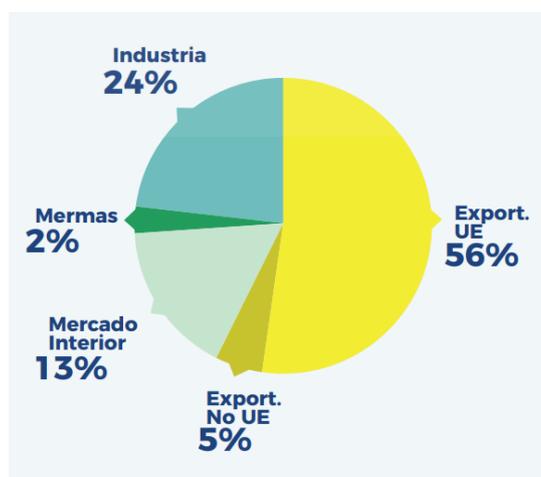


Figura 2. Destino de producción del limón en España. (AILIMPO, 2022)

Tal y como se observa en la Figura 3, que representa la producción respecto al área cosechada entre 2010 y 2020, se aprecia la tendencia al alza de producción en 2014, 2018 y 2020, asociado posiblemente

a condiciones climáticas óptimas. En relación con el área cosechada se puede observar una ligera disminución hasta el año 2014, donde se produce un cambio de tendencia y empieza a aumentar fuertemente hasta el año 2020.

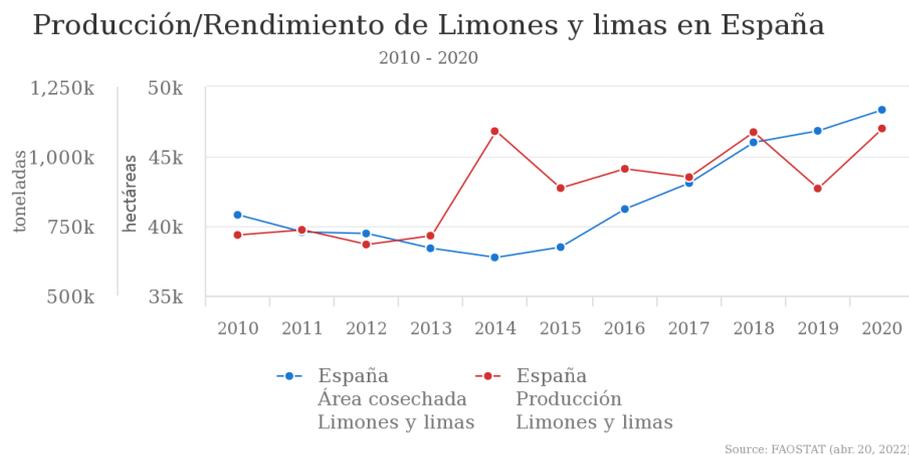


Figura 3. Producción- Rendimiento de limón y lima en España (2010-2020). Fuente: F.A.O. 2022.

En el caso de la comercialización, predomina la exportación, en la campaña 2020/2021 donde se ha exportado una cantidad similar respecto al año anterior, presentando ésta resultados récord (Figura 4).

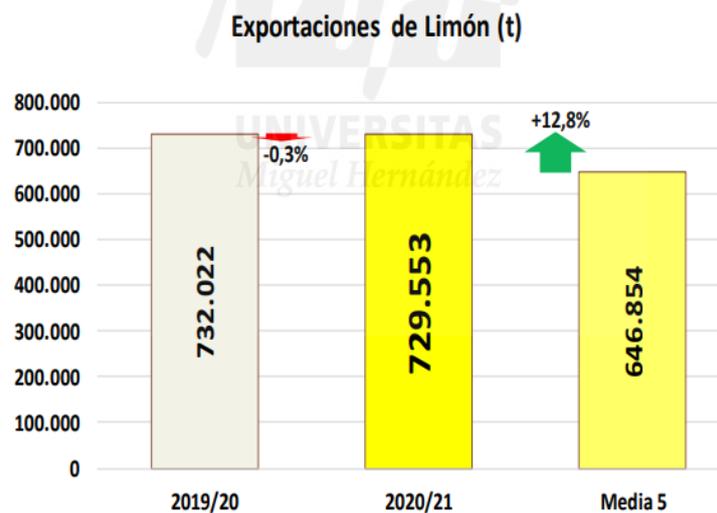


Figura 4. Exportaciones limones España. Campaña 2020/21. Boletín de Comercio Exterior de Cítricos (2022).

Las exportaciones a la UE se mantienen en equilibrio respecto a la anterior campaña, entre los países líderes destaca Alemania representando el primer destino (32 %) de las exportaciones (Figura 5).

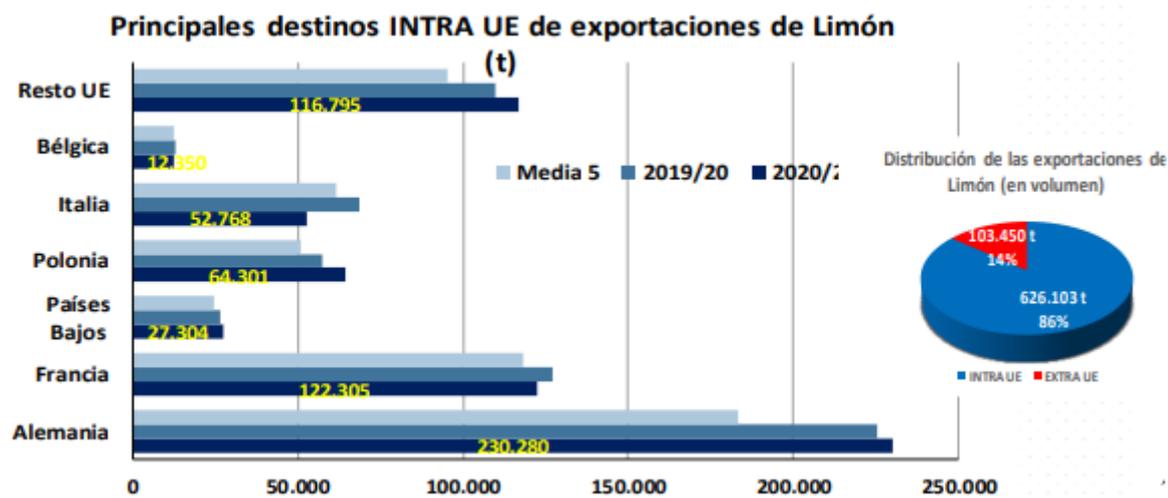


Figura 5. Principales destinos INTRA UE de exportación de limón. Campaña 2020/21. Boletín de Comercio Exterior de Cítricos (2022).

De 2010 a 2020, el limón convencional ha tenido un precio medio de 0,25 €/ Kg, ligeramente inferior al limón ecológico que presenta una cotización media de 0,40 €/ Kg.

La superficie destinada al limón ecológico ha aumentado durante los últimos años (Figura 6). Las comunidades autónomas con mayor producción son Región de Murcia 36 %, Andalucía 36 % y Comunidad Valenciana 27 %. (AILIMPO, 2020).

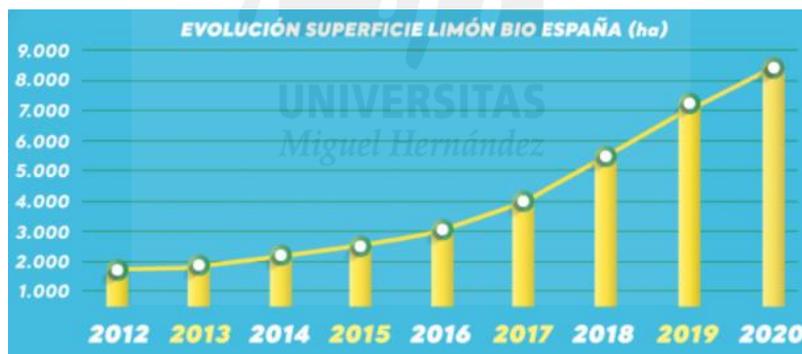


Figura 6. Limón ecológico producido en España (2012-2020). Fuente: AILIMPO 2022.

1.3 CARACTERÍSTICA DEL CULTIVO

1.3.1 EL LIMONERO

El limonero (*Citrus limon* (L.) Burm. f) pertenece a la división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsoda*, orden *Sapindales*, familia *Rutaceae*, subfamilia *Aurantioidae*, tribu *Citreae*, subtribu *Citrinae*, y al género *Citrus*, dentro de los cítricos verdaderos (García-Lor., 2013).

El limonero es un árbol de grandes hojas lanceoladas cuyo color es verde claro de peciolo corto y marginado. Durante la fase de desarrollo, los brotes jóvenes tienen hojas de color morado durante algún tiempo. El limbo esconde glándulas que contienen aceites esenciales. Las flores se agrupan en racimos y los botones florales son de color morado. Presenta carácter reflorescente, este puede ser más o menos intenso según la variedad. El fruto es de forma ovalada. La piel del fruto presenta dos capas: el flavedo o capa externa, su color varía de verde a amarillo intenso según la madurez y contiene glándulas de aceites esenciales. Dichas glándulas forman una barrera química contra insectos y microorganismos. El albedo o capa interior es blanco y esponjoso, fuente importante de pectinas y glúcidos. El espesor del albedo varía según la variedad y madurez del fruto. El limón contiene un gran número de componentes químicos naturales, como ácido cítrico, ácido ascórbico, minerales y flavonoides. Son numerosos los trabajos de investigación que establecen gran variedad de acciones biológicas a los flavonoides, entre las que se citan actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antialérgicas, antivirales, antimutagénicas y anticarcinogénicas (García Lidón *et al.*, 2003) (Figura 7, 8, 9, 10, 11).



Figura 7. Árbol limonero.



Figura 8. Hoja de limonero.



Figura 9. Flor abierta de limonero.



Figura 10. Frutos del limón. Fuente propia

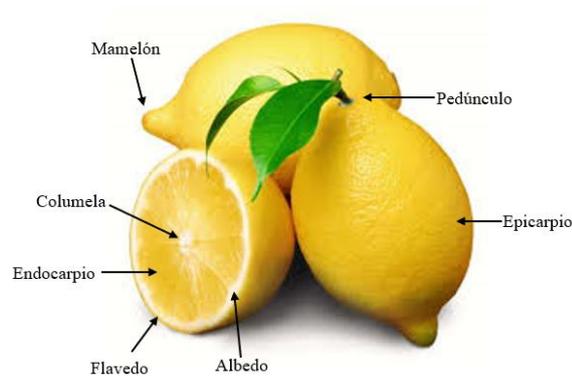


Figura 11. Partes del limón. Fuente: Propia

Entre los cítricos, el limón destaca por su sensibilidad al frío. El clima más adecuado para el cultivo del limonero es de tipo mediterráneo con período libre de heladas. Los períodos de sequía seguidos de precipitaciones juegan un importante papel en la floración (García Lidón *et al.*, 2003).

La Figura 12 muestra las principales regiones productoras, las cuales están situadas en la franja tropical y subtropical del Sur de California, Florida, Islas del Caribe, Brasil, Argentina, Sudáfrica, Madagascar, norte de África, sur de Europa, donde destacan España, Italia y Grecia, este de la India, Sudeste Asiático y Sudeste de Australia.



Figura 12. Distribución de la producción de limón en el mundo. Fuente: FAO, 2019

1.3.2 VARIEDADES

Verna y Fino son las variedades de limonero más cultivadas en España, aunque también podemos encontrar variedades americanas tales como Eureka y Lisbon, sin embargo, no son tan comunes.

- **Verna:**

Árbol de gran tamaño, con pocas espinas y vigoroso.

El fruto presenta color amarillo intenso, corteza gruesa, forma más ovalada y en su interior encontramos pocas semillas. Realiza habitualmente dos floraciones al año, en primavera y verano. También es posible en otoño posible mediante floración forzada (Figura 13) (AILIMPO 2022).



Figura 13. Limón Verna. Fuente: J. Soler, 1999.

- **Fino:** Árbol de mediano a gran porte y vigoroso. El fruto presenta color amarillo pálido, forma esferoidal u ovoidal, piel fina y mamelón pequeño y agudo. Realiza 2 floraciones, en primavera y a finales del verano. Esta última no tan intensa como en “Verna” (Figura 14) (AILIMPO, 2022).

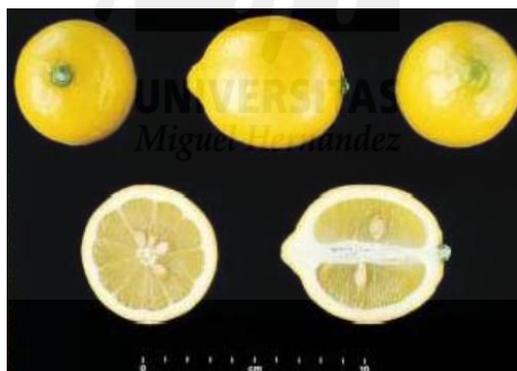


Figura 14. Limón Fino. Fuente: J. Soler, 1999

Tabla 2. Calendario de recolección variedades “fino” y “verna” (MAPAMA, 2022).

OCT			NOV			DIC			ENE			FEB			MAR			ABR			MAY		
10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30
FINO																							
									VERNA														

1.3.3 PORTAINJERTO

En España los dos patrones que casi exclusivamente se utilizan para el limonero son el naranjo amargo y el *C. macrophylla*.

- **Naranjo amargo (*C. aurantium*):** Es utilizado en todas las zonas productoras del mundo. Presenta buen desarrollo en semillero y vivero. Tolerante con las combinaciones de limonero, buena afinidad con la variedad “Fino” pero entra tarde en producción. En cambio, en la variedad “Verna” no se ve tan favorecida, forma el miriñaque, acortando la vida e induciendo problemas de clorosis. Es resistente a los hongos *Phytophthora sp.* y *Armillaria mellea*, induciendo una excelente calidad en la fruta.
- ***Citrus macrophylla* (Alemow):** Los cultivares injertados sobre esta variedad producen árboles grandes, vigorosos y rendimientos altos. Presentan favorable tolerancia en suelos calcáreos y arenosos. Es tolerante frente a la sequía, gracias a su sistema radicular denso y profundo. Los injertos que crecen sobre él tienden a ser más sensibles a heladas por lo que es más favorable en climas secos y cálidos
Actualmente es el patrón más importante para el limonero, en especial para la variedad “fino”. Tanto en la variedad “fino” como “Verna” presenta altas producciones y rápida entrada en producción. (MARM, 2008)

1.3.4 PROCESO DE MADURACIÓN DEL LIMÓN

El desarrollo y la maduración del fruto en el árbol da lugar a una serie de cambios fisiológicos, bioquímicos y sensoriales que conducen a parámetros de calidad deseables (Toivonen, 2007).

El limón es clasificado como fruto no climatérico, esto supone que no se producen aumentos en la respiración y producción de etileno durante su maduración (Azzolini *et al.*, 2005).

Para conocer el índice de madurez de forma precisa se llevan a cabo parámetros internos de calidad como la acidez o los sólidos solubles (Díaz-Puertas *et al.*, 2020). El contenido de sólidos solubles totales afecta al sabor (González-Molina *et al.*, 2008). La acidez titulable muestra las características de almacenamiento y calidad de la fruta. Si se reduce pronunciadamente induce una senescencia más rápida en la fruta (Shiri *et al.*, 2016).

Los cambios de color en el limón se relacionan a la degradación de pigmentos clorofílicos en el proceso de maduración y la acumulación de carotenoides en el flavedo. La maduración produce la degradación de clorofilas y la expresión de carotenoides, proporcionando color amarillo característico al limón (Sun *et al.*, 2019).

Los compuestos fenólicos totales y, junto con el ácido ascórbico son responsables de las propiedades antioxidantes atribuidas al fruto. Ya que, al aumentar el contenido de fenoles totales conlleva a mayores

propiedades antioxidantes, resultando una mayor tolerancia al estrés y aumentando las posibilidades de almacenamiento (Serna-Escolano *et al.*, 2019),

1.4 LA POST-COSECHA EN CÍTRICOS

1.4.1 RECOLECCIÓN, PROCESADO Y DISTRIBUCIÓN DEL FRUTO

La manipulación de cítricos sigue los procedimientos posteriores representados en el diagrama (Salvador *et al.*, 2012).

Los limones se recolectan cuando el tamaño de la fruta es suficiente para cumplir con los criterios establecidos en el Reglamento (UE) 543/2011. Esto debe hacerse con cuidado con unas tijeras para cortar el pedúnculo limpiamente sin romper el pedículo (Agustí-Fofria *et al.*, 2000). Seguidamente se almacenan en una capaza acolchada de 15 kg ya que el daño de la piel debido a un manejo inadecuado puede causar algunas alteraciones fisiológicas que reducen la vida útil de la fruta y aumentan el riesgo de podredumbre dañada por microorganismos (Li *et al.*, 2011). Una vez llegado a la central hortofrutícola se lavan para eliminar el exceso de tierra, suciedad o piedras. Esta técnica es conocida como drencher que incluye un tratamiento desinfectante para reducir la carga microbiana superficial del fruto. Después los frutos son almacenados en cámara hasta su utilización en la siguiente confección o volcados a línea, para ser sometidos a un proceso de lavado, abrillantamiento y secado. Según su diámetro, color y desperfectos en la piel el limón es clasificado en un calibrador automático organizándolo según los defectos que presente en calidad extra, categoría I, categoría II. Finalmente, el limón puede ser otra vez almacenado en cámara para ser confeccionado o directamente envasado y enviado al punto de venta (Figura 15) (Salvador *et al.*, 2012).

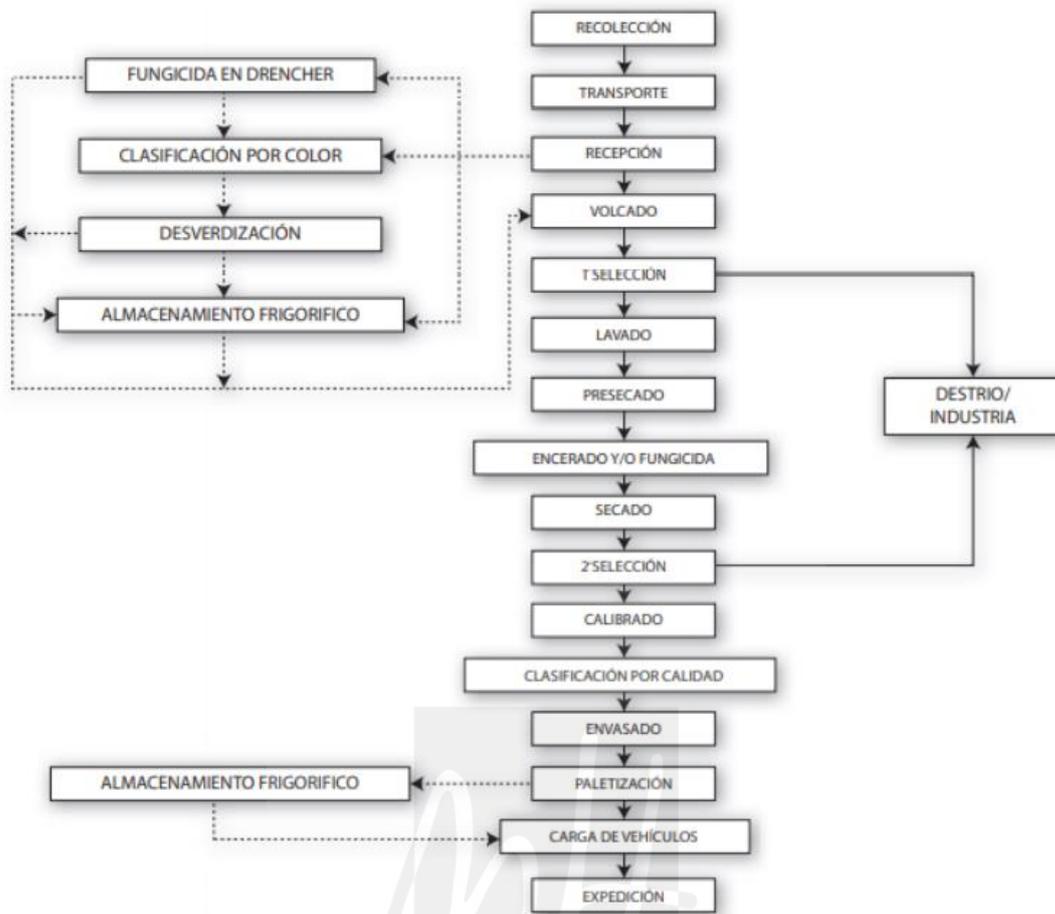


Figura 15. Diagrama de flujo de manipulación de cítricos. Fuente: Salvador *et al.*, 2012.

1.4.2 DESVERDIZADO

El desverdizado es una técnica de post-cosecha, acelera la desaparición del color verde de la piel de los cítricos reflejando la coloración que aportan los pigmentos carotenoides. En caso de síntesis de los carotenoides, puede acelerar el proceso. La finalidad es poder comercializar el fruto en su momento óptimo, aunque no haya alcanzado el grado de coloración exigido por el consumidor, pero sí cumpliendo con los requisitos de madurez apropiados para su consumo. Esta práctica se realiza en cámaras con posibilidad de control de la temperatura y la humedad relativa, dosificación de etileno, movimiento y renovación de aire.

El proceso puede acelerarse cumpliendo ciertas condiciones, estas son tratamientos de etileno a una concentración de 1 a 5 ppm, temperatura de 20 a 25 °C y humedad relativa del 90 a 95 % (Vazquez *et al.*, 2020).

No obstante, podrán ser desverdizados solamente cuando presenten el estado de madurez adecuado y los demás caracteres organolépticos naturales no sufran alteración (MAPAMA, 1970).

1.4.3 CONSERVACIÓN FRIGORÍFICA

La conservación evita el deterioro y la degradación interna del producto, debe realizarse inmediatamente después de la preparación. Según las condiciones recomendaciones para mantener la calidad post-cosecha es una temperatura óptima de 12-14 °C según el cultivar, la etapa de madurez de madurez en el momento de la cosecha, el área de producción y la duración del almacenamiento y el transporte (puede ser de hasta 6 meses). Además de una humedad relativa óptima 90-95 % (Mary Lu Arpaia *et al.*, 1999).

1.5 PRINCIPALES FISIOPATÍAS POST-COSECHA

1.5.1 DAÑOS POR FRÍO

En el limón podemos observar trastornos fisiológicos como lesiones por frío, esto disminuye su calidad provocando importantes pérdidas económicas.

Este fruto es muy sensible a la temperatura cuando se almacena a temperaturas por debajo de los 12 °C, apareciendo síntomas de daños por frío (Artés, *et al.*, 1981; Guillén-Miró, 1978).

La lesión por frío se caracteriza por una decoloración localizada en la corteza seguida del colapso del área afectada, dando lugar a depresiones en la superficie de la fruta. En limones la zona afectada suele presentar un color marrón, como se puede observar en la Figura 16. Las respuestas primarias a la lesión por frío podrían ser alteraciones de la estructura y estabilidad de la membrana celular, junto con cambios en la composición y características de lípidos y ácidos grasos (Lado, *et al.*, 2016; Sevillano, *et al.*, 2009; Wismer, *et al.*, 1998). Y las respuestas secundarias podrían ser asociadas con el estrés oxidativo en los cítricos (Lafuente, *et al.*, 2004; Sala *et al.*, 1999; Sala, 1998) (Figura 16).

Un método para evaluar daños por frío consiste en evaluar la posible rotura o desequilibrio de la membrana celular, con la consiguiente difusión de electrolitos desde el citosol a los espacios intercelulares. Estos electrolitos se miden con la técnica 'ion leakage' que consiste en medir los electrolitos por conductividad.



Figura 16. Depresiones por frío limón Fuente: Fresh plaza, 2020

1.5.2 OLEOCELOSIS

La ruptura de las células oleosas debido al estrés físico en las frutas turgentes provoca la liberación del aceite que daña los tejidos circundantes. Este trastorno es reducido evitando la cosecha de limones cuando están muy turgentes y un manejo cuidadoso (Figura 17) (Kader *et al.*, 2011).

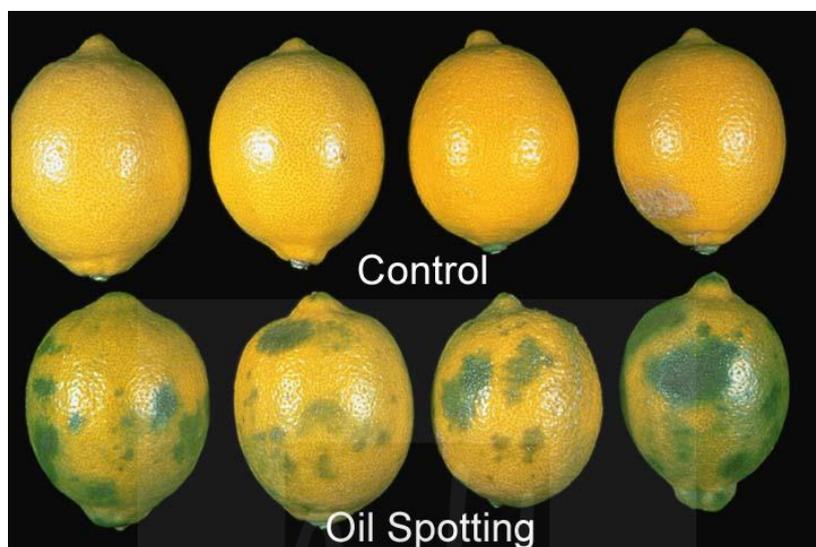


Figura 17. Oleocelosis Fuente: Mary Lu Arpaia *et al.*, 1999

1.5.3 PETECA

La peteca del limón es un desorden fisiológico post-cosecha cuyos síntomas más comunes son picaduras, hundimiento u oscurecimiento de la piel. Ocurre por el colapso de las glándulas sebáceas, el aceite se filtra hacia el tejido adyacente y provoca una depresión oscurecida. La incidencia aumenta en condiciones de alta humedad, rocío o lluvia antes de la cosecha (Cronjé, 2015) (Figura 18)

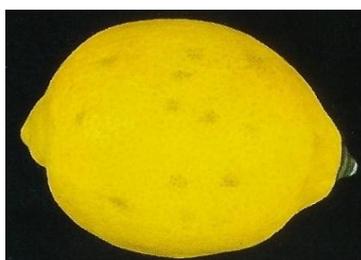


Figura 18. Peteca. Fuente: Freshplaza, 2020

1.6 PRINCIPALES HONGOS QUE PRODUCEN PODREDUMBRES EN LIMÓN

Varios hongos que causan enfermedades en el limón proceden de una inoculación producida en el campo, aunque también puede ocurrir porque su desarrollo está asociado con la post-cosecha, siendo las principales:

-Podredumbre verde: Provocada por *Penicillium digitatum*, penetra en la cáscara del fruto a través de heridas. Los síntomas comienzan desde un área empapada de agua en la superficie de la fruta seguida por el crecimiento de un micelio incoloro hasta la esporulación de color verde.

-Podredumbre azul: Causada por *Penicillium italicum*, penetra la cáscara ilesa y se propaga de un limón a los limones adyacentes. Los síntomas son similares al moho verde excepto que las esporas son azules.

-Podredumbre por *alternaria*: Provocada por *Alternaria citri* que penetra en los limones a través de sus botones. Tratamiento precosecha con ácido giberélico o tratamiento poscosecha con 2,4-D retrasan la senescencia de los botones y posterior pudrición por *Alternaria* (Mary Lu Arpaia *et al*, 1999).

-Podredumbre ácida: Causada por el hongo *Geotrichum citri-aurantii*, en el comienzo de la infección se puede apreciar una mancha de un color un poco más claro en la piel de la fruta, que en poco tiempo se convierten en mohos de tono blanco y beige en la superficie y zonas que han dejado de tener aspecto consistente para tener líquido (Soto-Muñoz *et al*, 2020).

1.7 TECNOLOGÍAS Y TRATAMIENTOS POST-COSECHA

1.7.1 PLAGUICIDAS TRADICIONALES

Actualmente las enfermedades post-cosecha han sido controladas principalmente por fungicidas convencionales como imazalil (IZ), orto-fenil fenato de sodio (SOPP), tiabendazol (TBZ) o diferentes mezclas de estos compuestos.

Los nuevos principios activos como el fludioxonil (FLU), pirimetanil, azoxistrobina (AZX) y trifloxistrobina están mayoritariamente clasificados como fungicidas de “riesgo reducido” por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Ismail y Zhang, 2004; Smilanick *et al.*, 2006; Palou *et al.*, 2008)

En cultivos ecológicos queda prohibido el uso de fungicidas. Por lo que, en comparación al limón convencional, el ecológico presenta unos problemas añadidos hasta su llegada al consumidor final en condiciones óptimas de calidad. Ya que es más susceptible a sufrir patologías post-cosecha, como podredumbres.

1.7.2 MÉTODOS ALTERNATIVOS POST-COSECHA

La problemática descrita del control químico convencional, tanto a nivel legal como comercial, social y técnico, establece un nuevo paradigma para el futuro cercano y hace evidente la necesidad de encontrar alternativas para el control de enfermedades de post-cosecha de cítricos.

Los tratamientos antifúngicos de post-cosecha no contaminantes alternativos a los fungicidas químicos convencionales pueden ser físicos, químicos de bajo riesgo o biológicos. Siendo no contaminantes, son también poco tóxicos y su actividad es más fungistática que fungicida siendo su efectividad y persistencia limitadas. Por ello, su implementación debe encajarse en una estrategia más amplia de control que para minimizar las pérdidas económicas ocasionadas por las enfermedades (Palou, 2020).

1.8 ELICITORES: MELATONINA

En agricultura ecológica, los tratamientos con fungicidas están prohibidos, por lo que para consolidar una agricultura más sostenible y sin efectos adversos a la salud del consumidor han surgido nuevas alternativas en la producción alimentaria, como el uso de elicitores. Éstas son moléculas que dan lugar a cambios fisiológicos en las plantas para activar una serie de mecanismos similares a los que se activan ante una situación de estrés físico, químico o biótico. De este modo la planta se prepara para soportar dicho estrés. Algunos ejemplos de estos compuestos que están siendo ampliamente estudiados son: ácido oxálico, ácido gamma aminobutírico, jasmonato de metilo, ácido salicílico, metil salicilato y melatonina entre otros. Recientemente se ha estudiado la aplicación de melatonina para la mejora de la calidad post-cosecha y fortalecer la resistencia a la senescencia inducida por el estrés oxidativo de muchos productos hortícolas. Sin embargo, los efectos de la melatonina sobre la calidad del almacenamiento y la senescencia fisiológica de los cítricos aún no están claros (Ma Qiaoli et al., 2021).

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es un compuesto de indol universal a base de triptófano con un peso molecular bajo que se encuentra en todos los organismos vivos, desde bacterias, hongos y plantas hasta mamíferos.

Varios estudios han sugerido que la melatonina endógena o exógena está involucrada en varios procesos a lo largo de las fases vegetativas y reproductivas de las plantas, desde la germinación de semillas, desarrollo de raíces, crecimiento de plantas, floración y maduración de frutos hasta la senescencia de las hojas. Como un importante eliminador de radicales y antioxidante, la melatonina también juega un papel importante en la respuesta de la planta al estrés biótico (bacterias, hongos, virus, plagas, etc.) y al estrés abiótico (sequía, salinidad, temperatura alta o baja, metales pesados, oxidación (Tiwari *et al.*, 2020).

1.9 COMERCIALIZACIÓN DE CÍTRICOS CON HOJA

Actualmente existen en la comercialización de algunos cítricos la opción de venta del fruto junto a tallo y hojas, principalmente en clementinas y naranjas. La presencia de hoja junto al fruto tiene una connotación de producto más natural y fresco. Esta estrategia de marketing ya se lleva a cabo en el sur de Italia, Reggio Calabria, donde se comercializan limones junto a tallo y hojas. En España este formato comercial no está implantado todavía, aunque ya existen comercializadoras interesadas en su lanzamiento.

No existe suficiente conocimiento del papel que la hoja tiene en el mantenimiento de la calidad durante la post-cosecha donde posiblemente la savia juegue un papel importante. La savia bruta es una sustancia líquida creada tras la absorción de las raíces del agua y las sales minerales transportada desde las raíces hasta las hojas por los vasos leñosos. La savia elaborada es el resultado de la transformación de la savia bruta tras el proceso de la fotosíntesis transportándose desde las hojas hasta los frutos que funcionan como sumideros, acumulando agua, sales minerales, azúcares y fitorreguladores.

Se han realizado algunos estudios en piña llegando a las conclusiones de que la corona juega un papel importante en el mantenimiento de calidad post-cosecha. Su desprendimiento de la corona de la piña después de la cosecha incrementa el pardeamiento interno, las especies reactivas del oxígeno (ROS), el daño de la membrana celular, la biosíntesis y la oxidación de compuestos. También se ven afectados otros factores como la reducción de translucidez, acidez y sólidos solubles totales aumentando estos dos últimos. Influyendo estos sucesos directamente en la calidad del fruto (Kana Murai *et al.*, 2021).

Es probable que mantener la hoja junto al fruto durante la post-cosecha en limones tenga un efecto conservador de la calidad, además, la absorción de compuestos (elicitores) a través de la hoja y transporte hacia el interior del fruto puede ser una herramienta más eficiente de realizar tratamientos post-cosecha.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es el estudio del tratamiento post-cosecha con melatonina en limones. Para ello se plantean los siguientes objetivos parciales:

- Conocer el efecto de diferentes dosis de melatonina aplicadas en baños por inmersión en limones tras su recolección.
- Conocer el efecto de la presencia de hoja junto al limón en la calidad post-cosecha y vida útil.
- Conocer el efecto de la presencia de hoja en la eficacia del tratamiento con melatonina.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Los ensayos se llevaron a cabo con limón ecológico de la variedad ‘Fino’ sobre patrón naranjo amargo, cultivados en una explotación comercial ubicada en La Matanza de Orihuela, polígono 25 parcela 8 (38°08'11"N 1°00'38"O, Alicante, España) (Figura 19 y 20). Los campos están situados en una zona con clima mediterráneo, caracterizado por una temperatura media anual de 18,2 °C y unas precipitaciones de 283mm. Los limoneros fueron cultivados siguiendo la normativa de la Agricultura Ecológica vigente, utilizando un marco de plantación de 6 x 5 m y 20 años.



Figura 19. Ubicación geográfica La Matanza de Orihuela. Fuente Google mapas



Figura 20. Ubicación geográfica finca. Fuente: Google mapas

La recolección se realizó el 16 de noviembre de 2021. Se seleccionaron 30 árboles en buen estado vegetativo, a cada uno de los cuales se les recolectó 10 frutos, 5 de ellos con una parte de tallo y un par de hojas y los otros 5 cortados por el pedúnculo de modo estándar a la comercialización cotidiana como se aprecia en la Figura 21 y 22. Por tanto, se recolectaron 300 limones (10 por árbol), de calidad comercial, sin daños físicos y homogéneos en tamaño y color, con un calibre entre 70 y 90 mm, 150 limones con hoja y otros 150 sin hoja.



Figura 21. Fruto hoja. Fuente: Propia



Figura 22. Fruto sin hoja. Fuente: Propia

Los limones recolectados se transportaron inmediatamente al laboratorio del grupo de Post-cosecha de Frutas y Hortalizas de la UMH en el Campus de Desamparados, edificio Oriol.

Se prepararon 10 lotes de 30 frutos, 5 lotes con hojas y otros 5 sin hojas (Figura 23 y 24). Todos los frutos fueron identificados y pesados. Se utilizó un lote de 30 frutos con hoja y otro sin hoja para las determinaciones del día 0.



Figura 23. 4 lotes limones sin hoja que se ha realizado tratamiento, 120. Fuente: Propia



Figura 24. 4 lotes limones con hoja que se ha realizado tratamiento, 120. Fuente: Propia

Al resto de los limones se les realizó un tratamiento con melatonina a las concentraciones 0 mM (control), 0,01 mM, 0,1 mM y 1 mM en limones con hoja y sin hoja, mediante una inmersión durante 15 minutos. Después de la inmersión los frutos son secados al aire antes de introducirlos en la cámara frigorífica e iniciar su conservación post-cosecha (Figura 25). El almacenamiento frigorífico se prolongó durante 3 semanas a 2 °C (21 días) más 2 días a 20 °C.



Figura 25. Diferentes tratamientos para la inmersión del limón. Fuente: Propia

Se realizaron las siguientes determinaciones analíticas: tasa de respiración, pérdidas de peso, índice de color de cítricos, textura por deformación, contenido en sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT) y fuga de electrolitos.

3.2 MÉTODOS ANALÍTICOS

3.2.1 PÉRDIDAS DE PESO

La determinación de peso se realizó mediante una balanza Radwag WLC 2/A2 (Radwag wagi Elektronicze), se usaron 2 cifras decimales de precisión y se expresó en gramos. El día de la recolección (Día 0) se pesaron todos los frutos de los lotes y volvieron a pesarse el día de muestreo.

Tras obtener el porcentaje de pérdida de peso de cada lote con respecto a su peso inicial, los resultados son la media \pm ES de 30 frutos por cada lote.

3.2.2 TASA DE RESPIRACIÓN

Para determinar la tasa de respiración se utilizó el sistema propuesto por Kader (1995). Consiste en encerrar un recipiente hermético un producto durante un tiempo determinado. Para realizar estas medidas se colocó cada fruto individualmente hasta los 30 en un frasco de vidrio de 0,5 L durante 60 minutos. La tapadera incorporaba un septum (válvula de material elástico) que permitía tomar una muestra del aire de cabeza con jeringas de 1 mL. Mediante un cromatógrafo de gases Shimadzu 14B-GC acoplado a un detector de conductividad térmica (TCD) y una columna CTR I (ALLTECH) se determinó la producción de CO_2 . Las condiciones de trabajo fueron: el horno se encontraba a una temperatura de 35 °C, el inyector se encontraba a una temperatura de 120 °C, temperatura del detector 120 °C y el flujo de la fase móvil (Helio) de 65 mL/min.

Antes de la inyección de la muestra tomada en el frasco hermético, se calibró con una muestra de aire atmosférica a concentración de CO_2 de 0,036 %. El cromatógrafo estaba asociado a un equipo informático que registra e integra el área del pico, permitiendo la cuantificación. A la hora de calcular el CO_2 producido se utilizó el peso del fruto, el volumen del recipiente y el tiempo que permanecía en el recipiente mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{mg\ CO_2}{kg\ x\ h} = \frac{(V-P) \times (0,687 \times A_{CO_2} \times 60)}{A_{patrón} \times P \times T}$$

Una vez realizado, se comparó el área de integración del pico de la muestra con la de patrones de concentración conocidos. Los resultados para la tasa de respiración fueron la media \pm ES de 30 frutos de cada lote. Se expresaron como $mg\ de\ CO_2\ kg^{-1}\ h^{-1}$.

3.2.3 TEXTURA POR DEFORMACIÓN

Mediante el texturómetro TA-XT2i (Stable Microsystems, Godalming, UK) se determinó la firmeza individualmente en cada uno de los frutos de cada réplica, el texturómetro se encontraba acoplado a una sonda que presentaba una placa con un disco de acero plano. Este instrumento es válido para hacer

ensayos de tracción, compresión y flexión con una fuerza máxima de 25 N y una precisión media de 0,5 a 1 %.

Para determinar la firmeza del fruto, el disco de acero de la sonda aplica una fuerza constante sobre la superficie del fruto hasta producirle una deformación del 5 % respecto a su diámetro ecuatorial. Los resultados se expresan en $N\ mm^{-1}$. Los datos son el resultado de la media \pm ES de 30 frutos de cada lote.

3.2.4 CONTENIDO EN SÓLIDOS SOLUBES TOTALES (SST)

Los sólidos solubles totales (SST) se midieron mediante el refractómetro por duplicado del zumo recién exprimido y filtrado a través de una gasa. Para ello se empleó el refractómetro digital Hanna HI96801 (Hanna Instruments, Rhode Island, EEUU), calibrado previamente con agua destilada y realizando lecturas a 20 °C. Esta técnica se basa en los distintos índices de refracción que presentan dos medios con unas sustancias disueltas diferentes, el zumo y el agua destilada. Los resultados se expresaron como g equivalentes de sacarosa en 100 g^{-1} de peso fresco. Los datos son el resultado de la media \pm ES de 30 frutos de cada lote.

3.2.5 ACIDEZ TITULABLE (AT)

La acidez total (AT) se determinó por duplicado en zumo de limón mediante la valoración potenciométrica automática con el equipo 785 DMP Tritino (Metrohm), cuya sensibilidad es de \pm 0,01 pH. 0,5 mL de zumo diluido fueron valorados en 25 mL de agua destilada, mientras se añadía NaOH 0,1 N hasta alcanzar el pH=8,1 (AOAC, 1990). Los resultados se expresaron como g equivalentes de ácido cítrico en 100 g^{-1} de peso fresco. Los datos son el resultado de la media \pm ES de 30 frutos de cada lote.

3.2.6 FUGA DE ELECTROLITOS

A cada uno de los limones se les realizó 2 incisiones de carácter circular en la piel con un tubo denominado “sacabocados”, tomando únicamente flavedo y albedo, no la pulpa del fruto. Cada réplica consta de 10 frutos, el total de muestras por réplica es de 20. Estas 20 muestras de tejido son lavadas por triplicado en agua ultrapura durante 3 minutos. Después del lavado se introducen en frascos de vidrio de 100 ml con 50 ml de agua ultrapura Mili-Q en su interior y se ponen en agitación durante 30 minutos. Tras este tiempo, se mide la conductividad, posteriormente se congelan los frascos y su contenido. A las 24 horas se descongelan los botes lentamente y se autoclavan 15 minutos a 121 °C. Una vez fríos se vuelve a medir la conductividad.

$$\frac{\text{Conductividad inicial} \times 100}{\text{conductividad total}}$$

3.2.7 ÍNDICE DE COLOR DE CÍTRICOS

El color externo se calculó en 3 puntos equidistantes del perímetro ecuatorial del fruto utilizando un colorímetro triestímulo Minolta (CRC 200, Minolta Camera Co., Japon), usando el sistema de coordenadas CIELab (L*, a* y b*). Es el sistema de medida que más se acerca a la percepción humana del color y cuyo análisis permite distinguir la luminosidad que ronda entre 100 para el blanco y 0 para el negro, y la cromaticidad (tono y croma), que se indica con por los parámetros a* y b* conjuntamente. Los resultados se expresan con el índice de color de cítricos utilizando la siguiente fórmula:

$$ICC = \frac{10000 \times a}{L \times b}$$

Los datos son el resultado de la media \pm ES de 30 frutos de cada lote.

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el software IBM SPSS Statistics versión 20. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) unidireccional para identificar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) mediante una comparación de medias para los distintos subconjuntos o tratamientos, utilizando el test Tukey. Además, se llevaron a cabo los análisis de correlación de Pearson para estudiar la relación entre las distintas variables estudiadas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PÉRDIDAS DE PESO

La pérdida de peso de frutas y hortalizas a lo largo de su almacenamiento se debe principalmente a la disminución de agua durante la transpiración, siendo una de las causas principales del deterioro de limones que da lugar a pérdidas de calidad. Una vez recolectado el limón continúan los procesos de transpiración donde el agua en estado de vapor atraviesa los estomas y la epidermis provocando la pérdida del peso del fruto (Valero y Serrano 2010).

La evolución de las pérdidas de peso en limones sin hoja durante 21 días de almacenamiento refrigerado y 2 días a 20 °C se muestra en la Figura 26. En cuanto a las muestras de limones sin hojas con melatonina, no se observaron diferencias significativas entre ellas ni entre la muestra control. La pérdida de peso fue del 5 % aproximadamente en todas las muestras, sin diferencias significativas entre ellas.

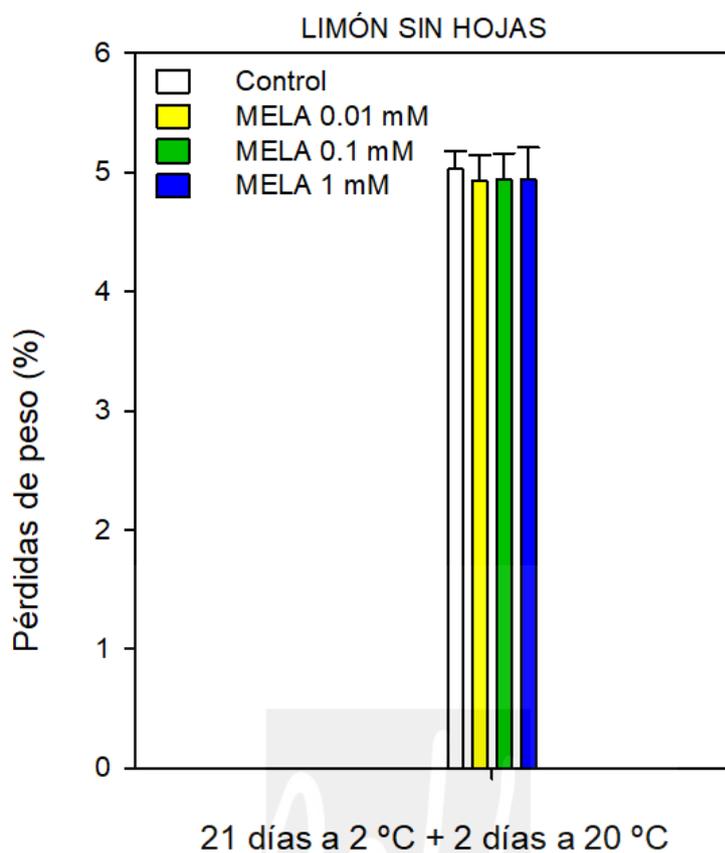


Figura 26. Evolución de pérdidas de peso en limones sin hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

En cambio, la evolución de pérdidas de peso en limones con hoja mostró un comportamiento distinto (Figura 27). En limones control la pérdida de peso fue de $6,19 \pm 0,30$ % siendo casi 1% mayor que respecto al limón sin hoja. Sin embargo, en limones tratados se observó una menor pérdida de peso respecto a los controles, siendo esta menor en las concentraciones más altas, por tanto, se registró un efecto dosis dependiente de la melatonina. Los limones tratados a 1 mM de melatonina presentaron pérdidas de peso de $4,96 \pm 0,28$ %, este valor fue muy similar al alcanzado por los limones sin hoja.

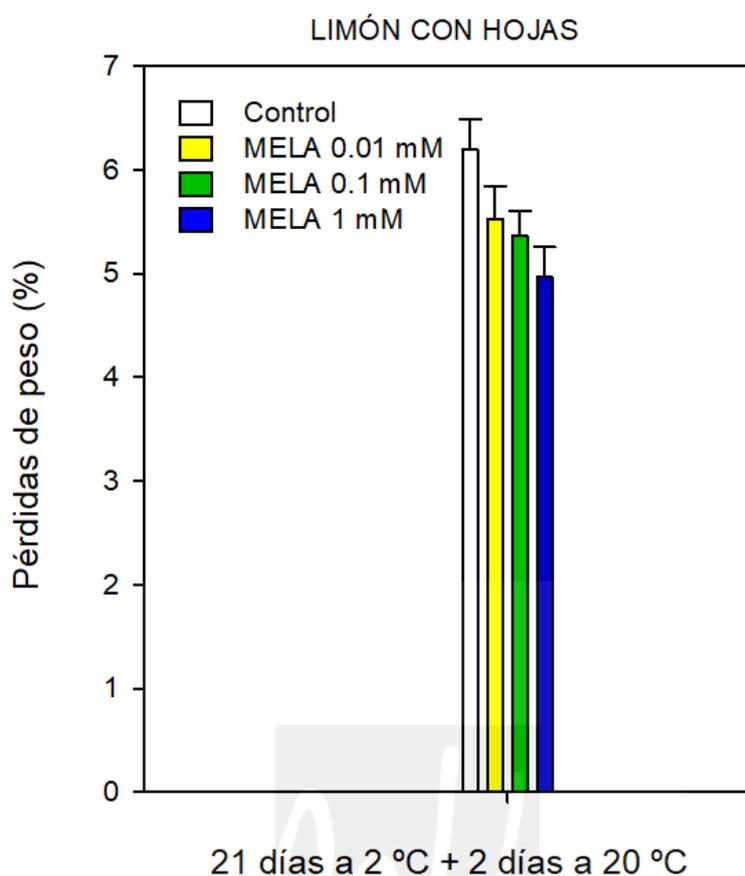


Figura 27. Evolución de pérdidas de peso en limones con hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

Al comparar los dos métodos de conservación (sin y con hoja) se ha observado que, los limones sin hoja presentaban menores pérdidas de peso que cuando el fruto mantenía la hoja. Esto podría ser por la mayor superficie de la hoja que promueve una mayor transpiración. Los resultados muestran que el tratamiento con melatonina no afecta a los limones sin hoja, sin embargo, sí que tiene un efecto beneficioso en limones con hoja. Siendo este efecto mayor cuanto más alta es la dosis de melatonina. Por lo tanto, la presencia de hoja parece permitir una mejor absorción del tratamiento de melatonina. En cambio, en otro experimento Ma *et al.*, (2021) estudió la aplicación de melatonina post-cosecha en naranja sin hoja (5 minutos de inmersión 0,2 mM) y llegó a la conclusión de que este tratamiento causó una disminución significativa en la pérdida de peso respecto al control. También se han encontrado resultados similares en mandarina, fresa (5 minutos a las mismas concentraciones que nuestro experimento), cereza dulce y otras frutas y verduras 'Kinnow' (Bal, 2020; Liu *et al.*, 2018; Miranda *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2019). Todos estos investigadores han obtenido resultados favorables en reducir la pérdida de peso de sus frutos sin hoja gracias a los tratamientos con melatonina. Sin embargo, en nuestro experimento con limones ha sido necesaria la presencia de hoja para que este efecto fuese observable. Estas investigaciones indican un tiempo de inmersión mucho menor que el aplicado en

nuestro experimento y ellos han obtenido resultados favorables. Es posible, que la capa externa de los limones, flavedo y albedo, presente una barrera que impida la rápida asimilación de la melatonina, y por tanto sea necesario un mayor tiempo de inmersión y por ello cuando se realizaron los tratamientos con hoja, se favoreció la absorción de melatonina a través de esta. Sería recomendable profundizar en el estudio de la eficacia de los tiempos de inmersión y las concentraciones para optimizar los tratamientos con este tipo de frutos.

4.2 TASA DE RESPIRACIÓN

La respiración de los frutos consiste en una serie de reacciones catalizadas por enzimas, cuya velocidad está relacionada con la temperatura. En frutas y hortalizas, aunque se interrumpa su actividad fotosintética respiran tras su recolección. Para obtener energía, los azúcares procedentes de la degradación del almidón se oxidan dando lugar a H_2O y CO_2 (Valero y Serrano, 2010).

La evolución de la tasa de respiración en limones sin hoja durante 21 días de almacenamiento refrigerado y 2 días a 20 °C se muestra en la Figura 28. La tasa de respiración aumenta a lo largo del almacenamiento. A los 23 días, los limones sin hoja control muestran una tasa de respiración de $14,65 \pm 0,30 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respecto a $8,79 \pm 0,74 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ del día 0. Los limones sin hoja tratados con melatonina tendieron a tener una menor tasa de respiración, a excepción de los tratados con 0,01 mM con resultados ligeramente superiores al control con $14,83 \pm 0,42 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Este resultado da a entender que la dosis más baja de 0,01 mM no llega a tener efecto en este parámetro fisiológico. Las dosis más altas de melatonina, especialmente 0,1 ($13,55 \pm 0,35 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) sí que ofrecen diferencias significativas respecto al control.

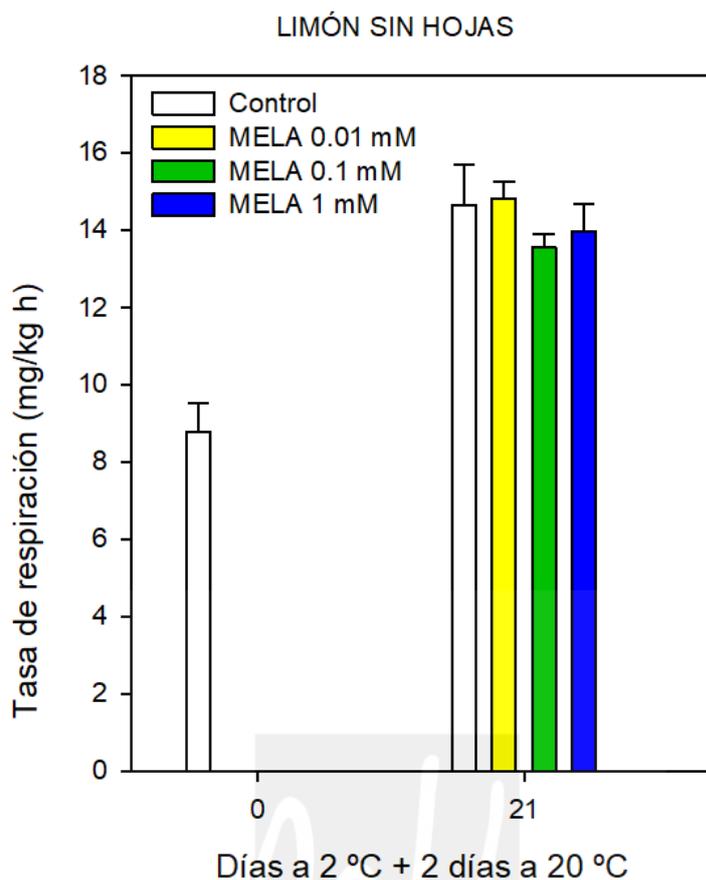


Figura 28. Evolución de tasa de respiración en limones sin hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

Sin embargo, la evolución de la tasa de respiración en limones después de 21 días refrigerados a 2 °C y 2 días a 20 °C de almacenamiento en frutos con hoja mostró un comportamiento similar respecto al otro método de conservación (Figura 29). La tasa de respiración aumentó respecto al día de recolección (Día 0). A los 23 días, los limones con hoja control mostraron una tasa de respiración de $13,46 \pm 0,34 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ siendo alrededor de 1 % menor que respecto al limón sin hoja. Los limones con hoja tratados con melatonina tendieron a aumentar su tasa de respiración, a excepción de los tratados con 0,1 con resultados ligeramente inferiores al control con $12,40 \pm 0,22 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

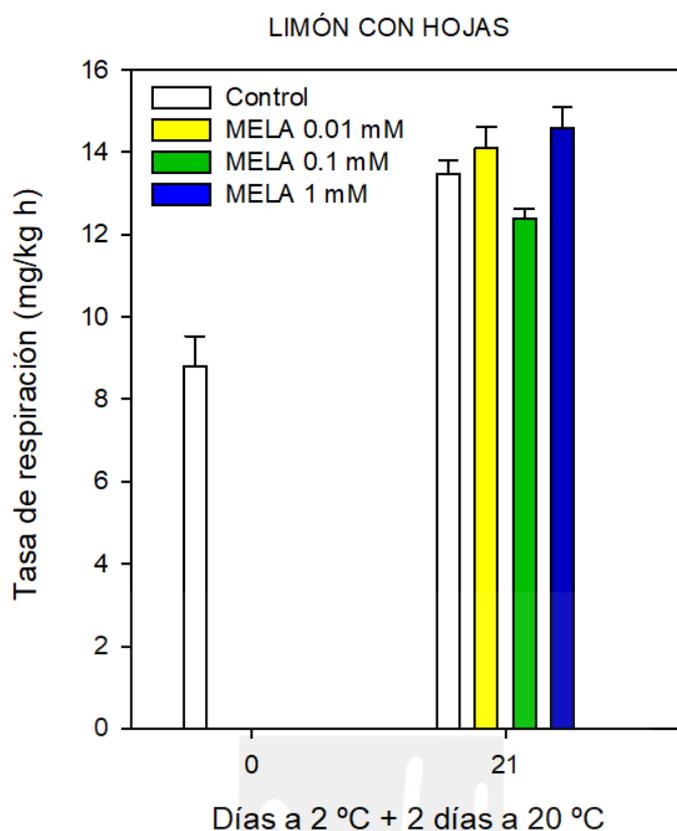


Figura 29. Evolución de tasa de respiración en limones con hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

Tanto con hoja o sin hoja la tasa de respiración aumenta respecto al día 0. Siendo ligeramente menor en presencia de hoja. Sin embargo, en relación con los tratamientos con melatonina cuando no hay hoja se produce una ligera disminución de la tasa respiratoria, y con hoja ocurre lo contrario, se muestra un ligero aumento de la respiración, excepto en la dosis intermedia. En el experimento de naranjas citado anteriormente (Ma *et al.*, 2021), se obtuvieron resultados similares a los limones sin hoja. En ese trabajo se llega a la conclusión que la melatonina retrasa notablemente la senescencia fisiológica a través de una reducción de la respiración post-cosecha. También se han encontrado resultados similares en fresas (Liu C *et al.*, 2018). No queda clara la causa por la cual la melatonina en limones con hoja tiene un efecto en aumentar la tasa respiratoria de los limones. Podría deberse a que la mayor cantidad de melatonina absorbida por la hoja prolongue la vida útil de la hoja y facilite una mayor eficacia fisiológica del proceso respiratorio de la hoja.

4.3 TEXTURA POR DEFORMACIÓN

Por otra parte, la textura de las frutas y hortalizas se modifica a lo largo del almacenamiento post-cosecha. Estos cambios en la textura están relacionados con la turgencia de los tejidos y, por tanto, con

la actividad hidrolítica de enzimas que se encargan de degradar pectinas, celulosas y hemicelulosas de la pared celular (Paniagua *et al.*, 2014).

Tal y como se observa en la Figura 30, que representa la textura por deformación de los limones sin hoja control y tratados con melatonina en el día 0 y 23, se ha apreciado un importante ablandamiento durante el almacenamiento. Desde $13,36 \pm 0,55 \text{ N mm}^{-1}$ hasta $7,77 \pm 0,35 \text{ N mm}^{-1}$ en los controles pasados 23 días. El tratamiento con melatonina parece aumentar ligeramente la firmeza con las mayores dosis. Sin embargo, estas diferencias no son significativas.

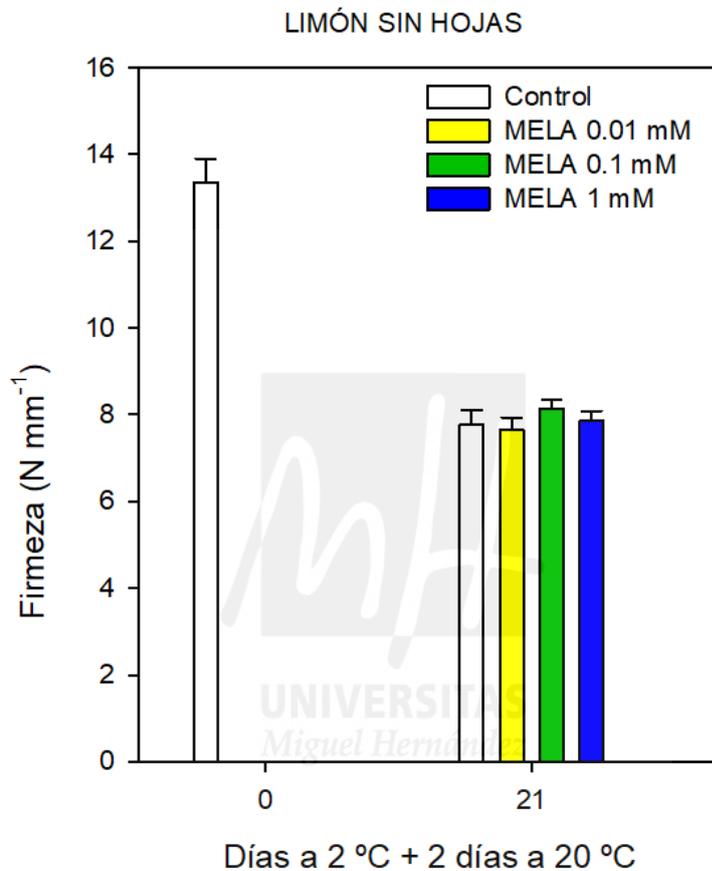


Figura 30. Evolución de textura por deformación en limones sin hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

Por el contrario, los limones almacenados con hoja han mostrado diferentes cambios en la textura de deformación en comparación a los sin hoja (Figura 31). En ambos ocurren pérdidas de firmeza respecto al día 0. Después de 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C almacenados los limones con hoja, el control mostraba resultados de $7,24 \pm 0,33 \text{ N mm}^{-1}$ similar a los frutos tratados sin hoja. Sin embargo, los tratados con melatonina tendieron a la linealidad ascendente desde los que presentan melatonina a 0,01 mM mostrando datos de $8,21 \pm 0,39 \text{ N mm}^{-1}$ hasta los tratados con melatonina a 1 mM alcanzando resultados de $8,89 \pm 0,37 \text{ N mm}^{-1}$ (existiendo un efecto dosis-dependiente de la melatonina). Los resultados en limones con hoja con melatonina fueron ligeramente superiores a los tratados sin hoja.

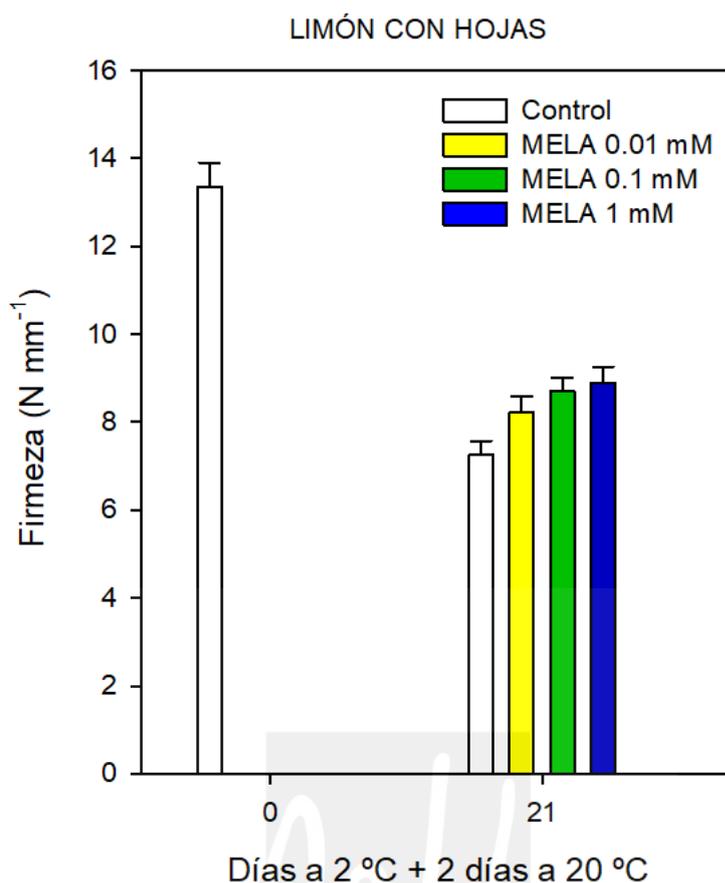


Figura 31. Evolución de textura por deformación en limones con hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

Al comparar los dos métodos de conservación se refleja que tanto sin hoja como con hoja hay un importante ablandamiento respecto al día 0 presentando ambos controles resultados similares.

No obstante, al observar respecto a los tratados con melatonina, en limón sin hoja su aplicación no influye. Sin embargo, en limones con hoja conforme aumenta la concentración de melatonina presenta un ablandamiento menor.

En otro estudio como el de Sun *et al* (2015), ha contemplado que la aplicación de melatonina exógena en tomates inmaduros mediante inmersión a concentraciones menores aceleró el ablandamiento. De igual modo, Ma *et al.*, (2021) obtuvo resultados similares al limón sin hojas en su estudio realizado en naranjas. Donde aplicó un tratamiento con melatonina a concentraciones parecidas a las efectuadas en este estudio. Se mantenía significativamente la firmeza durante el almacenamiento de naranjas.

Por lo que se podría concluir que la diferencia de respuesta a los tratamientos con melatonina podría estar conectado con el estado de inmadurez.

4.4 SÓLIDOS SOLUBLES

La cantidad de sólidos solubles y acidez titulable son parámetros clave para evaluar la cantidad de zumo del limón. El contenido de SST se asocia con la calidad de consumo de fruta madura, ya que afecta al sabor. Se usa como índice de madurez en las mediciones de calidad (González-Molina *et al*, 2010).

La evolución de las pérdidas de sólidos solubles totales en limones sin hoja durante 21 días de almacenamiento refrigerado y 2 días a 20 °C se muestra en la Figura 32. El día 0 mostraba una cantidad de sólidos solubles de $8,45 \pm 0,03$ %, después del almacenamiento todos los limones tuvieron una concentración muy similar en torno al 8,6 %. Por lo tanto, la melatonina no ejerció un efecto en cambiar la cantidad de melatonina en el fruto.

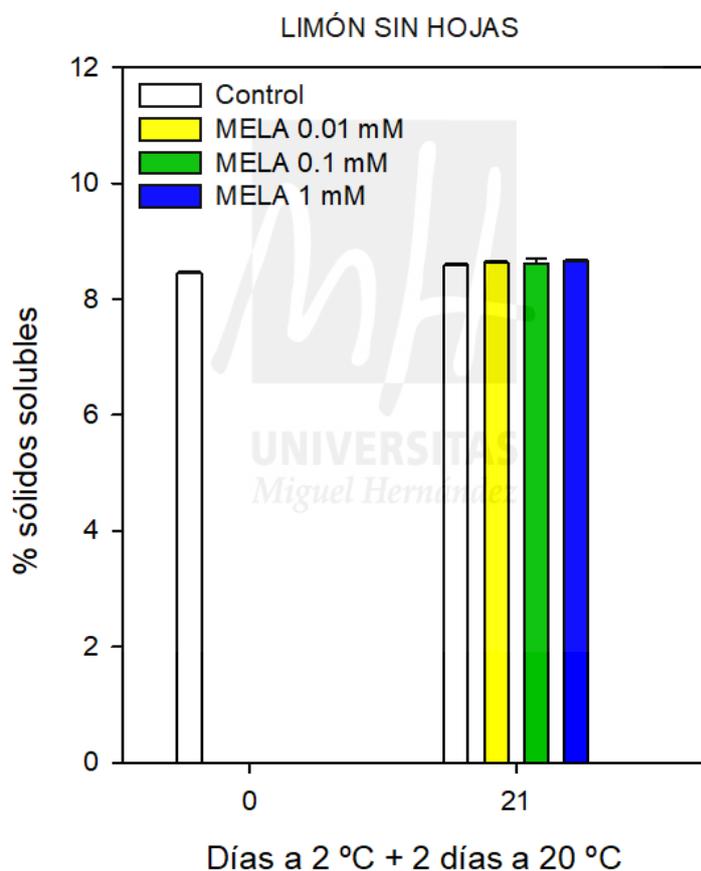


Figura 32. Evolución de sólidos solubles totales en limones sin hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20°C.

No obstante, los limones almacenados con hoja mostraron resultados similares respecto a los almacenados sin hoja. La evolución de sólidos solubles totales durante 23 días de almacenamiento en limones con hoja se muestra en la Figura 33. En cuanto a las muestras de limones con hojas con

melatonina, no se observaron diferencias significativas entre ellas ni entre la muestra control. El contenido de sólidos solubles es del 8,5 % aproximadamente en todas las muestras.

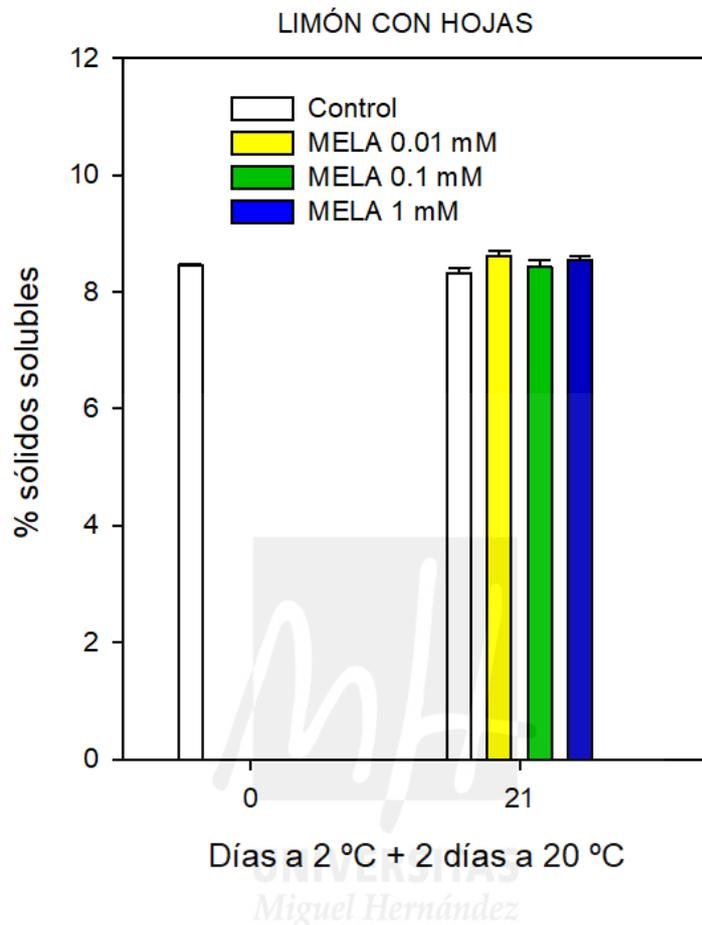


Figura 33. Evolución de sólidos solubles totales en limones con hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

Los limones con hoja y sin hoja presentan resultados similares, donde respecto al día 0 no hay cambios sustanciales en la cantidad de sólidos solubles. La melatonina no afecta a los azúcares que es el componente mayoritario que influye en el contenido total de sólidos solubles. Sin embargo, en otro estudio de tratamiento post-cosecha con melatonina en naranja sí se alteró los contenidos en sólidos solubles, mostrando un aumento significativo durante el almacenamiento (Ma *et al.*, 2021). Investigaciones previas han demostrado que la melatonina exógena podría suprimir eficazmente el contenido de sólidos solubles, mostrando una acumulación más baja respecto a los no tratados con melatonina en post-cosecha de frutos como mango, baya, cereza dulce y otros (Liu *et al.*, 2018; Miranda *et al.*, 2020; Tang *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2019). Por lo que se deducirá que la melatonina afecta en los sólidos solubles dependiendo del fruto.

4.5 ACIDEZ TITULABLE

La AT junto a los SST juegan un papel importante a la hora de determinar la calidad del zumo de un fruto. La evolución de AT durante los 23 días de almacenamiento en limones sin hoja se muestra en la Figura 34.

Al inicio del ensayo, la AT de los limones sin hoja presentó valores de $7,05 \pm 0,09$ g equiv. ácido cítrico 100-1 g p.f.. Pasados 23 días, sufren un ligero descenso. El limón control sin hoja mostró resultados de $6,26 \pm 0,17$ g eq.. En comparación con el control, los tratados con melatonina obtuvieron resultados superiores, pero sin presentar diferencias significativas entre tratamientos. Por lo que la melatonina tiene un efecto en mantener los ácidos orgánicos, concretamente en este caso de limones, el ácido cítrico.

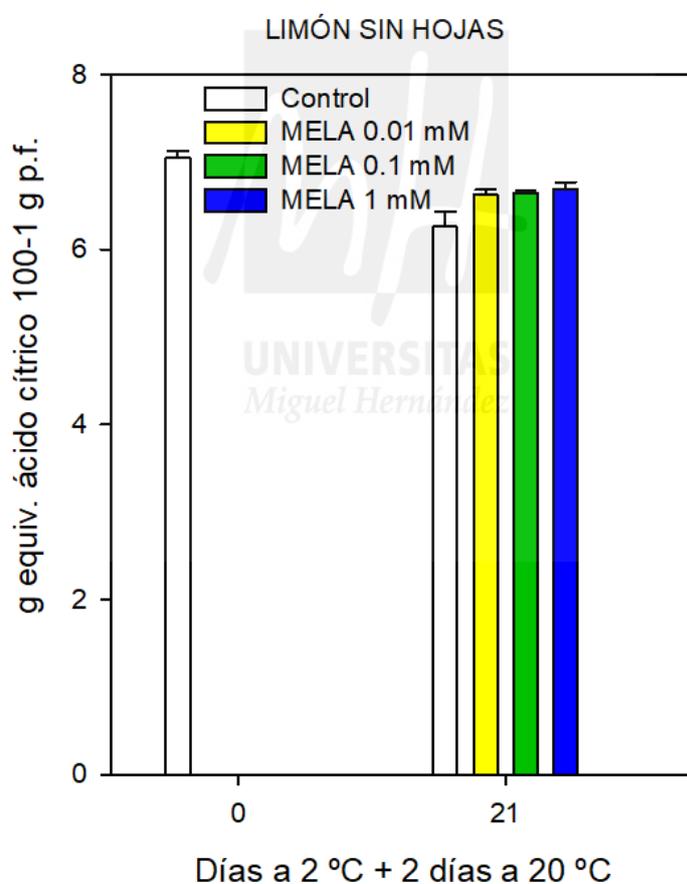


Figura 34. Evolución de acidez titulable en limones sin hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

En limones con hoja ocurre algo similar a los limones sin hoja. Tras los 23 días de almacenamiento, los frutos sufrieron un leve descenso respecto a su AT (Figura 35). La muestra del limón control con hoja, registró un resultado de $6,42 \pm 0,09$ g eq., siendo éste ligeramente superior a los limones control sin hoja. Por otro lado, los limones tratados con melatonina disminuyen su AT, a excepción de los frutos tratados a 1mM que obtuvieron mayor AT $6,63 \pm 0,11$ g eq. Esta concentración mayor de melatonina parece tener un claro efecto en la conservación del ácido cítrico, y por ello se deduce que en mantener las sustancias de reserva y por tanto en retrasar los procesos de maduración y senescencia.

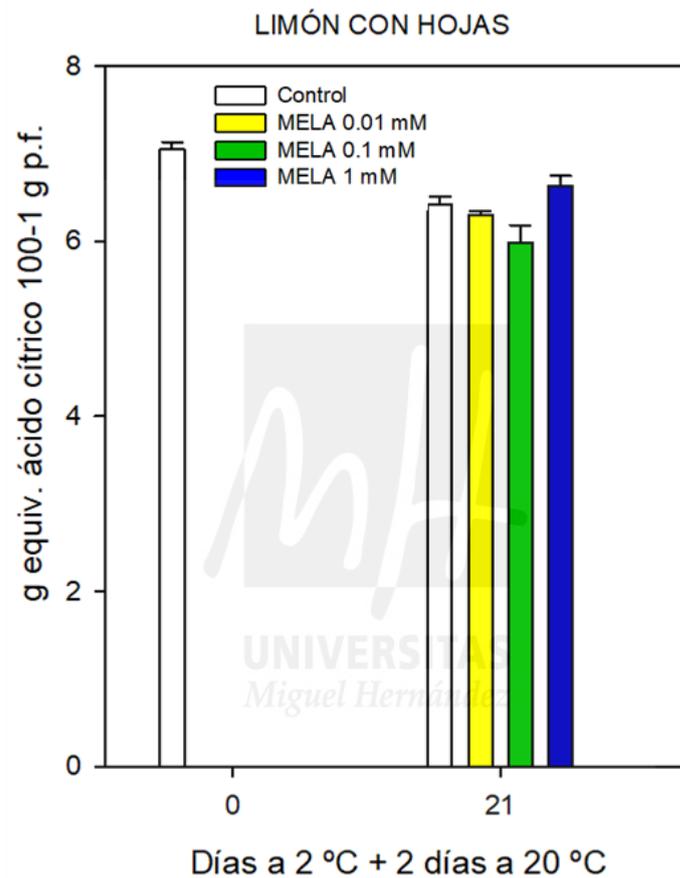


Figura 35. Evolución de acidez titulable en limones con hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

Tanto los limones sin hoja como con hoja, descienden su AT 23 días después de la conservación post-cosecha, ya que los ácidos orgánicos son sustratos para las reacciones enzimáticas de la respiración (Yaman et al, 2002). Los controles con y sin hoja presentan resultados muy similares. Como ya se ha observado en fresas (experimento similar al nuestro dónde aplicaban melatonina a concentraciones similares), la AT disminuyó rápidamente durante su almacenamiento tanto en fruta tratada como no tratada (como ocurre en limón). En la aplicación de melatonina en guayabas (Chen *et al.*, 2022) o en cerezas ‘Prime Giant’ en precosecha (D. Cortés-Montaña *et al.*, 2022), la AT en ambos frutos fue ligeramente superior en tratadas con melatonina que, en no tratadas con melatonina durante su

almacenamiento, igual que lo observado en limón sin hoja. Esto podría ser un reflejo de un menor metabolismo de degradación de los ácidos orgánicos de los limones con la aplicación de melatonina.

4.6 FUGA DE ELECTROLITOS

La fuga de electrolitos se encuentra entre los primeros eventos de activación de defensas en las plantas (Dixon *et al.*, 1994).

Al estudiar la fuga de electrolitos en limones sin hoja comprobamos que el control presentó un valor de $15,54 \pm 0,69$ %. Y en comparación del control con los limones tratados a 0,0,1; 0,1 y 1 mM no hubo diferencias significativas (Figura 36).

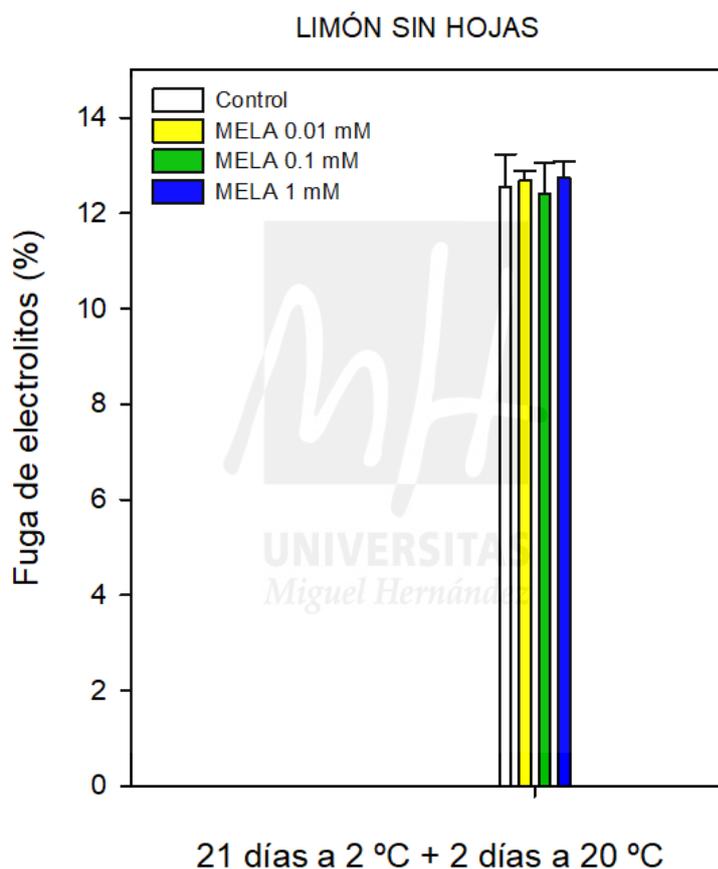


Figura 36. Evolución de fuga de electrolitos en limones sin hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2°C y 2 días a 20°C.

Sin embargo, en la fuga de electrolitos de limones con hoja sí hubo diferencias, el control mostró valores de $12,99 \pm 0,67$ %. En cambio, los limones con hoja tratados con melatonina presentaron resultados menores, disminuyendo notablemente los resultados de fuga de electrolitos conforme aumentó la concentración de melatonina. Hasta alcanzar resultados de $10,24 \pm 0,26$ % en los limones tratados con melatonina de 1 mM (Figura 37).

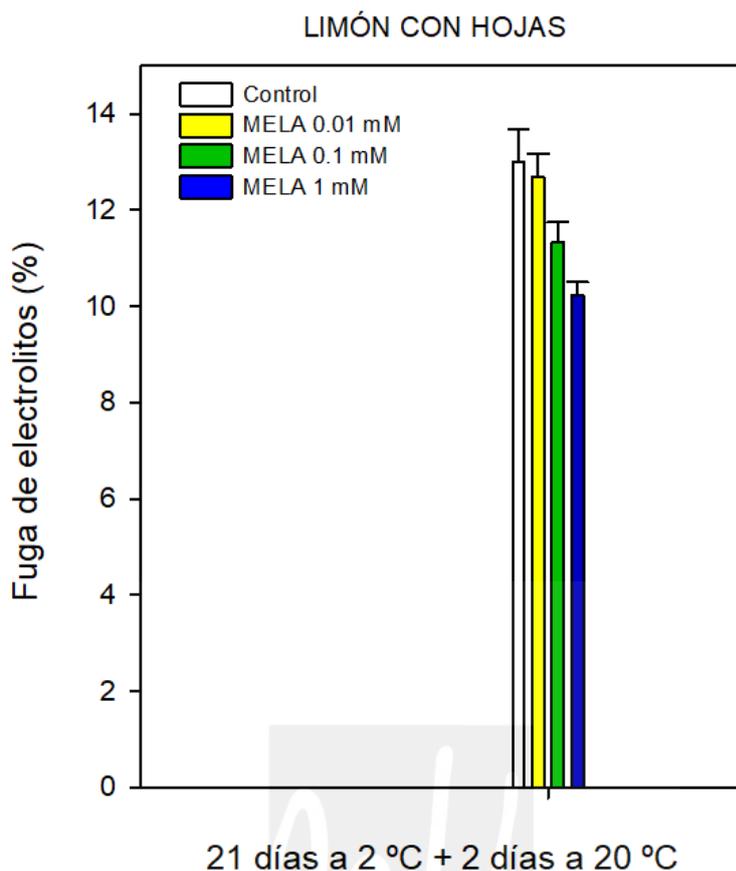


Figura 37. Evolución de fuga de electrolitos en limones con hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

Los resultados de fuga de electrolitos en limones con hoja y sin hoja se observaron valores similares. Liu et al (2017), en un estudio sobre cómo la corona juega un papel importante en el mantenimiento de la calidad de la piña cosechada, se apreció que la corona ofrecía una mayor protección frente a los daños por frío gracias a permanecer la corona junto al fruto. Esto puede ser debido al mayor aporte de compuestos metabólicos desde la hoja de la piña que desde la del limón, posiblemente por la composición diferente de ambos tejidos.

En los limones sin hoja no se apreció efecto de la melatonina en reducir la fuga de electrolitos, sin embargo, con la presencia de la hoja, se obtuvieron reducciones significativas en la fuga de electrolitos, mostrando un efecto dosis dependiente. Otros estudios han demostrado que la melatonina es capaz de reducir la peroxidación lipídica de las membranas mejorando la integridad celular y la capacidad en melocotón y col de mantener un equilibrio en la célula del metabolismo oxidativo (Gao *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016). Por ejemplo, sobre la aplicación de melatonina post-cosecha en melocotón, el tratamiento de melatonina redujo y retrasó la acumulación de especies reactivas de oxígeno al igual que ocurre en limones con hoja (Gao *et al.*, 2016)

4.7 ÍNDICE DE COLOR

El color de la fruta de los cítricos depende de los principales grupos de pigmentos naturales, llamados clorofilas, carotenos y antocianinas (Artés *et al.*, 2002).

Los carotenos son los que otorgan el color amarillo característico en el limón, aunque también influye la clorofila que ofrece pigmentos de color verde. Los cambios de color en los cítricos son atribuidos a la degradación de los pigmentos de clorofila y a la acumulación de carotenoides en el flavedo en el proceso de maduración, relacionado con cambios de color del fruto de verde a amarillo (Richardson *et al.*, 1995; Alós *et al.*, 2006) (Conesa *et al.*, 2019). Los limones utilizados en el ensayo presentaban una coloración verde, aunque se encontraban aptos para la comercialización.

El índice de color en limones después de 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C de almacenamiento en frutos sin hoja aumenta respecto al día de recolección, Día 0. A los 23 días, los limones sin hoja control mostraron un índice de color de $-2,71 \pm 0,20$. Conforme aumentó la concentración de melatonina, presentó el índice de color valores menores hasta alcanzar resultados de $-2,91 \pm 0,22$ a concentración de 1mM de melatonina. A excepción de los tratados a 0,1 mM, que presentaron valores de $-2,69 \pm 0,15$, más similares al control. Sin embargo, todos estos resultados no fueron estadísticamente significativos.

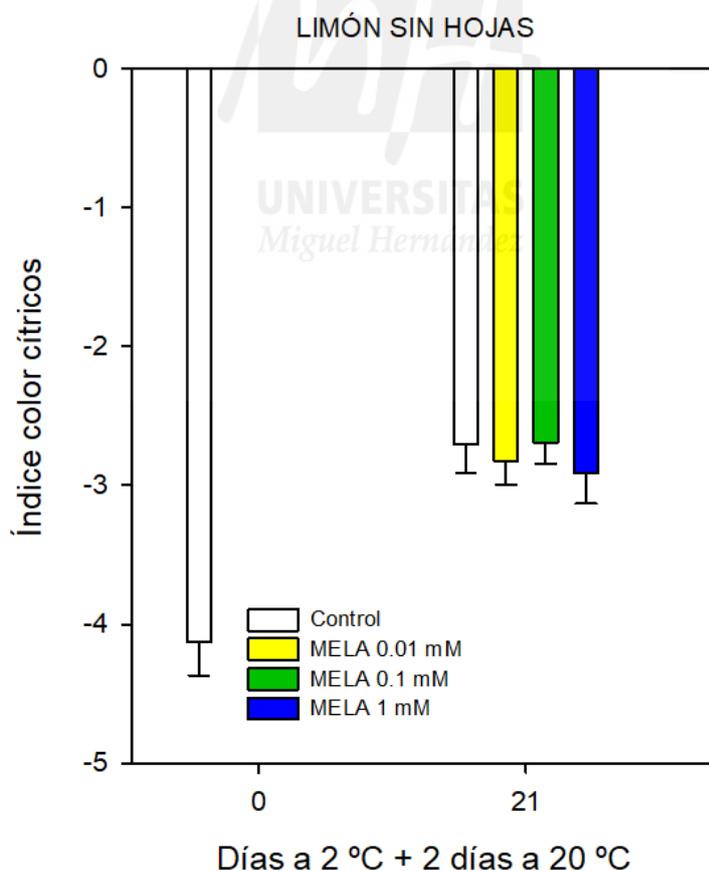


Figura 38. Evolución de índice de color en limones sin hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

La evolución de índice de color en limones después de 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C de almacenamiento en frutos con hoja mostró un comportamiento similar respecto al otro método de conservación (Figura 39). Aunque también aumentaron los valores del índice de color respecto al día de recolección (Día 0), los limones con hoja presentaron valores inferiores a los 23 días si se comparan con los limones sin hoja.

Si se observa el efecto de la melatonina, a los 23 días de almacenamiento existe un efecto en mantener el índice de color más cercano al día 0 en los frutos tratados que en los controles ($-3,15 \pm 0,31$ en limones con hoja control hasta $-3,82 \pm 0,29$ en limones con hoja con tratamiento 1 mM). Este último resultado es muy similar al valor de los limones el día 0. Por lo que, la melatonina a la concentración de 1 mM está teniendo un efecto en retrasar la degradación de las clorofilas y la presencia de carotenoides en el flavedo de los limones.

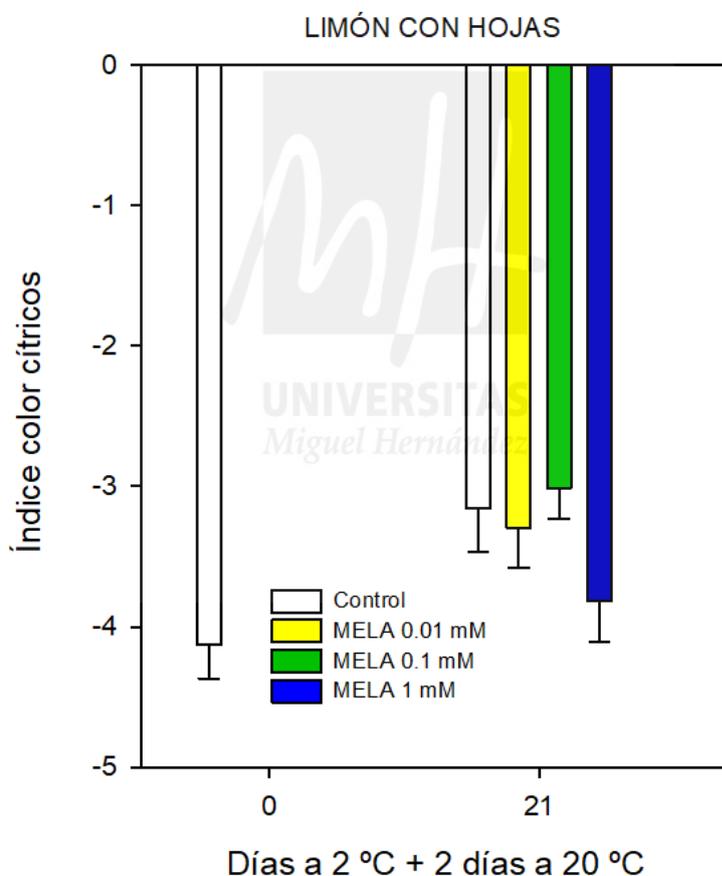


Figura 39. Evolución de índice de color en limones con hoja tratados con melatonina (0; 0,01; 0,1 y 1 mM) almacenados 21 días a 2 °C y 2 días a 20 °C.

Los limones sin hoja presentan índices de color mayores a los limones con hoja. Aunque en ambos casos se constata el efecto de la melatonina en retrasar los cambios de color. Se ha referenciado que la

melatonina disminuye notablemente la degradación de la clorofila y aumenta la biosíntesis de carotenoides (incluidos α , β -caroteno y licopeno) a niveles transcriptómicos y metabólicos en brócoli, tomate y col (Miao et al., 2020; Sun et al., 2020; Tan et al., 2020). En otro estudio de tratamiento de melatonina post-cosecha en naranjas aconteció algo similar al proceso que estamos estudiando en este caso, el color de la fruta de control exhibió un fuerte aumento en su almacenamiento. Sin embargo, las naranjas tratadas con melatonina a una concentración similar a la nuestra, aceleró y mejoró notablemente este cambio de color asemejándose los valores más al día de recolección (Ma et al., 2021). También ocurre en fresa y cereza dulce (Liu et al., 2018) y Wang et al., 2019).

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A lo largo del capítulo 4. RESULTADOS se ha indicado qué datos mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$). Además, en la siguiente tabla 3, se muestran las correlaciones entre las variables analizadas en este estudio.

Como principales resultados de correlaciones se puede indicar que la fuga de electrolitos, parámetro que sirve para estimar el daño por frío, obtuvo correlación significativa al nivel 0,01 con la pérdida de peso (0,757) y con la respiración (0,616), así mismo también hubo una correlación significativa negativa con los parámetros firmeza (-0,694) y acidez (-0,404).

Tabla 3. Resultados análisis estadístico correlaciones de Pearson.

		Correlaciones						
		PESO	FIRMEZA	COLOR	FUGA	RESPIRAC	SST	ACIDEZ
PESO	Correlación de Pearson	1	-,606**	,185**	,757**	,549**	,110	-,312*
	Sig. (bilateral)		,000	,002	,000	,000	,427	,022
	N	270	270	269	54	54	54	54
FIRMEZA	Correlación de Pearson	-,606**	1	-,230**	-,694**	-,488**	-,225	,095
	Sig. (bilateral)	,000		,000	,000	,000	,101	,494
	N	270	270	269	54	54	54	54
COLOR	Correlación de Pearson	,185**	-,230**	1	,147	,228	,093	-,031
	Sig. (bilateral)	,002	,000		,289	,097	,506	,822
	N	269	269	269	54	54	54	54
FUGA	Correlación de Pearson	,757**	-,694**	,147	1	,616**	,032	-,404**
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,289		,000	,817	,002
	N	54	54	54	54	54	54	54
RESPIRAC	Correlación de Pearson	,549**	-,488**	,228	,616**	1	,196	-,323*
	Sig. (bilateral)	,000	,000	,097	,000		,156	,017
	N	54	54	54	54	54	54	54
SST	Correlación de Pearson	,110	-,225	,093	,032	,196	1	,260
	Sig. (bilateral)	,427	,101	,506	,817	,156		,058
	N	54	54	54	54	54	54	54
ACIDEZ	Correlación de Pearson	-,312*	,095	-,031	-,404**	-,323*	,260	1
	Sig. (bilateral)	,022	,494	,822	,002	,017	,058	
	N	54	54	54	54	54	54	54

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* . La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

5. CONCLUSIONES

- I. Los tratamientos de melatonina por inmersión mejoraron la calidad post-cosecha de los limones sin hoja, reduciendo tasa respiratoria, manteniendo acidez y retrasando los cambios de color. Por otro lado, no se vieron afectadas pérdidas de peso, firmeza, sólidos solubles y fuga de electrolitos.
- II. Los limones con hojas aumentaron las pérdidas de peso respecto a los frutos sin hoja durante la conservación post-cosecha. Sin embargo, se redujo la tasa respiratoria y la firmeza. No se encontraron diferencias significativas en el resto de parámetros: sólidos solubles, acidez, color y fuga de electrolitos.
- III. La presencia de hoja en el fruto tuvo efecto en la eficacia de los tratamientos de melatonina por inmersión. Se redujo la pérdida de peso y la fuga de electrolitos, aumentó la tasa respiratoria y se retrasó el ablandamiento y los cambios de color.
- IV. Es preciso optimizar la dosis y tiempo de inmersión en los tratamientos de melatonina para mejorar su eficacia.
- V. La hoja facilita la absorción de la melatonina y su efecto en el fruto. Por tanto, la melatonina puede ser un tratamiento eficaz en mejorar la calidad post-cosecha de los frutos que se comercialicen con hoja.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Agustí-Fonfria, M., Mesejo-Conejo, C., Reig-Valor, C (Eds). (2000). Citricultura. Mundi-prensa (Madrid)
- AILIMPO (2022). Limón Fino. <https://www.ailimpo.com/limon-fino/> Acceso: 18/05/2022.
- AILIMPO (2022). Limón Verna. <https://www.ailimpo.com/limon-verna/> Acceso: 18/05/2022.
- AILIMPO. (2010–2017). Importancia socioeconómica del sector del limón en España. Acceso: 27/05/2022.
- AILIMPO (2022). Limón y Pomelo Ecológico. <https://www.ailimpo.com/limon-ecologico/> Acceso: 27/05/2022.
- Alimarket. El limón lidera la superficie nacional dedicada al cultivo de cítricos ecológicos. <https://www.alimarket.es/alimentacion/noticia/332565/el-limon-lidera-la-superficie-nacional-dedicada-al-cultivo-de-citricos-ecologicos> Acceso: 27/05/2022.
- Alós, E., Cercós, M., Rodrigo, M.J., Zacarías, L., Talón, M. (2006). Regulation of colour break in citrus fruits. Changes in pigment profiling and gene expression induced by gibberellins and nitrate, two ripening retardants. *J. Agric. Food Chem.* 54 (13), 4888–4895.

- Artés, F., Guillén, M. C., y Escriche, A. (1981). Physiological disorders in the storage of lemon fruits. In K. Matsumoto (Ed.), Tokyo, Japan: International Citrus Congress [November 9–12 1981].
- Artés, F., Minguez, M.I., Hornero, D. (2002). Analysing Changes in Fruit Pigments. Color in Food. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp. 248–282.
- Azzolini, M., Jacomino, A.P., Urbano-Bron, I., Kluge, R.A., Schiavinato, M.A., (2005) Ripening of 'Pedro Sato' guava: study of its climateric or non-climateric nature. Braz. J. Plant Physiol. 17, 299-306.
- Bal, E. (2020). Effect of melatonin treatments on biochemical quality and postharvest life of nectarines. Journal of Food Measurement and Characterization, 15(1), 288-295.
- Boletín de Comercio Exterior de Cítricos.
https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/boletindecercioexteriordecitricoscampa2019-20_tcm30-556225.pdf Acceso: 27/05/2022.
- Chen, H., Lin, H., Jiang, X., Lin, M., & Fan, Z. (2022). Amelioration of chilling injury and enhancement of quality maintenance in cold-stored guava fruit by melatonin treatment. Food Chemistry: X, 14, 100297.
- Cohen, E., Shapiro, B., Shalom, Y., & Klein, J. D. (1994). Water loss: a nondestructive indicator of enhanced cell membrane permeability of chilling-injured citrus fruit. Journal of the American Society for Horticultural Science, 119(5), 983-986.
- Comité de Agricultura Ecológica de la Comunitat Valenciana (CAECV, 2022). Disponible en <https://www.caecv.com/> Acceso: 27/05/2022.
- Conesa, A., Manera, F. C., Brotons, J. M., Fernandez-Zapata, J. C., Simón, I., Simón-Grao, S., ... & García-Sánchez, F. (2019). Changes in the content of chlorophylls and carotenoids in the rind of Fino 49 lemons during maturation and their relationship with parameters from the CIELAB color space. Scientia Horticulturae, 243, 252-260.
- Cronjé, P. J. R. (2015). Could ethylene metabolism in lemon fruit influence peteca incidence. Acta Horticulturae, 1065: 184.
- D. Cortés-Montaña*, B. Velardo-Micharet1 , A. Fernández-León, M.J. Bernalte-García, P. Bañuls, M.J. Serradilla (2022). Efecto de la aplicación precosecha de melatonina y ácido oxálico sobre la calidad estándar y bioactiva de cereza en poscosecha
- Díaz-Puertas, R., Díaz-Núñez, A., Pardo-Pina, S., Serna-Escolano, V., & Zapata, P. J. (2020) Estudio de los cambios fisiológicos durante la maduración de las variedades de limón 'Eureka', 'Fino' y 'Verna'.
- Dixon, R. A., Harrison, M. J., & Lamb, C. J. (1994). Early events in the activation of plant defense responses. Annual review of phytopathology, 32, 479-501.

- Eckert, J.W., y Eaks, I.L. (1989). Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. In the citrus industry. Reuter W., Calavan E.C. & Carman G.E. (Eds). California Press University (Berkeley). 179-260 pp.
- FAOSTAT (2022). Datos sobre alimentación y agricultura. <https://www.fao.org/faostat/es/> Acceso: 27/05/2022.
- Freshplaza. “Predicción de los daños por frío en la fruta”. (2020). <https://www.freshplaza.es/article/9246249/prediccion-de-los-danos-por-frio-en-la-fruta/> Consultado el 24 de junio de 2022.
- Gao, H., Zhang, Z. K., Chai, H. K., Cheng, N., Yang, Y., Wang, D. N., ... & Cao, W. (2016). Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 118, 103-110.
- García Lidón, A., del Río-Conesa, J.A., Porras-Castillo I., Fuster-Soler M.D., Ortuño-Tomás A. (2003). El limón y sus componentes bioactivos. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente (Murcia). 1-127 pp.
- García Lor, A. (2013). Organización de la diversidad genética de los cítricos (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
- García, A., Del Río, J. A., Porras, I., Fuster, M. D., & Ortuño, A. (2003). El limón y sus componentes bioactivos. Consejería de Agricultura. Acceso 27/05/2022
- González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2010). Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 51(2), 327-345.
- Google maps. La matanza de orihuela (2022). <https://www.google.es/maps/place/03316+Parroquia+de+la+Matanza,+Alicante> Consultado el 24 de junio de 2022.
- Guillén-Miró, M. C. (1978). Aspectos biológicos y tecnológicos de la conservación de limón bajo atmósferas normales y modificadas. Murcia, Spain: Universidad de Murcia.
- Hodges DM, Lester GE, Munro KD, Toivonen PMA. (2004). Oxidative stress: Importance for postharvest quality . *HortSci* 39: 924-929.
- Ismail M and Zhang J. (2004) Post-harvest citrus diseases and their control. *Outlooks in Pest Management* 15:29–35.
- Kader, A. A., & Arpaia, M. L. (2011). Postcosecha: Frutas Subtropicales. Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas, 425.
- La producción ecológica (s.f). Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Disponible en <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/produccion-eco/> Acceso: 27/05/2022.
- Lado, J., Rodrigo, M. J., Lopez-Climent, M., Gomez-Cadenas, A., & Zacarías, L. (2016). Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 214-223.

- Lafuente, M. T., Sala, J. M., & Zacarias, L. (2004). Active oxygen detoxifying enzymes and phenylalanine ammonia-lyase in the ethylene-induced chilling tolerance in citrus fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3606-3611.
- Liu, C., Zheng, H., Sheng, K., Liu, W., & Zheng, L. (2018). Effects of melatonin treatment on the postharvest quality of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 139, 47-55.
- Liu, J., He, C., Shen, F., Zhang, K. y Zhu, S. (2017) The crown plays an important role in maintaining quality of harvested pineapple. *Postharvest Biology and Technology*, 124: 18–24.
- Ma, Q., Lin, X., Wei, Q., Yang, X., Zhang, Y. N., & Chen, J. (2021). Melatonin treatment delays postharvest senescence and maintains the organoleptic quality of ‘Newhall’ navel orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) by inhibiting respiration and enhancing antioxidant capacity. *Scientia Horticulturae*, 286, 110236.
- MAPAMA (1970) Conservación frigorífica de los cítricos. Acceso: 19/05/2022 https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1970_23.pdf
- MARM (2008). Ministerio de Medio ambiente y Medio Rural y Marino. Patrones en el limonero. <https://www.mapa.gob.es/app/MaterialVegetal/docs/patrones%20en%20el%20limonero.pdf> Acceso: 27/05/2022.
- Miao, H., Zeng, W., Zhao, M., Wang, J., & Wang, Q. (2020). Effect of melatonin treatment on visual quality and health-promoting properties of broccoli florets under room temperature. *Food chemistry*, 319, 126498.
- Miranda, S., Vilches, P., Suazo, M., Pavez, L., García, K., Méndez, M. A., ... & Del Pozo, T. (2020). Melatonin triggers metabolic and gene expression changes leading to improved quality traits of two sweet cherry cultivars during cold storage. *Food chemistry*, 319, 126360.
- Murai, Kana, Nancy Jung Chen and Robert E. Paull (2021) Pineapple Crown and Slip Removal on Fruit Quality and Translucency. *Scientia Horticulturae* 283, 110087.
- Palou, L. (2020). El control de las enfermedades de poscosecha y las alternativas a los fungicidas químicos convencionales. En: García Álvarez-Coque, José M., Moltó, E. (coords.), *Una hoja de ruta para la citricultura española*. (1ªed.). Almería, España; Cajamar Caja rural, 259-272.
- Palou, L., Smilanick, J. L., & Droby, S. (2008). Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. *Stewart Postharvest Review*, 4: 1-16.
- Pardo, J., Soler, G., Buj, A. (2015). Variedades comerciales de cítricos. Instituto valenciano de investigaciones agrarias. <http://ivia.gva.es/va/variedades/>. Acceso: 27/05/2022.
- Perez-Perez, J. G., Castillo, I. P., Garcia-Lidon, A., Botia, P., & Garcia-Sanchez, F. (2005). Fino lemon clones compared with the lemon varieties Eureka and Lisbon on two rootstocks in Murcia (Spain). *Scientia Horticulturae*, 106(4), 530-538.

- Richardson, G.R., Cowan, A.K. (1995). Abscisic acid content of Citrus flavedo in relation to colour development. *J. Hortic. Sci.* 70 (5), 769–773.
- Sala, J. M. (1998). Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 13(3), 255–261.
- Sala, J. M., & Lafuente, M. T. (1999). Catalase in the heat-induced chilling tolerance of cold-stored hybrid Fortune mandarin fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(6), 2410-2414.
- Salvador-Pérez, A., Navarro, P., y Pássaro-Carvalho, C.P. (2012). Control de enfermedades de poscosecha. En *Cítricos: cultivo, poscosecha e industrialización*. Garcés-Giraldo L. F., (Ed). Artes y Letras (Itagüí). 285-303 pp.
- Serna-Escolano, V., Valverde, J. M., García-Pastor, M. E., Valero, D., Castillo, S., Guillén, F., ... & Serrano, M. (2019). Pre-harvest methyl jasmonate treatments increase antioxidant systems in lemon fruit without affecting yield or other fruit quality parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(11), 5035-5043.
- Sevillano, L., Sanchez-Ballesta, M. T., Romojaro, F., & Flores, F. B. (2009). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(4), 555-573.
- Shiri, M. A., Ghasemnezhad, M., Fatahi Moghadam, J., & Ebrahimi, R. (2016). Effect of CaC12 Sprays at Different Fruit Development Stages on Postharvest Keeping Quality of “Hayward” Kiwifruit. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(4), 624-635.
- Smilanick, J.L., Mansour, M.F., Gabler, F.M. & Sorenson, D. (2008). Control of citrus postharvest green mold and sour rot by potassium sorbate combined with heat and fungicides. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 226–238.
- Soler Aznar, J. (1999). Reconocimiento de variedades de cítricos en campo. *Generalitat Valenciana: Conselleria d'Agricultura, Pesca y Alimentació*.
- Soto-Muñoz, L., Taberner, V., de la Fuente, B., Jerbi, N., & Palou, L. (2020). Curative activity of postharvest GRAS salt treatments to control citrus sour rot caused by *Geotrichum citri-aurantii*. *International Journal of Food Microbiology*, 335, 108860.
- Sun, Q., Liu, L., Zhang, L., Lv, H., He, Q., Guo, L., ... & Guo, Y. D. (2020). Melatonin promotes carotenoid biosynthesis in an ethylene-dependent manner in tomato fruits. *Plant Science*, 298, 110580.
- Sun, Q., Zhang, N., Wang, J., Zhang, H., Li, D., Shi, J., ... & Guo, Y. D. (2015). Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 657-668.
- Sun, Y., Singh, Z., Tokala, V. Y., & Heather, B. (2019). Harvest maturity stage and cold storage period influence lemon fruit quality. *Scientia Horticulturae*, 249, 322-328.

- Tan, X. L., Zhao, Y. T., Shan, W., Kuang, J. F., Lu, W. J., Su, X. G., ... & Chen, J. Y. (2020). Melatonin delays leaf senescence of postharvest Chinese flowering cabbage through ROS homeostasis. *Food Research International*, 138, 109790.
- Tang, Q., Li, C., Ge, Y., Li, X., Cheng, Y., Hou, J., & Li, J. (2020). Exogenous application of melatonin maintains storage quality of jujubes by enhancing anti-oxidative ability and suppressing the activity of cell wall-degrading enzymes. *Lwt*, 127, 109431.
- Tiwari, R. K., Lal, M. K., Naga, K. C., Kumar, R., Chourasia, K. N., Subhash, S., ... & Sharma, S. (2020). Emerging roles of melatonin in mitigating abiotic and biotic stresses of horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 272, 109592.
- Unión Europea. Reglamento (UE) 543/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 7 de junio de 2011, por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) 1234/2007 del Consejo en los sectores de las frutas y hortalizas y de las frutas y hortalizas transformadas. *Diario Oficial de la Unión Europea L157/1*, 15 de junio de 2011, pp 1-159. Documento consolidado el 1 de enero de 2021.
- Unión Europea. Reglamento (UE) 848/2018 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de mayo de 2018, sobre producción ecológica y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CE) 834/2007 del Consejo. *Diario Oficial de la Unión Europea L 150/1*, 14 de junio de 2018, pp 1-92. Documento consolidado el 14 noviembre de 2020
- Valero, D. y Serrano, M. (2010). *Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality*. Boca Raton.
- Vazquez, D., Almirón, N., Eyman, L., & Bello, F. (2020). Desverdizado: precauciones para su implementación. *Revista INTA*, 22(24), 3200.
- Wang, F., Zhang, X., Yang, Q., & Zhao, Q. (2019). Exogenous melatonin delays postharvest fruit senescence and maintains the quality of sweet cherries. *Food Chemistry*, 301, 125311.
- Wismer, W. V., Worthing, W. M., Yada, R. Y., y Marangoni, A. G. (1998). Membrane lipid dynamics and lipid peroxidation in the early stages of low-temperature sweetening in tubers of *Solanum tuberosum*. *Physiologia Plantarum*, 102(3), 396–410
- Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H., Li, S., Zhang, L., Qi, Y., Ren, S., Zhao, B. y Guo, Y.D. (2016). Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. *Front. Plant Sci.* 7: 197
- Zheng, X., Jing, G., Liu, Y., Jiang, T., Jiang, Y., & Li, J. (2012). Expression of expansin gene, MiExpA1, and activity of galactosidase and polygalacturonase in mango fruit as affected by oxalic acid during storage at room temperature. *Food Chemistry*, 132(2), 849-854.