



DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Efecto del portainjerto en la calidad, composición  
química de azúcares y aceite esencial, glándulas  
oleíferas y el desarrollo de oleocelosis en lima Persa  
(*Citrus latifolia* T.)

PRESENTA:  
Biol. Exp. Denise Raddatz Mota

Comité Tutorial:

Director: Dr. Fernando Rivera Cabrera

Asesora: Dra. Leticia Ponce de León García

Asesor: Dr. Ángel Villegas Monter

México, D. F. Diciembre de 2011

La Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, con número de registro 309-0, pertenece al Posgrado en Biología Experimental y forma parte de los programas de PIFOP-CONACYT con clave C/PFPN-2002-35-32.

La Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana -Unidad Iztapalapa está evaluada como Posgrado de Alto Nivel en el Programa Nacional de Posgrado del CONACyT.

Este proyecto se realizó en el laboratorio de Fisiología, Bioquímica y Biología Molecular de Plantas del Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa.

Durante el transcurso de la Maestría en Biología Experimental, en la UAM-Iztapalapa, recibí una beca otorgada por el CONACYT, con número de becario 233307, en el periodo 2009-2011.

## **COMITÉ TUTORAL**

### **Director:**

Dr. Fernando Rivera Cabrera  
Profesor Titular "C" T.C.  
Laboratorio de Fisiología, Bioquímica y Biología Molecular de Plantas  
S-253  
Depto. Ciencias de la Salud. D.C.B.S.  
Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa  
frc@xanum.uam.mx

### **Asesora:**

Dra. Leticia Ponce de León García  
Profesor Titular "C" T.C.  
Laboratorio de Ecofisiología  
AS-118  
Depto. de Biología. D.C.B.S.  
Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa  
lplg@xanum.uam.mx

### **Asesor:**

Dr. Ángel Villegas Monter  
Profesor-Investigador Titular  
Laboratorio de Genética y Biotecnología  
Colegio de Posgraduados, Montecillos Texcoco  
avillega@colpos.mx

Los miembros del jurado de examen, designado por el Posgrado en Biología Experimental, abajo firmantes, aprobaron la tesis “**Efecto del portainjerto en la calidad, composición química de azúcares y aceite esencial, glándulas oleíferas y el desarrollo de oleocelosis en lima Persa (*Citrus latifolia* T.)**”. Presentada por **Denise Raddatz Mota** quien realizó la disertación pública el **13 de Diciembre de 2011**, en las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

**Presidente:**

---

Dra. Clara Pelayo Zaldivar

**Secretario:**

---

Dr. Ángel Villegas Monter

**Vocal:**

---

Dr. Francisco Cruz Sosa

**Vocal:**

---

Dra. Leticia Ponce de León García

## **Agradecimientos**

A la Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa por permitirme continuar con mis estudios y al CONACYT por el apoyo económico otorgado. Un agradecimiento al Campo Experimental Ixtacuaco, INIFAP, Tlapacoyan, Ver., por el material biológico proporcionado.

Agradezco al Dr. Fernando Rivera por su infinito apoyo, por la gran dedicación y asesoramiento en este proyecto de investigación, así como todos sus consejos e ideas para la realización de esta tesis. Además, por brindarme su cariño y valiosa amistad. Agradezco a la Dra. Clara Pelayo, a la Dra. Leticia Ponce de León y al Dr. Ángel Villegas por el apoyo proporcionado, recomendaciones y todas sus aportaciones para la elaboración de esta tesis.

A la Dra. Leticia Ponce de León y a la M. en B. Claudia Barbosa por todo su tiempo, paciencia y enseñanza en el procesamiento de las muestras histológicas. También agradezco a la Dra. Gloria Trejo por el asesoramiento en la metodología y análisis de resultados en la parte de cromatografía. Un agradecimiento al Dr. Manuel Castillo por el asesoramiento en el análisis estadístico de los datos.

Agradezco a todos mis maestros del posgrado en biología experimental por el apoyo y conocimiento brindado. En especial a la Dra. Mónica Ponce por impartirme hermosas y excelentes clases, así como su sincera amistad e infinidad de consejos para el desarrollo de mi vida profesional.

Un agradecimiento a la Dra. Laura Pérez Flores y al Dr. Fernando Díaz de León por todo su apoyo y amistad otorgada. A mis amigos del laboratorio de Fisiología, Bioquímica y Biología Molecular de Plantas: Xóchil, Juan Manuel, Luis Alejandro, Omar, Joana, Max, Rigel, Oscar, Carolina, Yoali, Rosa Isela, Fabiola, Fátima, Irasema, Ryan y Guillermo, por su apoyo en las jornadas de trabajo, por su amistad y por los momentos compartidos.

A todos aquellos que por falta de espacio y memoria no están incluidos.

## Dedicatoria y agradecimientos especiales

*Dedico esta tesis con infinito agradecimiento a mis  
amados padres Alma Rosa Mota Sánchez  
y Luis Manuel Raddatz Flores*

Agradezco a mis padres y hermano Luis Jorge Raddatz Mota por todo el amor y apoyo incondicional brindado en mi vida, por enseñarme a ser una mejor persona cada día y por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo del triunfo. Gracias a su ayuda he logrado mis metas y objetivos en la vida. Agradezco todos sus consejos en los momentos más difíciles y por estar siempre pendiente de mí. Los admiro y adoro con toda mi alma y corazón.

A toda mi familia tíos y primos por todo su apoyo bajo cualquier circunstancia. En especial a mis tías Patricia Mota y Bertha Mota por su cariño y gran afecto. Las quiero mucho y gracias por todo lo que han hecho por mí.

Un enorme y especial agradecimiento a Ricardo Cerón Cardelas por todo su amor, apoyo y conocimiento de la vida brindados en todo momento. Por todo el valioso tiempo compartido y por siempre mantener en mí el deseo de seguir adelante. Ricardo gracias por ser mi hombro y estar a mi lado. Agradezco también a todos los integrantes de la familia Cerón que siempre me han apoyado.

A mi hermoso y amado perro "Piter" por ser mi fiel compañero, por siempre alegrarme el día y hacerme sonreír, así como enseñarme lo bella que es la naturaleza.

## Abreviaturas

ADP	Adenosín difosfato
AT	Acidez titulable
ATP	Adenosín trifosfato
cm <sup>2</sup>	Centímetros cuadrados
DE	Desviación estándar
eV	Electronvoltio
F-6-P	Fructosa-6-fosfato
FAA	Formaldehido, etanol 96°, ácido acético glacial
g	Gramo
G-6-P	Glucosa-6-fosfato
gpf	Gramo de peso fresco
H <sub>2</sub> O	Agua
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Ácido fosfórico
HCl	Ácido clorhídrico
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Fosfato de potasio monobásico
KOH	Hidróxido de potasio
M	Molar
meq	Miliequivalentes
mM	Milimolar
mL	Mililitro
N	Normal
NaOH	Hidróxido de sodio
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido reducido
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido
p/v	Peso/volumen
PP	Pérdida de peso
psi	Libras por pulgada cuadrada
rpm	Revoluciones por minuto
SST	Sólidos solubles totales
v/v	Volumen/volumen
µg	Microgramo

## Índice

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Importancia de la producción de limas ácidas en México.....	1
1.2 Principales variedades de limas ácidas y sus características... ..	2
1.3 Origen y clasificación taxonómica de la lima Persa .....	3
1.4 Composición química y valor nutritivo.....	4
1.4.1 Pectina.....	4
1.4.2 Ácidos orgánicos.....	5
1.4.2.1 Vitamina C.....	6
1.4.3 Azúcares.....	7
1.4.4 Aceite esencial.....	7
1.5 Anatomía de los cítricos.....	8
1.6 Características anatómicas e histológicas del flavedo y albedo en cítricos.....	10
1.6.1 Epidermis.....	10
1.6.2 Estomas.....	11
1.6.3 Hipodermis.....	11
1.6.4 Flavedo.....	11
1.6.5 Glándulas oleíferas.....	11
1.6.6 Haces vasculares.....	13
1.6.7 Albedo.....	13
1.7 Efecto de los factores precosecha que afectan la calidad y comportamiento postcosecha de los frutos.....	14
1.8 Efecto del portainjerto.....	14
1.9 Desórdenes fisiológicos en limas ácidas.....	16
1.9.1 Oleocelosis.....	16
2. JUSTIFICACIÓN.....	18
3. OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo general.....	18
3.2 Objetivos particulares.....	18
4. HIPÓTESIS.....	19
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19



6.6 Porcentaje de sólidos solubles totales (SST).....	42
6.7 Porcentaje de pérdida de peso (PP).....	45
6.8 Oleocelosis.....	46
6.8.1 Susceptibilidad a desarrollar oleocelosis.....	49
6.8.2 Oleocelosis inducida.....	50
6.9 Pectina.....	52
6.10 Ácidos orgánicos.....	55
6.10.1 Vitamina C.....	56
6.11 Azúcares: fructosa, glucosa y sacarosa.....	58
6.12 Aceite esencial.....	62
6.13 Características histológicas del flavedo.....	65
6.13.1 Cutícula.....	65
6.13.2 Epidermis.....	68
6.13.3 Flavedo.....	70
6.13.4 Glándulas oleíferas.....	72
6.13.5 Estomas.....	76
7. CONCLUSIONES.....	76
8. REFERENCIAS.....	78
ANEXO I.....	99

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b>	Producción mundial de limones y limas de 2001 a 2009 (10 <sup>3</sup> toneladas métricas).....	1
<b>Tabla 2</b>	Susceptibilidad al desarrollo de oleocelosis en frutos de lima Persa.....	50
<b>Tabla 3</b>	Rendimiento de pectina en muestra seca.....	54
<b>Tabla 4</b>	Rendimiento de pectina en muestra fresca.....	54
<b>Tabla 5</b>	Contenido de ácidos orgánicos en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	56
<b>Tabla 6</b>	Rendimiento de aceite esencial de frutos de lima Persa injertada sobre diferente portainjertos.....	63
<b>Tabla 7</b>	Composición química del aceite esencial de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	63
<b>Tabla 8</b>	Grosor de cutícula de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	66
<b>Tabla 9</b>	Tamaño de células epidérmicas de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	68
<b>Tabla 10</b>	Grosor del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	70
<b>Tabla 11</b>	Número de capas celulares del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	70
<b>Tabla 12</b>	Número de glándulas oleíferas por cm <sup>2</sup> de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	73
<b>Tabla 13</b>	Tamaño de las glándulas oleíferas de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	74
<b>Tabla 14</b>	Número de capas de células limítrofes de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	74
<b>Tabla 15</b>	Número de estomas de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	76

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b>	Corte transversal de A) lima Mexicana y B) lima Persa.....	10
<b>Figura 2</b>	Corte histológico longitudinal teñido con PAS en la región de glándulas oleíferas en un fruto maduro de Naranja ( <i>Citrus sinensis</i> ).....	13
<b>Figura 3</b>	Valores de luminosidad (L*) del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	33
<b>Figura 4</b>	Valores de cromaticidad (C*) del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	34
<b>Figura 5</b>	Valores del ángulo hue (h) del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	35
<b>Figura 6</b>	Grosor del flavedo-albedo (cáscara) de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	37
<b>Figura 7</b>	Contenido de jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	39
<b>Figura 8</b>	pH en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	40
<b>Figura 9</b>	Acidez titulable (porcentaje de ácido cítrico) en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	42
<b>Figura 10</b>	Porcentaje de sólidos solubles totales en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	44
<b>Figura 11</b>	Porcentaje de pérdida de peso de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	46

<b>Figura 12</b>	Daño por oleocelosis en frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	48
<b>Figura 13</b>	Daño por oleocelosis en frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos. Gráfica de medianas.....	48
<b>Figura 14</b>	Daño por oleocelosis inducida en frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos utilizando 60 y 100 cm de caída libre.....	52
<b>Figura 15</b>	Contenido de vitamina C en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	58
<b>Figura 16</b>	Contenido de fructosa en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	60
<b>Figura 17</b>	Contenido de glucosa en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	61
<b>Figura 18</b>	Contenido de sacarosa en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C.....	62
<b>Figura 19</b>	Cutícula. Cortes histológicos transversales (40X) en la región del flavedo y albedo en frutos maduros de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	67
<b>Figura 20</b>	Epidermis. Cortes histológicos transversales (40X) en la región del flavedo y albedo en frutos maduros de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	69
<b>Figura 21</b>	Flavedo. Cortes histológicos transversales (40X) en la región del flavedo y albedo en frutos maduros de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	71
<b>Figura 22</b>	Corte histológico transversal teñido con PAS/TBO en la región de una glándula oleífera en un fruto maduro de Naranja 'Navel'.....	72
<b>Figura 23</b>	Glándulas oleíferas. Cortes histológicos transversales (10X) en la región de una glándula oleífera en frutos maduros de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.....	75

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Importancia de la producción de limas ácidas en México

Dentro de los países de clima tropical y subtropical, entre los cuales se encuentra México, las exportaciones de frutas y hortalizas frescas, así como de sus productos derivados procesados, representan una fuente importante de divisas. México se ha posicionado en los últimos años dentro de los principales países productores de cítricos a nivel mundial (FAOSTAT, 2009). Actualmente las limas ácidas se ubican dentro de las principales frutas producidas en México tanto por su consumo en fresco como por su uso en la industria (Dussel, 2002). En la tabla 1 se presentan los principales países productores de limas y limones en el periodo de 2001-2009 (FAOSTAT, 2009).

**Tabla 1. Producción mundial de limones y limas de 2001 a 2009 (10<sup>3</sup> toneladas métricas).**

No.	País Productor	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
1	India	1,413	1,439	1,493	1,033	1,786	2,060	2,429	2,571
2	México	1,725	1,824	1,927	1,806	1,867	1,880	2,224	1,987
3	China	520	583	651	662	716	842	917	1,014
4	Argentina	1,313	1,236	1,340	1,498	1,250	1,260	1,260	1,000
5	Brasil	984	981	985	1,030	1,031	1,060	1,040	972

\* FAOSTAT (2009).

La producción mundial de limas ácidas en el 2009 fue de 13, 607, 350 toneladas, de las que México aportó 1, 987, 450 toneladas, colocándose así como el segundo productor de limas a nivel mundial, aportando el 14.6 % de la producción total.

Las dos principales especies de limas que se cultivan en México son: *Cítrus aurantifolia* Swingle (lima Mexicana) y *Citrus latifolia* Tanaka (lima Persa); Ambas están bien diferenciadas por zonas productoras, y esquemas de comercialización. La lima Mexicana se cultiva fundamentalmente en la costa

del Pacífico siendo Colima el principal estado productor y la lima Persa en la costa del Golfo donde Veracruz el principal estado productor (Claridades Agropecuarias, 2002).

## **1.2 Principales variedades de limas ácidas y sus características**

Las principales limas ácidas cultivadas son la lima Mexicana (*Citrus aurantifolia* [Christm.] Swingle) y la lima Persa (*Citrus latifolia* Tanaka) que actualmente no se acepta como especie, sino como híbrido natural del grupo formado por citron-limón-lima (Cooper et al., 1977; Rivera et al., 2010). La lima Mexicana (*Citrus aurantifolia* S.) tiene frutos pequeños, redondos, ovoides o corto-elípticos; con varias semillas y es altamente poliembriónico. Los frutos presentan una cáscara muy fina, superficie lisa y desarrollan un color amarillo verdoso en la madurez. Su pulpa es jugosa y altamente ácida con un aroma distintivo. Por otra parte, la lima Persa (*Citrus latifolia* Tanaka) tiene frutos más grandes, ovales, oblongos o corto-elípticos, sin semillas. Su cáscara es fina, de superficie lisa; y desarrollan un color amarillo limón pálido durante la madurez. Su pulpa es jugosa, ácida y con el sabor verdadero de las limas (Hodgson, 1967). La lima ácida Mexicana (*Citrus aurantifolia* [Christm.] Swingle) es un híbrido originario del Archipiélago del este de la India. Sus posibles progenitores son *C. medica* X *C. micrantha* (Papeda), lo anterior se apoya en el hecho de que *C. aurantifolia* tiene un alelo que es común entre los representantes de Papeda, que no está presente en los demás representantes del género *Citrus* (Torres et al., 1978). Puesto que existe poca variación entre los especímenes silvestres y los cultivados, no hay variedades reconocidas de lima Mexicana (Morton, 1987). Sin embargo, en México fueron reconocidas selecciones sin espinas como nueva variedad por el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). De acuerdo a esta organización existen dos variedades de limas Mexicanas Colima-01 (con espinas) y Colima-02 (sin espinas) (Medina-Urrutia y Robles-González, 2004). Por otra parte, la lima Persa es un híbrido triploide ( $3n=27$ ), debido a eso el polen y los óvulos no son viables y por esa razón sus frutos son partenocárpicos (sin semilla) (Bacchi, 1940). La lima Persa es uno de los biotipos de cítricos que se cree debe ser apomícticamente perpetuado. Es probable que sus progenitores sean *C. aurantifolia* (Christm.) Swingle y

probablemente *C. máxima* L. o *C. limon* Burm. Debido a que no produce semilla, no existen cultivares (variedades), los clones más difundidos son: en Brasil, IAC-5, CNPMF-1, CNPMF-2 y “Quebra galho”, en España IVIA-124, IVIA-227, en Francia SRA 58, SRA 359 y en Estados Unidos Bearss, USDA n° 1 Y USDA n° 2. (Pio et al., 2005). En México, se desconoce el nombre del clon que se cultiva, probablemente sea el “Quebra galho” porque el tallo y las ramas presentan las características típicas de este clon y también presentan tronco y ramas rajadas, debido al ataque del viroide de la exocortis.

### **1.3 Origen y clasificación taxonómica de la lima Persa**

Contrariamente a lo que se piensa (debido a la producción y lugar que ocupa México en el contexto mundial), la lima no es originaria de nuestro país y tampoco de nuestro continente. De acuerdo con reportes históricos, se considera que su origen se localiza en el continente asiático, de donde posteriormente fue introducida por los árabes al norte de África y al continente Europeo (principalmente a España) (Eckert et al., 1989). Con la colonización española, la lima llegó a nuestro país para ocupar un lugar importante en la citricultura nacional. El nombre “citrus” se ha usado para denominar diversos frutos en el pasado. Sin embargo, existe mucha confusión sobre la clasificación de estos frutos debido a que poseen muchas similitudes. Se ha sugerido que son seis los géneros que integran el grupo de los cítricos verdaderos: *Citrus*, *Fortunella*, *Poncirus*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* y *Clymania*. Todos estos géneros se caracterizan por tener frutos con una pulpa jugosa compuesta por numerosas vesículas que rellenan todo el espacio en los segmentos del fruto no ocupados por las semillas. De estos seis géneros sólo tres son los que tienen importancia comercial: *Citrus*, *Fortunella* y *Microcitrus*. Todos estos géneros pertenecen a la familia de las Rutáceas (Ting et al., 1971). Por otra parte, las limas son clasificadas en la división Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, orden Sapindales, familia Rutaceae. La denominada lima ‘Tahiti’ o lima Persa (*Citrus latifolia* Tanaka) se sabe que no es propiamente una especie válida como tal, sino una variedad, debido a que son híbridos del grupo integrado por Citrón-Limón-Lima (Nagy et al., 1977).

## **1.4 Composición química y valor nutritivo**

Las limas ácidas al igual que todos los cítricos son frutos no climatéricos, por lo que no presentan un proceso de maduración sensorial después de la cosecha (Sudheer e Indira, 2007). Generalmente, el fruto alcanza su madurez fisiológica y casi de consumo en el árbol, de esta manera, la pulpa llega a ser jugosa y ácida (Wardowski et al., 2006).

Las limas ácidas son similares a los limones en estructura anatómica. El jugo de ambas especies tiene alrededor del mismo contenido de ácido cítrico (Swisher et al., 1980). La mayoría de los azúcares y casi todo el ácido cítrico del fruto se encuentran en el jugo que también contiene compuestos nitrogenados, lípidos, compuestos fenólicos, vitaminas como C y B, y diversas sustancias inorgánicas (Ting et al., 1971).

En términos generales, la lima Mexicana (*Citrus aurantifolia* S.) y la lima Persa (*Citrus latifolia* T.) tienen diferente composición química. La lima Mexicana presenta una mayor acidez, una mejor calidad y mayor contenido de aceite esencial y una menor cantidad de vitamina C que la lima Persa. (Dussel, 2002).

En la actualidad, no existe información con respecto a la composición de azúcares en limas ácidas, solo hay una referencia del porcentaje de azúcares totales en jugo de limas (McCready, 1977). Aunque, los jugos de limón y lima se utilizan como acidulantes, el sabor de las bebidas preparadas con limas es distintivamente diferente al sabor de las bebidas de limón (Nagy, 1996).

### **1.4.1 Pectina**

El albedo generalmente es rico en celulosa, hemicelulosa, lignina, sustancias pécticas y compuestos fenólicos. Las membranas carpelares y las vesículas de jugo tienen más o menos los mismos constituyentes químicos que el albedo.

La industria juguera de los cítricos genera una gran cantidad de desechos que pueden ser utilizados como sub-productos. Estos sub-productos

representan aproximadamente el 50 % del peso total del fruto y están constituidos por flavedo y albedo, membranas carpelares, vesículas de jugo y semillas (Marín et al., 2007). Se han reportado diversos usos de estos desechos, ya que pueden emplearse como nutrientes en la alimentación animal, comercializados en forma de *pellets* o en la obtención de productos dirigidos a la industria alimenticia o farmacéutica; sin embargo, los precios de estos productos no son lo suficientemente altos para proporcionar rentabilidad al proceso de aprovechamiento (Wilkins et al., 2007), de manera que el desarrollo de productos alternativos de mayor valor agregado beneficiaría a la industria de los cítricos (Rojas et al., 2009).

Las pectinas se utilizan en la industria de los alimentos como espesantes, gelificantes, emulsificantes y estabilizantes (Mesbahi et al., 2005; Rojas et al., 2009) y en el campo farmacológico como agentes antimetástasis, inmunoestimulantes y antiulcerosos. Además, la pectina por ser una fibra soluble, disminuye las fracciones de lipoproteína de baja densidad en la sangre (LDL, por sus siglas en inglés), sin modificar los niveles de lipoproteína de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés) que son buenos para la salud humana (Liu et al., 2001; Rojas et al., 2009). La pectina es un complejo de polisacáridos que se encuentra de manera abundante en las paredes de las células vegetales. Generalmente, esta macromolécula consiste de homogalacturano y ramnogalacturano. La composición de la pectina depende principalmente de la fuente vegetal de obtención y de las condiciones empleadas de extracción y purificación de la misma (Vriesmann et al., 2011). Las pectinas comerciales generalmente se obtienen de los frutos de cítricos y manzanas; sin embargo, se ha reportado la extracción de pectina a partir de pulpa de remolacha (Yapo et al., 2007), soya (Kalapathy y Proctor, 2001), semillas de girasol (Iglesias y Lozano, 2004), semillas de cacao (Mollea et al., 2008), cáscara de plátano (Happi et al., 2008), cáscara de maracuyá (Yapo y Koffi, 2006) y cáscara de mango (Koubala et al., 2008).

#### **1.4.2 Ácidos orgánicos**

Los jugos de fruta natural y comercial, así como los néctares contienen diferentes ácidos orgánicos (oxálico, tartárico, cítrico, málico, ascórbico, etc.).

En la industria, los ácidos orgánicos son utilizados como aditivos (ácido tartárico, málico y cítrico) y preservativos (ácido sórbico y benzoico) (Cunha et al., 2002). La identificación y análisis cuantitativo de los principales ácidos orgánicos presentes en las frutas, es importante para la evaluación de la calidad de alimentos y bebidas (Hasib et al., 2002). Además, los ácidos orgánicos son un indicador útil de la autenticidad de los productos derivados de las frutas, ya que éstos tienen una menor susceptibilidad al cambio durante el procesamiento y almacenamiento de los productos derivados de las frutas en comparación con otros constituyentes alimenticios presentes (Camara et al., 1994; Cunha et al., 2002).

El conocimiento preciso del contenido de ácidos orgánicos puede ser útil para la detección de adulteración en los jugos de frutas, ya que cada fruta tiene un patrón único de ácidos orgánicos. La composición de ácidos orgánicos en las frutas es importante debido al impacto en la calidad sensorial del jugo; por ejemplo, el cociente azúcares / ácidos determina el sabor característico de las frutas tanto para consumo en fresco como productos derivados procesados (Nour et al., 2010).

Los ácidos orgánicos presentes en los cítricos de acuerdo a su abundancia son el ácido cítrico correspondiendo aproximadamente al 8% del peso total del fruto deshidratado (Penniston et al., 2009), seguido por el ácido málico y ácido láctico, y en cantidades traza los ácido tartárico, benzoico, oxálico y succínico (Karadeniz, 2004; Nour et al., 2010).

#### **1.4.2.1 Vitamina C**

La vitamina C o ácido ascórbico es una vitamina soluble en agua, la cual está presente en frutas, especialmente en cítricos y hortalizas. Esta vitamina está involucrada en la respiración celular, metabolismo de la tirosina, conversión de ácido fólico a ácido folínico, metabolismo de los carbohidratos, síntesis de lípidos y proteínas, así como en la resistencia a infecciones. Además, la vitamina C tiene efectos como antioxidante y bajo ciertas condiciones puede proteger contra la oxidación celular ocasionada por los radicales libres (Lin et al., 2009).

### **1.4.3 Azúcares**

Los azúcares son algunos de los principales compuestos presentes en la pulpa de los frutos. Su naturaleza y concentración afectan en gran medida las características de sabor y calidad sensorial (Kelebek et al., 2009). Los azúcares pueden variar dependiendo de la especie, variedad, condiciones ambientales y de las prácticas de cultivo tales como el clima, irrigación y elección del portainjerto (Ting et al., 1971; Marsh et al., 2003). Los azúcares son los responsables del sabor dulce de muchas frutas (especialmente la sacarosa) y además contribuyen como nutrientes en la alimentación del humano ya que proporcionan energía (Muchuweti et al., 2005).

Los azúcares reductores (fructosa y glucosa) poseen su grupo carbonilo intacto (grupo funcional) y pueden reaccionar con otras moléculas como las proteínas mediante la reacción de glucosilación no enzimática, o también denominada reacción de Maillard o glicación. Por otro lado, los azúcares compuestos por 2 o más monosacáridos (como la sacarosa, rafinosa, estaquiosa y celobiosa) no tienen su grupo carbonilo libre.

### **1.4.4 Aceite esencial**

Muchos de los aceites esenciales presentes en las plantas poseen propiedades insecticidas, antifúngicas y antibacterianas y por este motivo han sido considerados como ingredientes activos en algunos plaguicidas (Sánchez et al., 2009).

El aceite esencial de frutos cítricos es ampliamente usado en perfumería y cosmética y en las industrias alimentaria y farmacéutica, así como en la fabricación de productos de higiene personal y de limpieza doméstica (Rojas et al., 2009).

El flavedo de los cítricos contiene muchas glándulas oleíferas de las cuales se obtienen el aceite esencial. El componente más abundante del aceite esencial en las limas ácidas es el d-limoneno (Di Giacomo et al., 2002; Mazariegos, 2008). Los compuestos presentes en la cáscara de las limas y aceite esencial han sido ampliamente estudiados (Shaw, 1977; Chamblee et

al., 1985; Lota et al., 2002). Lota et al. (2002) reportó al menos 62 compuestos volátiles presentes en el aceite de la cáscara y 59 en el aceite de las hojas de varias especies de lima. En el aceite de la cáscara de los frutos el limoneno fue el mayor compuesto volátil, seguido por el  $\gamma$ -terpineno,  $\beta$ -pineno y/o sabineno. En el aceite proveniente de las hojas, se observó una mayor variabilidad en la composición de los volátiles donde los mayores componentes fueron limoneno,  $\beta$ -pineno y sabineno, aunque en todas las muestras también se encontraron linalol, geranial, acetato de linalilo, citronelal, neral, citronelol, acetato de geranilo, acetato de nerilo, geraniol y nerol.

Existen diferentes tipos de extracción del aceite esencial, algunos de los más comunes son la hidrodestilación (destilación por arrastre con vapor de agua), prensado (expresión), extracción con disolventes volátiles, enflorado y mediante fluido supercrítico. Por otra parte, la calidad de un aceite esencial puede ser determinada de acuerdo a la cantidad de compuestos oxigenados (linalol, geraniol, bisabolol, citronelal, etc.) presentes en el aceite (Salem, 2003; Darjazi, 2011). La cantidad de estos compuestos es variable y depende de factores como variedad, tiempo de cosecha, el uso del portainjertos y clima (Darjazi, 2011). Diversos autores han reportado que el uso de portainjertos puede modificar la cantidad de compuestos oxigenados presentes en el aceite esencial (Hendrickson et al., 1970; Verzera et al., 2003; Usai et al., 1994; Babazadeh et al., 2009; Darjazi 2011).

### **1.5 Anatomía de los cítricos**

El desarrollo de los frutos se inicia a partir del gineceo y pueden participar en su formación otras partes de la flor fecundada, como el receptáculo, los sépalos, etc. Cuando en la formación del fruto participan otros órganos, aparte del gineceo, se le denomina pseudocarpo o falso fruto. En muchas plantas, como algunas variedades de *Vitis*, *Citrus* y *Musa*, se forman frutos llamados partenocárpicos, los cuales se desarrollan sin que tenga lugar fecundación previa. Los óvulos o primordios seminales, en estos casos, no se transforman en semillas (Santamarina et al., 2004).

El fruto de los cítricos es un tipo de baya modificada denominada hesperidio. Surge como consecuencia del crecimiento del ovario y está formado por, aproximadamente, diez unidades carpelares unidas alrededor del eje floral por el que contactan entre sí, formando así lóculos en cuyo interior crecen las semillas y las vesículas de jugo (Agustí, 2003). En general, todos los frutos cítricos presentan las mismas características anatómicas: flavedo, albedo, membranas carpelares y vesículas de jugo.

El exocarpo o flavedo, que es la parte más externa del fruto y está formado por la epidermis, cubierta por la cutícula, y unidas a ella varias capas de células que forman un parénquima compacto. El exocarpo procede generalmente de la pared del ovario, la cual sufre grandes cambios a medida que el fruto va madurando. El mesocarpo o albedo, el cual está formado por un tejido parenquimático de varias capas de células con grandes espacios intercelulares de consistencia esponjosa y generalmente, proviene del parénquima del ovario. El endocarpo o pulpa compuesto por membranas carpelares, vesículas de jugo y semillas y se desarrolla a partir de la pared interna del ovario (Agustí, 2003; Santamarina et al., 2004; Laskowski et al., 2006). En este sentido Loussert (1992) reportó que los elementos que componen estas estructuras pueden variar de acuerdo a la especie y la variedad.

La parte externa de la cáscara (exocarpo) está constituido de tejidos morfológicamente diferentes y es llamado flavedo debido a la presencia de flavonoides (Ortiz, 2002). Inmediatamente después del flavedo, se encuentra el albedo (mesocarpo) que es un tejido blanco, ya que el nombre proviene del latín *albus* = blanco (Ortiz, 2002). La porción comestible del fruto está constituida por un conjunto de carpelos o segmentos, separados por membranas carpelares (Ting et al., 1971). Dentro de los carpelos, se desarrolla una gran cantidad de vesículas de jugo (Figura 1). En general, el número de los carpelos varía; en el caso específico de las limas ácidas se presentan de 8 a 11 segmentos (Loussert, 1992).

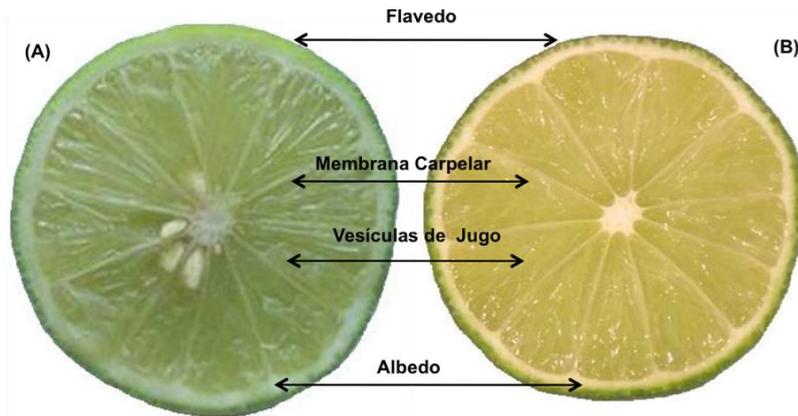


Figura 1. Corte transversal de A) lima Mexicana y B) lima Persa

## 1.6 Características anatómicas e histológicas del flavedo y albedo en cítricos

La anatomía, histología y morfología en los frutos de cítricos han sido ampliamente estudiadas (Ford, 1942; Scott et al., 1947; Storey et al., 1994; Underhill et al., 1998; Laskowski et al., 2006; Alquezar et al., 2010). La anatomía del flavedo y albedo así como los tejidos que los conforman, ha sido discutida por varios autores en diferentes especies y variedades de frutos cítricos. (Ford, 1942; Scott et al., 1947; Laskowski et al., 2006; Alquezar et al., 2010).

### 1.6.1 Epidermis

En la epidermis de los frutos de los cítricos se distinguen cuatro tipos celulares: células epidérmicas, las que recubren las glándulas oleíferas y las células del aparato estomático. Las células epidérmicas son poligonales, isodiamétricas y cubren la superficie entera del fruto, mientras que el área de las células que recubren las glándulas oleíferas es proporcional al diámetro de la glándula subyacente (Scott et al., 1947). Las paredes exteriores de los cuatro tipos celulares se encuentran cutinizadas y en parte cubiertas con una sustancia cerosa. Estas paredes cutinizadas, al igual que la cera, previenen la pérdida excesiva de agua del fruto (Ting et al., 1971).

### **1.6.2 Estomas**

En las plantas, el aparato estomático está compuesto por las células oclusivas, las células acompañantes y el poro estomático u ostiolo. Los estomas, están directamente implicados en la fotosíntesis, la respiración y en la transpiración (Zeiger et al., 2007). Ford (1942), fue el primer investigador que reportó la presencia de estomas en la epidermis de los frutos de Limón 'Eureka'. En este sentido, Turrell et al. (1940) reportaron una densidad estomática de 13.86 estomas por milímetro cuadrado en frutos maduros de Naranja 'Navel'.

### **1.6.3 Hipodermis**

Por debajo de la epidermis de los cítricos, se encuentra la hipodermis, constituida por 1 a 3 capas de células de espesor, las cuales son poligonales o elipsoidales con engrosamientos de pared tipo colénquima; además, con pequeños espacios intercelulares (Scott et al., 1947).

### **1.6.4 Flavedo**

El flavedo, es el tejido donde se encuentran los plastos, glándulas oleíferas y haces vasculares (Ford, 1942; Scott et al., 1947). Este tejido está compuesto por células de parénquima y de colénquima muy compactadas. Las células del flavedo incrementan gradualmente su tamaño en las partes internas de la cáscara hacia el albedo (Alquezar et al., 2010).

### **1.6.5 Glándulas oleíferas**

Las glándulas oleíferas son unas de las estructuras histológicas características en las Rutaceas económicamente importantes en los frutos de los cítricos ya que a partir de éstas se extrae el aceite esencial que como se mencionó anteriormente tiene variadas aplicaciones industriales (Wardowski et al., 1986; Di Giacomo y Di Giacomo, 2002).

Las glándulas oleíferas se encuentran presentes en todas las especies de la familia Rutaceae (Fahn, 1979). Generalmente, se presentan en el flavedo a diferentes profundidades, debido principalmente a sus diferencias en tamaño y en algunas ocasiones, se extienden al albedo. Cada glándula se encuentra

separada por ocho o más células parenquimáticas (Knight et al., 2001). En naranja Navel, cada una de las glándulas oleíferas está rodeada por una órbita de 5 a 8 estomas que se encuentran aproximadamente equidistantes a partir de la glándula y entre cada uno de los estomas (Scott et al., 1947).

La formación de las glándulas oleíferas está restringida a la etapa de desarrollo temprano del fruto, pero éstas continúan su desarrollo a lo largo del crecimiento del fruto hasta alcanzar la madurez. Un fruto maduro de naranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) puede llegar a presentar entre 8,000 y 12,000 glándulas oleíferas. Las glándulas oleíferas maduras muestran forma ovoide y/o esférica, constituidas principalmente de células isodiamétricas, las cuales van aumentando gradualmente el grosor de las paredes celulares hacia la periferia de la glándula (Bosabalidis et al., 1982a; Thomson et al., 1976). Todas las glándulas oleíferas se encuentran unidas a la epidermis por una estructura cónica, independientemente de la etapa de desarrollo en la que se encuentren o su localización en la cáscara (Knight et al., 2001; Bosabalidis et al., 1982a). Diferentes análisis de la anatomía de las glándulas oleíferas por microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) y microscopía de luz, demostraron que existe una gran similitud anatómica de las glándulas entre las especies de cítricos estudiados (Rafiei et al., 2007; Bennici y Tani, 2004; Knight et al., 2001; Bosabalidis et al., 1982a; Bosabalidis et al., 1982b).

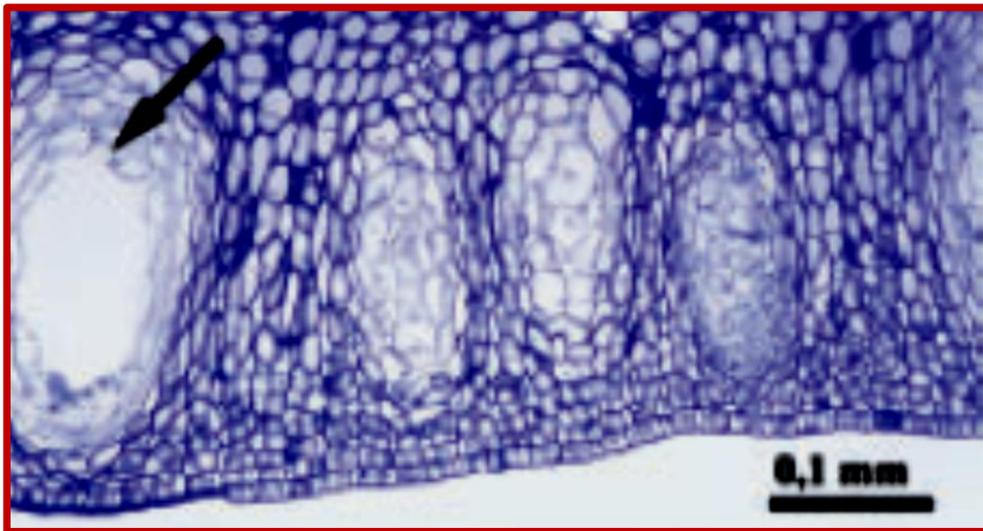


Figura 2. Corte histológico longitudinal teñido con PAS (“Periodic Acid-Schiffs”), “Amido Black B”, Azul de toluidina, Acriflavina y “Calcofluor White” en la región de glándulas oleíferas en un fruto maduro de Naranja (*Citrus sinensis*). La flecha indica el lumen de una glándula oleífera. Barra = 0.1mm. Bennici y Tani (2004).

#### **1.6.6 Haces vasculares**

Diversos autores han descrito la presencia de haces vasculares en el flavedo de los frutos (Scott et al., 1947; Ford 1942; Underhill et al., 1998). Scott et al. (1947), reportaron un gran número de haces vasculares cerca de las glándulas oleíferas similares a los observados en las hojas. Los componentes del xilema en el fruto consisten de traqueidas y parénquima del xilema. Durante el desarrollo del fruto, hay un incremento en el número, tamaño y diferenciación de los haces vasculares (Ford, 1942).

#### **1.6.7 Albedo**

En todos los cítricos está presente el albedo, el cual es una malla compleja de células, en la que cada célula se encuentra comunicada por plasmodesmos con otras ocho células adyacentes (Storey et al., 1994). Este tejido posee grandes espacios intercelulares, de igual o mayor tamaño al volumen de las células y es lo que le proporciona la típica morfología esponjosa (Alquezar et al., 2010; Ford, 1942). Los espacios intercelulares son mayores en las capas internas del albedo (Scott et al., 1947; Agustí et al., 2001). Las

células de este tejido son generalmente translúcidas y sus vacuolas contienen grandes cantidades de azúcar (Scott et al., 1947).

### **1.7 Efecto de los factores precosecha en la calidad y comportamiento postcosecha de los frutos**

Existen diferentes factores precosecha que pueden afectar la calidad de los frutos. En el caso de los cítricos, algunos de estos factores son el uso de portainjertos, el manejo del cultivo (riego o temporal), la nutrición, la poda, la temporada y hora de la cosecha y el manejo de plagas y enfermedades.

### **1.8 Efecto del portainjerto**

Al portainjerto también se le conoce como pie o patrón y es la parte de la planta ya establecida a la que se le realiza un injerto. Un injerto, es un método de propagación vegetativa artificial mediante el cual se incorpora una planta (yema o varetta) en otra ya establecida (portainjerto) y ésta última le proporcionará los nutrientes necesarios al injerto para que pueda crecer y desarrollarse, obteniéndose un solo organismo conformado por dos plantas diferentes.

En el caso de la lima Mexicana, los portainjertos más comúnmente utilizados son *C. volkameriana*, *C. macrophylla* y *C. amblycarpa*. Estos portainjertos se emplean principalmente para evitar la muerte de las plantas por gomosis, debido a su susceptibilidad a esta enfermedad. Los árboles de lima Mexicana injertados en estos portainjertos son vigorosos. Se ha reportado que los árboles injertados en *C. amblycarpa* tardan más en producir y los frutos son de menor tamaño (Medina-Urrutia y Robles-González, 2004). Lallan et al. (1999), reportaron que el uso de portainjertos en lima Mexicana afecta el número de estomas y el contenido nutricional en hojas, de igual manera como sucede en lima Persa. Por otra parte, no existe información en la literatura que indique el efecto de portainjertos en la calidad de los frutos de lima Mexicana (Rivera et al., 2010).

En lima Persa, diversos autores han evaluado el efecto de los portainjertos en el tamaño de la planta, el rendimiento y la tolerancia a

enfermedades (Jiménez et al., 1981; Figueiredo et al., 2002; Stenzel et al., 2004). Todos los resultados coinciden en señalar que el portainjerto afecta el tamaño de la planta y el rendimiento. Sin embargo, cuando se refieren al efecto en la calidad de la fruta (tamaño, contenido de jugo, SST), los resultados son contradictorios, mientras algunos autores han observado un efecto del portainjerto en el tamaño del fruto (Jiménez et al., 1981; 2002; Stenzel et al., 2004), otros autores indican que no existen diferencias significativas por el efecto del portainjerto (Figueiredo et al., 2002; Arbeu 2009). Con respecto al contenido de jugo y SST, Jiménez et al. (1981) y Stenzel et al. (2004) reportaron un incremento en estos parámetros; mientras que Rivera et al. (2008), no observaron diferencias significativas por efecto del portainjerto. En general, los frutos de lima Persa injertados en los limones Volkameriano y Rugoso, tienen un mayor contenido de jugo que los desarrollados en otros portainjertos.

Un aspecto fundamental pero poco estudiado en la lima Persa con calidad de exportación, es el color y el grosor del albedo y flavedo de los frutos. En este sentido, Rivera et al. (2008), observaron que los frutos de lima Persa injertados en Flying Dragon desarrollaron un color verde más oscuro; mientras que los frutos de lima Persa injertados en *C. volkameriana* tuvieron un mayor grosor de albedo y flavedo. Por lo tanto, era de esperarse que los frutos desarrollados en *C. volkameriana* tuvieran menor pérdida de peso que los injertados en Flying Dragon. Sin embargo, se observó el efecto opuesto. Después de 25 días de almacenamiento a 25 °C, los frutos de lima Persa injertados sobre *C. volkameriana* perdieron el 30 % de su peso inicial con respecto a los frutos de Flying Dragon que sólo perdieron el 13 %, éste hecho es importante para México considerando los embarques destinados a Europa.

El grado de rugosidad de la cáscara es otro factor poco estudiado, pero fundamental en la exportación de la lima Persa, principalmente en los frutos destinados a Europa y Japón. Esta característica, está determinada por el portainjerto y la nutrición, los frutos desarrollados en plantas de lima Persa injertadas sobre Limón Volkameriano y C - 35, son más rugosos que los obtenidos en Flying Dragon y Naranja agrio (*Citrus aurantium*). La

concentración de nitrógeno, magnesio y manganeso son los factores más importantes de la nutrición y deben ser considerados para la expresión de esta característica y tienen que ser determinados con base al tipo de suelo y portainjerto utilizado (Rivera et al., 2010).

### **1.9 Desórdenes fisiológicos en limas ácidas**

Los desórdenes fisiológicos influyen de manera significativa en la calidad de los frutos. Diversos factores precosecha y postcosecha afectan la ocurrencia de estos desórdenes fisiológicos (Grierson 1981). Dentro de los factores precosecha se pueden mencionar las deficiencias de nitrógeno, boro y cobre, así como daños por quemaduras, viento y congelación. Por otra parte, algunos de los factores postcosecha que tienen un impacto en el desarrollo de desórdenes fisiológicos son la temperatura, la humedad y el daño mecánico. Dentro de los principales desórdenes fisiológicos típicos de las limas ácidas se pueden mencionar a la oleocelosis, el daño por frío y el rompimiento estilar.

#### **1.9.1 Oleocelosis**

La oleocelosis es un desorden fisiológico que se presenta en la cáscara (flavedo) de los cítricos, se observa como un manchado sobre la superficie causado por los efectos fitotóxicos de la liberación del aceite esencial contenido en las glándulas oleíferas del flavedo, cuando se provoca un daño mecánico en el fruto (Knight et al., 2002). La oleocelosis puede originarse por la acción de varios tipos de daño, incluyendo el ataque por insectos, daños provocados por estrés abiótico (viento, granizo) y daño mecánico provocado por un inadecuado manejo postcosecha, principalmente cuando la turgencia de los frutos es excesiva. El aceite esencial liberado ocasiona la ruptura de las células de la epidermis generando una rápida degradación del flavedo (Eaks 1968; Knight et al., 2002). La naturaleza de esta reacción entre el efecto fitotóxico del aceite y el tejido del flavedo aún no se conoce.

La oleocelosis se desarrolla en toda clase de cítricos, pero especialmente en limas ácidas, limones y naranjas cosechadas en etapas tempranas antes de que pierdan su color verde (Eaks 1968; Shomer et al., 1989; Murata 1997; Knight et al. 2002; Bakkali et al. 2008). En este sentido,

Rivera et al. (2006a) probaron el efecto de dos diferentes tipos de corte (tradicional y bajo el agua) en el comportamiento postcosecha de lima Persa mínimamente procesada y observaron que la oleocelosis es la principal restricción en el procesamiento de la lima Persa. Estos resultados contrastan con los reportados por Artés et al. (2007) donde no se observó el desarrollo de oleocelosis en limones mínimamente procesados, sugiriendo que las limas ácidas son más susceptibles a este desorden fisiológico.

Por otra parte, la oleocelosis ha sido ampliamente estudiada en diversos cítricos, pero principalmente en naranjas (McCornack 1970; Kanlayanarat et al., 1988; Shomer et al., 1989; Chikaizumi 2000, Knight et al. 2001; 2002; Yongqiang et al., 2009). El primer trabajo reportado sobre la oleocelosis en cítricos fue publicado por Fawcett (1916). En 1964 Cahoon et al., propusieron un método para predecir la incidencia de este desorden fisiológico en limones. En este sentido, McCornack (1970), estudió el efecto de la hora de corte y daño mecánico en el desarrollo de oleocelosis durante la cosecha de naranjas 'Navel', encontrando que el mayor porcentaje de oleocelosis se presentó en los frutos cosechados durante la mañana. Kanlayanarat et al. (1988), estudiaron el efecto de diferentes temperaturas de almacenamiento y humedad relativa en el desarrollo de la oleocelosis en naranja (*Citrus hassaku*). De igual manera, Shomer et al. (1989) reportaron que el daño por oleocelosis en naranja (*Citrus sinensis*) está caracterizado por el desarrollo de áreas verde-cafés en el flavedo y por el colapso de las paredes de las células de la epidermis resultando en la necrosis y disminución del tejido. Chikaizumi (2000), reportó que en árboles de mandarina (*Citrus nobilis*) las altas temperaturas provocadas por la radiación solar inducen el colapso de las glándulas oleíferas presentes en el flavedo de los frutos. En naranja 'Navel' reportaron que el desarrollo de oleocelosis esta correlacionado con la etapa de maduración del fruto y que la aplicación del aceite sobre la superficie del flavedo produjo un mayor daño que el observado por daño mecánico (Knight et al., 2001). Además, se demostró que la aplicación del aceite sobre la superficie del flavedo, provoca la lixiviación del contenido celular y el colapso celular, debido principalmente a la pérdida de la integridad de la membrana (Knight et al., 2002).

En el caso específico de las limas ácidas, el único estudio que existe es el descrito por Mustard (1954), que reportó un mayor desarrollo de oleocelosis en los frutos de lima Persa cosechados en temporadas de lluvia (clima húmedo y/o presencia de rocío) en comparación con los frutos cosechados bajo condiciones de clima seco y sin lluvias.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

Para los países con climas tropicales y subtropicales, como México, la comercialización de productos hortícolas así como la de sus productos derivados procesados representan una fuente importante de divisas. Durante la última década, México se ha posicionado como uno de los principales productores de cítricos a nivel mundial. Actualmente, México es el segundo productor de limas ácidas en el mundo. Uno de los principales desórdenes fisiológicos de las limas ácidas es la oleocelosis. El desarrollo de oleocelosis en los cítricos es causado por la acción fitotóxica del aceite esencial presente en el flavedo. La oleocelosis ha sido ampliamente estudiada en naranja. Sin embargo, no existen en la actualidad reportes del efecto del portainjerto en el tamaño y número de glándulas oleíferas y su correlación con el desarrollo de oleocelosis en frutos de lima Persa (*Citrus latifolia* T.), por lo que es importante profundizar en el conocimiento de los mecanismos fisiológicos y bioquímicos involucrados en este proceso. Por otra parte, tampoco se ha estudiado el efecto del portainjerto en la composición química (azúcares, ácidos orgánicos, aceite esencial, pectina y vitamina C).

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo general**

Determinar el efecto de diferentes portainjertos en los parámetros de calidad, composición química y aceite esencial, así como en el número de glándulas oleíferas y su correlación con el desarrollo de oleocelosis en frutos de lima Persa (*Citrus latifolia* T.).

### **3.2 Objetivos particulares**

1. Determinar el efecto del portainjerto en los parámetros de calidad externa e interna de frutos de lima Persa.

2. Evaluar el efecto del portainjerto en la composición química de azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa), ácidos orgánicos, contenido de pectina, vitamina C y aceite esencial en frutos de lima Persa.
3. Determinar la estructura, características anatómicas del flavedo y número de glándulas oleíferas presentes en frutos de lima Persa injertada en diferentes portainjertos.
4. Evaluar el efecto del portainjerto en el desarrollo de oleocelosis en frutos de lima Persa y correlacionarla con la composición química del aceite esencial.

#### **4. HIPÓTESIS**

El uso de portainjertos modifica los parámetros de calidad, la composición química del fruto y el número de glándulas oleíferas en frutos de lima Persa.

#### **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

##### **5.1 Obtención del material biológico**

Se utilizaron 1,400 frutos de lima Persa (*Citrus latifolia* Tanaka) injertados en los siguientes portainjertos: Naranja agrio (*Citrus aurantium*), Limón Volkameriano (*Citrus volkameriana*), Naranja trifoliado (*Poncirus trifoliata* var. Flying Dragon), Swingle y C-35 procedentes del Campo Experimental Ixtacuaco, INIFAP, Tlapacoyan, Ver. Los frutos fueron seleccionados por color (verde oscuro), tamaño (4.2 – 5.5 cm de diámetro) y calidad (libres de defectos) para eliminar los frutos dañados y obtener muestras uniformes. Los frutos se dividieron de manera aleatoria en 2 lotes de 700 frutos, que fueron almacenados a  $25 \pm 1$  °C y  $7 \pm 1$  °C, con una humedad relativa de  $90 \pm 2$  %. Se tomaron muestras de 9 limas a los 0, 5, 10, 15, y 20 días de las diferentes condiciones de almacenamiento. Se colectaron por separado la cáscara y el jugo de las limas, se congelaron con nitrógeno líquido y ambas muestras se almacenaron a  $-70$  °C hasta su uso posterior.

##### **5.2 Diseño experimental y análisis de resultados**

Se utilizó un diseño experimental factorial de 5 x 2 completamente al azar. La unidad experimental fue la mezcla homogénea del flavedo y albedo o

el jugo de 3 limas con tres repeticiones para cada uno de los portainjertos y temperaturas utilizadas. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las variables y la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey-Kramer utilizando el programa NCSS (Hintze, 2001).

Los resultados de oleocelosis se analizaron utilizando la prueba de comparación múltiple de medias de Kruskal-Wallis y la prueba de comparación múltiple de Dunn. En todos los casos el nivel de significancia estadística empleada fue de  $\alpha=0.05$ .

### **5.3 Metodología**

#### **5.3.1 Color**

Para la determinación del color de la cáscara de los frutos de lima se utilizó un colorímetro (Kónica Minolta) en muestras de 3 frutos por triplicado de cada uno de los portainjertos en las diferentes fechas de muestreo previamente mencionadas. Se realizaron tres mediciones de color en distintas regiones de cada fruto. Se cuantificaron los tres parámetros que definen el color: luminosidad ( $L^*$ ), cromaticidad o saturación ( $C^*$ ) y el tinte o matiz ( $h$  o ángulo Hue).

#### **5.3.2 Grosor del flavedo-albedo (cáscara)**

Se cortaron por el ecuador 3 limas por triplicado de cada uno de los portainjertos y temperaturas utilizadas a los 0, 5, 10, 15 y 20 días de muestreo y se midió el grosor del flavedo-albedo (cáscara) utilizando un vernier.

#### **5.3.3 Contenido de jugo**

Se colectó y homogeneizó el jugo de 3 limas por triplicado en una probeta graduada de 500 mL y se midió el volumen para los diferentes portainjertos y temperaturas utilizadas en los días de muestreo antes mencionados.

#### **5.3.4 pH**

Se colectó y homogeneizó el jugo de 3 limas por triplicado. Se utilizaron 10 mL del jugo ya homogeneizado de cada uno de los portainjertos y

temperaturas de almacenamiento. La determinación del pH se llevó a cabo con un potenciómetro (Conductronic pH 10, Labequim S.A. de C.V. Puebla, México).

### **5.3.5 Acidez titulable (AT)**

Para cuantificar la AT se empleó 1 mL del jugo (diluido con agua en una relación 1:5 (v/v)) por triplicado de cada uno de los portainjertos y temperaturas utilizadas. Las muestras se titularon con NaOH (0.1N), utilizando como indicador 2 gotas de fenolftaleína al 0.1 % p/v. Los mL de NaOH utilizados se usaron para calcular el porcentaje de ácido cítrico (ácido predominante) presente en las muestras, utilizando la siguiente fórmula:

AT expresada como = (mL NaOH gastados) (N de NaOH) (meq. ác.cítrico) (100) / g. de jugo  
% de ácido cítrico

### **5.3.6 Porcentaje de sólidos solubles totales (SST)**

Para la determinación de los SST, se tomó una alícuota de la mezcla del jugo de 3 frutos por triplicado y se determinó el porcentaje de SST con un refractómetro manual (ERMA 0-32 %).

### **5.3.7 Porcentaje de pérdida de peso (PP)**

Para evaluar el porcentaje de PP, se seleccionaron muestras de 3 limas por cinco repeticiones de cada uno de los portainjertos y temperaturas utilizadas. Para la evaluación de este parámetro, se utilizaron muestras independientes que se siguieron a lo largo del periodo de almacenamiento. Se registró el peso inicial, al igual que los cambios de peso en cada muestra de frutos en los periodos establecidos, utilizando una balanza analítica (OHAUS, GT4100, Florham Park, New Jersey, USA) con precisión de 0.0001 g. La pérdida de peso se reportó como porcentaje de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$PP (\%) = (1 - P_n/P_i) \times 100$$

Donde:

PP (%) = Porcentaje de pérdida de peso

P<sub>n</sub> = Peso de los frutos al periodo n

P<sub>i</sub> = Peso inicial de los frutos

### 5.3.8 Oleocelosis

Para la determinación del daño por oleocelosis se utilizaron 3 frutos de lima Persa con cinco repeticiones de cada uno de los portainjertos y temperaturas estudiadas utilizando los mismos frutos en los que se determinó la PP. La incidencia y severidad de los síntomas del daño por oleocelosis se evaluó midiendo el área afectada de cada lima en papel celofán y para su cuantificación el área se transfirió a papel milimétrico. El índice de daño por oleocelosis de cada fruto se determinó cuantificando el área dañada en  $\text{cm}^2$  en relación a la superficie total del fruto utilizando las siguientes ecuaciones:

$$S_f = \left( \frac{De_f}{\pi} \right)^2 \pi$$

$$\%DPO = \frac{S_{DPO} * 100}{S_f}$$

Donde:

$S_f$  = Superficie total del fruto ( $\text{cm}^2$ )

$De_f$  = Diámetro ecuatorial del fruto (cm)

$SDPO$  = Superficie dañada por oleocelosis del fruto ( $\text{cm}^2$ )

#### 5.3.8.1 Susceptibilidad a desarrollar oleocelosis

Para determinar la susceptibilidad de los portainjertos a desarrollar oleocelosis, se utilizaron los resultados obtenidos del daño por oleocelosis previamente descritos, con los que se diseñó una escala de daño basada en el límite de aceptación establecido en la Norma Mexicana de Calidad para lima Persa (NMX-FF-077-1996), donde se consideraron 4 categorías: sin daño, daño ligero menor al 1 % de superficie dañada ( $< 0.14 \text{ cm}^2$ ), daño moderado del 1 al 5 % de superficie dañada ( $0.15 \text{ cm}^2 - 0.75 \text{ cm}^2$ ) y daño severo ( $> 5 \%$  de superficie dañada ( $> 0.76 \text{ cm}^2$ )).

#### 5.3.8.2 Oleocelosis inducida

Para determinar la susceptibilidad de los frutos al desarrollo de oleocelosis por daño mecánico, se realizó en un experimento independiente de oleocelosis inducida. Se utilizaron 3 frutos de lima Persa recién cosechados por

5 repeticiones de los diferentes portainjertos utilizados. Todos los frutos fueron sometidos a daño mecánico aplicando caída libre a partir de 2 alturas diferentes, 60 y 100 cm. La incidencia y severidad de los síntomas del daño por oleocelosis se evaluó midiendo el área afectada de cada lima en papel celofán y para cuantificar el área se transfirió a papel milimétrico. El índice de daño por oleocelosis de cada fruto se determinó cuantificando el área dañada en cm<sup>2</sup>.

### **5.3.9 Pectina**

La extracción y cuantificación de pectina se llevó a cabo utilizando las cáscaras y membranas carpelares de la mezcla homogénea de 10 limas por triplicado de cada uno de los portainjertos estudiados. La extracción de pectina se realizó en fresco y en seco para determinar el mejor rendimiento. Para su cuantificación se colocaron 50 g de muestra en 800 mL de agua a pH 2.0 (acidulada con HCl 6N). Esta mezcla se calentó a  $90 \pm 1$  °C durante una hora. Posteriormente, se filtró sobre gasa y se realizaron dos lavados a la muestra utilizando 10 mL de etanol comercial por cada lavado y después se realizó una segunda extracción de la misma muestra. Al filtrado obtenido de las dos extracciones se le adicionaron 500 mL de etanol y se dejó en reposo durante 1 hora para la precipitación de la pectina. Por decantación se colectó y se centrifugó durante 20 minutos a 5000 rpm. Se recuperó la pastilla de pectina y se secó a 40 °C durante 4 días en una estufa (Lab-Line Instruments 3608, INC.). Finalmente, la pectina deshidratada se pesó (Rojas et al., 2009).

Para determinar el rendimiento obtenido con cada uno de los portainjertos analizados, se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento (\%)} = (w_2/w_1) 100$$

Donde:

w<sub>2</sub>= el peso de la pectina obtenida.

w<sub>1</sub>= el peso de la cáscara y membranas carpelares utilizadas.

### 5.3.9.1 Ácido galacturónico, grupos metoxílicos y grado de esterificación

Para la evaluación de la calidad de la pectina, se determinó el porcentaje de ácido galacturónico, grupos metoxílicos y grado de esterificación de las muestras obtenidas de cada uno de los portainjertos utilizados. Se colocó un gramo de la pectina obtenida y se homogeneizó por 10 minutos en un vaso de precipitados. Posteriormente, se le agregó un mL de HCl y 20 mL de etanol al 60 %. Esta mezcla fue filtrada utilizando un embudo de Buchner y se realizaron seis lavados con tres mL de la solución de HCl concentrado (37 %) y tres mL de etanol al 60 % con el fin de eliminar contaminaciones de la muestra. Finalmente, se realizó un último lavado de la muestra con 4 mL etanol al 60 %, la muestra se secó en una estufa (Lab-Line Instruments 3608, INC.) durante 1 hora a 40.5 °C y se pesó.

De la muestra de pectina deshidratada obtenida en el paso anterior, se utilizó un gramo de pectina la cual fue disuelta con 0.4 mL de etanol y 20 mL de agua destilada. Posteriormente, a esta solución se le adicionó una gota de fenolftaleína como indicador y se tituló con NaOH (0.5 N) hasta alcanzar el viraje de color y se registró como titulación inicial (V1). Después, se adicionaron 4 mL de NaOH (0.5 N), se agitó y se dejó reposar durante 15 minutos. Pasada esta incubación, se adicionaron 4 mL de HCl 0.5 N y la solución se agitó hasta que el color rosa desapareciera. Nuevamente se adicionó 1 gota del indicador fenolftaleína y se tituló con NaOH (0.5 N) hasta alcanzar el viraje de color y se registró como titulación de saponificación (V2).

Cada mL de NaOH (0.5 N) consumido en la titulación de saponificación (V2) es equivalente a 15.22 mg de grupos metoxílicos y cada mL consumido de NaOH (0.5 N), en la titulación inicial (V1) es equivalente a 97.07 mg de ácido galacturónico (FCC, 1996).

Para calcular el porcentaje de grado de esterificación se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Grado de esterificación (\%)} = [V2 / (V1+V2)] (100)$$

### **5.3.10 Ácidos orgánicos**

La identificación y cuantificación de los ácidos orgánicos (oxálico, málico, tartárico, ascórbico, láctico y cítrico) se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) mediante el método descrito por Nour et. al., (2010). Se utilizó la mezcla homogénea del jugo de 3 limas recién cosechadas por triplicado de cada uno de los portainjertos. El jugo fue filtrado y posteriormente centrifugado durante 10 min a 3000 rpm y se obtuvo el sobrenadante como fuente de ácidos orgánicos. Para la determinación de los diferentes ácidos orgánicos estudiados en las muestras de jugo (oxálico, ascórbico, málico, cítrico, tartárico y láctico) se utilizó la dilución adecuada (1:10, 1:10, 1:50, 1:500, 1:100 y 1:100, respectivamente). Todas las diluciones se realizaron utilizando agua desionizada y se filtraron usando una membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  (Millipore Corporation, Bedford, MA 01730) antes de ser inyectadas manualmente al cromatógrafo (Waters 6DC, con un detector de arreglo de diodos Waters 2969). Se utilizó como fase móvil buffer de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (50 mM), pH 2.8 ajustado con  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (2 M), la cual fue filtrada utilizando una membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  (Millipore Corporation, Bedford, MA 01730) y desgasificada al vacío.

#### **Condiciones cromatográficas**

Columna: 5 $\mu\text{m}$  Hypersil GOLD aQ (250mm x 4.6mm).

Condición: Fase reversa, isocrática.

Velocidad de flujo: 0.7 ml/min.

Volumen de inyección: 20  $\mu\text{L}$ .

Presión: 1100 – 1300 psi.

Tiempo de corrida: 20 min.

Detector: Arreglo de diodos.

Detección:  $\lambda=254$  nm para ácido ascórbico y  $\lambda=214$  nm para ácidos oxálico, málico, tartárico, láctico y cítrico.

Temperatura: 22°C.

Para la identificación de cada uno de los ácidos orgánicos se construyeron curvas de calibración usando estándares comerciales grado HPLC (Sigma-Aldrich, México).

### 5.3.10.1 Vitamina C

Para la cuantificación de vitamina C (ácido L-ascórbico) se utilizó la mezcla homogénea del jugo de 3 limas por triplicado de cada uno de los portainjertos estudiados a los 0, 10 y 20 días de muestreo. Se colectó una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  de jugo (dilución 1:5) filtrado y ajustado a pH 3.5 - 4.0 con una solución de KOH (2 M). Para determinar la concentración del ácido L-ascórbico se utilizó un kit enzimático (Boehringer Mannheim) basado en el método espectrofotométrico de la determinación del cromóforo MTT-Formazan cuyo pico máximo de absorbancia se presenta a 578 nm. Los resultados fueron expresados como mg de ácido ascórbico  $\text{L}^{-1}$  de jugo.

A continuación se muestra la formación del cromóforo MTT-Formazan:



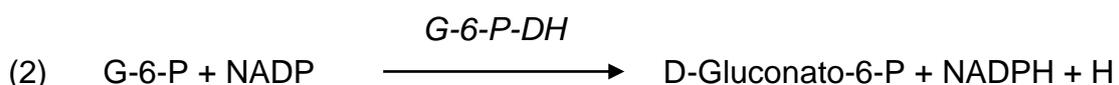
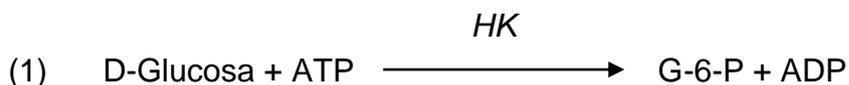
Donde:

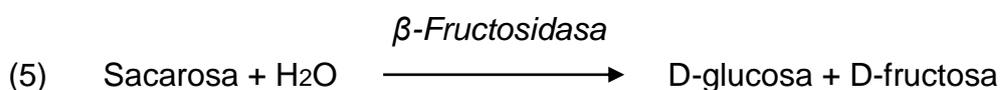
MTT = Sal de tetrazolio [3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazolio de bromuro].

PMS = Acarreador de electrones (metasulfato de 5-metilfenazinio).

### 5.3.11 Azúcares: fructosa, glucosa y sacarosa

Para determinar la concentración de glucosa, fructosa y sacarosa se utilizó un kit enzimático (Boehringer Mannheim) con el que se cuantificó la producción de NADH en las siguientes reacciones espectrofotométricas a 340 nm. Los resultados de los azúcares individuales se reportaron en gramos  $\text{L}^{-1}$  de jugo.





Donde:

*HK* = Hexocinasa.

*G-6-P-DH* = Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

*PGI* = Fosfoglucoisomerasa.

La cuantificación de sacarosa fue calculada por la diferencia de concentración de D-glucosa antes y después de la inversión enzimática.

### **5.3.12 Extracción de aceite esencial y determinación del rendimiento**

La extracción de aceite esencial se llevó a cabo mediante destilación por arrastre con vapor en condiciones de vacío estándar. Se utilizó la mezcla homogénea de cáscara de 20 limas por triplicado de cada uno de los portainjertos estudiados. 200 g de cada muestra se molieron con 800 mL de agua fría destilada en una licuadora (Osterizer 465-40, U.S.A.). Posteriormente, la mezcla se vertió en un matraz de bola de 2 L a temperatura de ebullición durante 1 hora de acuerdo a la metodología descrita en AOAC (1990). La cantidad de aceite esencial extraído se colectó y se cuantificó usando una probeta de 10 mL. El aceite esencial obtenido se almacenó en viales de vidrio color ámbar a -20 °C hasta su posterior uso.

#### **Condiciones de la destilación**

Tiempo de la destilación: 1 hora.

Temperatura del agua refrigerante: 10 °C.

Temperatura inicial de ebullición: 70 – 75 °C.

Temperatura final de ebullición: 94 °C.

Temperatura final al momento de hacer vacío: 87 °C.

### **5.3.13 Composición química del aceite esencial de lima Persa**

Para determinar la composición química del aceite esencial de lima Persa de cada uno de los portainjertos estudiados, se prepararon diluciones del aceite esencial con metanol 1:50, 1:100 y 1:200. Finalmente, se utilizó la dilución 1:100 por tener la mejor resolución de los componentes químicos presentes en el aceite esencial. Se colocaron 100  $\mu\text{L}$  de la dilución 1:100 en un inserto de 200  $\mu\text{L}$  del inyector automático del cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (cromatógrafo Agilent Technologies 6890N, espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975B), bajo las siguientes condiciones cromatográficas (Bousbia et al., 2009).

#### **Condiciones cromatográficas**

Columna empacada: HP5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ ).

Gas acarreador: Helio.

Velocidad de flujo: 0.3 ml/min.

Volumen de inyección: 1  $\mu\text{L}$ .

Temperatura del inyector: 120 °C

Temperatura del detector: 250 °C

Programa de temperatura: Temperatura inicial 60 °C durante 8 min,

Tasa de cambio de 2 °C/min hasta 250 °C.

Temperatura final de 250 °C durante 60 min

Tiempo de corrida de 106 min.

Modo de ionización: Impacto electrónico (70 eV).

Para la identificación de cada uno de los componentes en el aceite esencial de lima Persa se utilizaron los tiempos de retención y la comparación de los espectros de masas con los patrones de fragmentación disponibles en la biblioteca del equipo (HTMLLibS) y siempre se utilizó un rango de confiabilidad mayor al 95 %. Todos aquellos compuestos que tuvieron un área menor al 1 % fueron descartados.

### **5.3.14 Características histológicas del flavedo**

El análisis de las características histológicas del flavedo de frutos de lima Persa de los diferentes portainjertos estudiados, se realizó mediante la técnica

histológica convencional para tejidos vegetales, la cual permite obtener preparaciones fijas para observaciones con microscopía óptica (Gray, 1964).

Los tejidos y estructuras observadas en este estudio fueron: presencia y/o ausencia de cutícula así como el grosor de la misma, grosor y número de capas presentes en la epidermis, grosor y número de capas celulares del flavedo, tamaño de las glándulas oleíferas así como el número de capas de células limítrofes, glándulas oleíferas por cm<sup>2</sup> y número de estomas en frutos de lima Persa de los diferentes portainjertos analizados.

#### **5.3.14.1 Obtención y fijación de las muestras**

Se seleccionaron tres frutos de lima Persa por triplicado de cada uno de los portainjertos estudiados. Se obtuvieron secciones de 1 cm x 1 cm a partir de cortes transversales y longitudinales del ecuador de la lima. Las muestras se fijaron en FAA (formaldehído, etanol y ácido acético glacial) (ANEXO I) y se colocaron en frascos color ámbar durante un mes antes de la deshidratación (Gray, 1964). Con material fresco se realizaron cortes y microfotografías que se utilizaron como referencia.

#### **5.3.14.2 Deshidratación, infiltración e inclusión en parafina**

Transcurrido un mes después de la fijación, las muestras se deshidrataron mediante cambios progresivos con soluciones de (alcohol etílico, alcohol terbutílico y agua) (ANEXO I). Se utilizaron seis soluciones en diferentes porcentajes (10 %, 20 %, 35 %, 55 %, 75 %, 100 %) con cambios cada 5 horas hasta llegar al alcohol terbutílico absoluto en que se hicieron tres cambios. (Gray, 1964).

Las muestras deshidratadas se colocaron en bolsitas de gasa y se infiltraron en parafina fundida (Meyer, punto de fusión 56-58 °C) con dos cambios cada 24 horas con la finalidad de reemplazar gradualmente el medio de deshidratación por un medio de inclusión en una estufa de cultivo a 60 °C durante un día. Las muestras se incluyeron en moldes de aluminio y en algunos casos en moldes de papel de 2 cm x 3 cm con el objetivo de que la parafina penetre en los espacios intercelulares, en los vasos y en el interior de las

células infiltrando el tejido. Se dejó solidificar la parafina en los moldes a temperatura ambiente durante 2 días y se obtuvieron bloques sólidos de parafina con las muestras de tejido incluidas (Gray, 1964).

#### **5.3.14.3 Cortes histológicos, tinción y montaje de las muestras**

Los bloques de parafina obtenidos en el paso anterior, fueron montados en el micrótopo. Antes de realizar los cortes histológicos, la cuchilla del micrótopo se limpió con xileno para eliminar impurezas que pudiesen alterar la forma del corte. Para la realización de los cortes histológicos se colocó el portamuestras en el micrótopo de rotación (American Optical) y se orientó el corte. Se acomodó el bloque de parafina al filo de la cuchilla para la obtención de cortes uniformes con un grosor de 10  $\mu\text{m}$ . Los cortes obtenidos se colocaron en un baño de flotación a 52 °C, el cual consiste de agua destilada y dos cucharaditas de agar bacteriológico con el objetivo de que los cortes se adhieran a los portaobjetos. Los cortes se recogieron con los portaobjetos y posteriormente, se colocaron en una canastilla dentro de la estufa durante un día a 50° C (Gray, 1964).

Se realizaron tres lavados con xileno, tres lavados con etanol absoluto, un lavado con etanol al 90 % y uno al 70 %. Las muestras permanecieron en cada uno de estos cambios durante 5 minutos. Finalmente, se realizaron tres lavados con agua destilada (Gray, 1964).

La tinción de contraste se llevó a cabo utilizando los colorantes Safranina “O” y Verde rápido (ANEXO I). La combinación de estos colorantes es ampliamente utilizada en el estudio de la histología vegetal. La Safranina “O” tiñe de rojo: paredes lignificadas, nucléolos, cromatina, taninos y xilema. El Verde rápido proporciona un color verde azulado a las paredes no lignificadas, floema y un tono verde violáceo al citoplasma (Gray, 1964).

Las muestras contenidas en la canastilla se colocaron en una caja de Coplin con Safranina “O” durante tres días. Después, las muestras se lavaron con agua corriente hasta que no se observara exceso del colorante. Posteriormente, las muestras de cada laminilla se deshidrataron con una serie

de etanol de diferentes porcentajes en el orden siguiente: 50 %, 60 %, 70 %, 80 % y 90 %. Seguido a la deshidratación, se hizo una segunda tinción con Verde rápido durante un segundo e inmediatamente después se pasaron por tres cambios de alcohol etílico absoluto. Posteriormente, las laminillas se colocaron en una solución especial de aceite de clavo (aceite de clavo, alcohol etílico y xileno) (ANEXO I) durante dos minutos, la cual tiene como función diferenciar o contrastar los colorantes de tinción de las muestras. Finalmente, se realizaron dos lavados con xileno. Se limpió el excedente de xileno con una gasa, se aplicó 1 gota de resina sintética en las muestras y se colocó un cubreobjetos teniendo cuidado de que no se formaran burbujas. Se presionó un poco el cubreobjetos y se limpió el excedente de resina con una gasa y xileno. Las laminillas se dejaron secar a temperatura ambiente durante 8 días y se observaron en el microscopio óptico (Gray, 1964).

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **6.1 Color**

El color es uno de los parámetros de calidad más importantes en frutas y hortalizas, ya que impacta directamente en la apariencia y calidad visual (Shewfelt, 2003). El desarrollo de color de la porción comestible de las frutas y hortalizas, refleja la presencia de pigmentos que son además compuestos bioactivos tales como los carotenoides, antocianidinas y flavonoides (Oude et al., 2011). El color del flavedo (cáscara) en limones y limas ácidas es uno de los principales atributos que definen la calidad y es un parámetro determinante para su comercialización (Castle, 1995; Mazzuz, 1996; Tejacal et al., 2009; Rivera et al., 2010). En el caso específico de los frutos de lima Persa, el principal parámetro de calidad es la presencia de un color verde-oscuro en la cáscara. Los países consumidores de limas ácidas como Japón, Europa y Estados Unidos, exigen que el 95 %, 75 % y 50-60 % del color de la cáscara de los frutos importados sea verde-oscuro, respectivamente (Pantastico et al., 1966; Curti-Díaz et al., 2000; Rivera et al., 2010).

En general, en los resultados de color obtenidos en este experimento, se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en los parámetros de color

luminosidad ( $L^*$ ), cromaticidad ( $C^*$ ) y ángulo hue ( $h$ ) entre el portainjerto volkameriana y los otros portainjertos utilizados en ambas temperaturas durante todo el periodo de almacenamiento (Figura 3, 4 y 5).

Los frutos de lima Persa injertados sobre Volkameriana mostraron los mayores valores de  $L^*$  y  $C^*$  ( $p < 0.05$ ) en comparación con los otros portainjertos y temperaturas estudiadas, con excepción del día 10 del almacenamiento donde no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) (Figura 3 y 4).

Por otra parte, en todos los portainjertos y temperaturas utilizadas se observó una disminución en los valores del ángulo hue hacia el final del almacenamiento (Figura 5). Esta disminución en los valores de  $h$  puede ser explicada por el proceso de senescencia donde el color verde de los frutos se pierde por la degradación de clorofilas y a su vez los frutos adquieren un color verde-amarillo por la presencia de carotenos (Buchanan 1997; Álvarez et al., 2008).

En el caso de los frutos almacenados a 25 °C no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en los valores  $h$  entre los portainjertos estudiados. Sin embargo, en los frutos refrigerados el portainjerto volkameriana mostró menores valores de  $h$  en comparación con los otros portainjertos utilizados (Figura 5). Estos resultados indican que los portainjertos Naranja Agrio, Flying Dragon, Swingle y C-35 producen frutos de lima Persa menos brillantes y de un color verde más oscuro e intenso comparado con los frutos producidos en el portainjerto Volkameriana (Figura 3, 4 y 5). Estos resultados coinciden con los reportados por diversos autores en cuanto a que el uso de portainjertos en cítricos modifica el color de la cáscara (Tuzcu et al., 1999; Ali 2002; García et al., 2006; Bassal 2009).

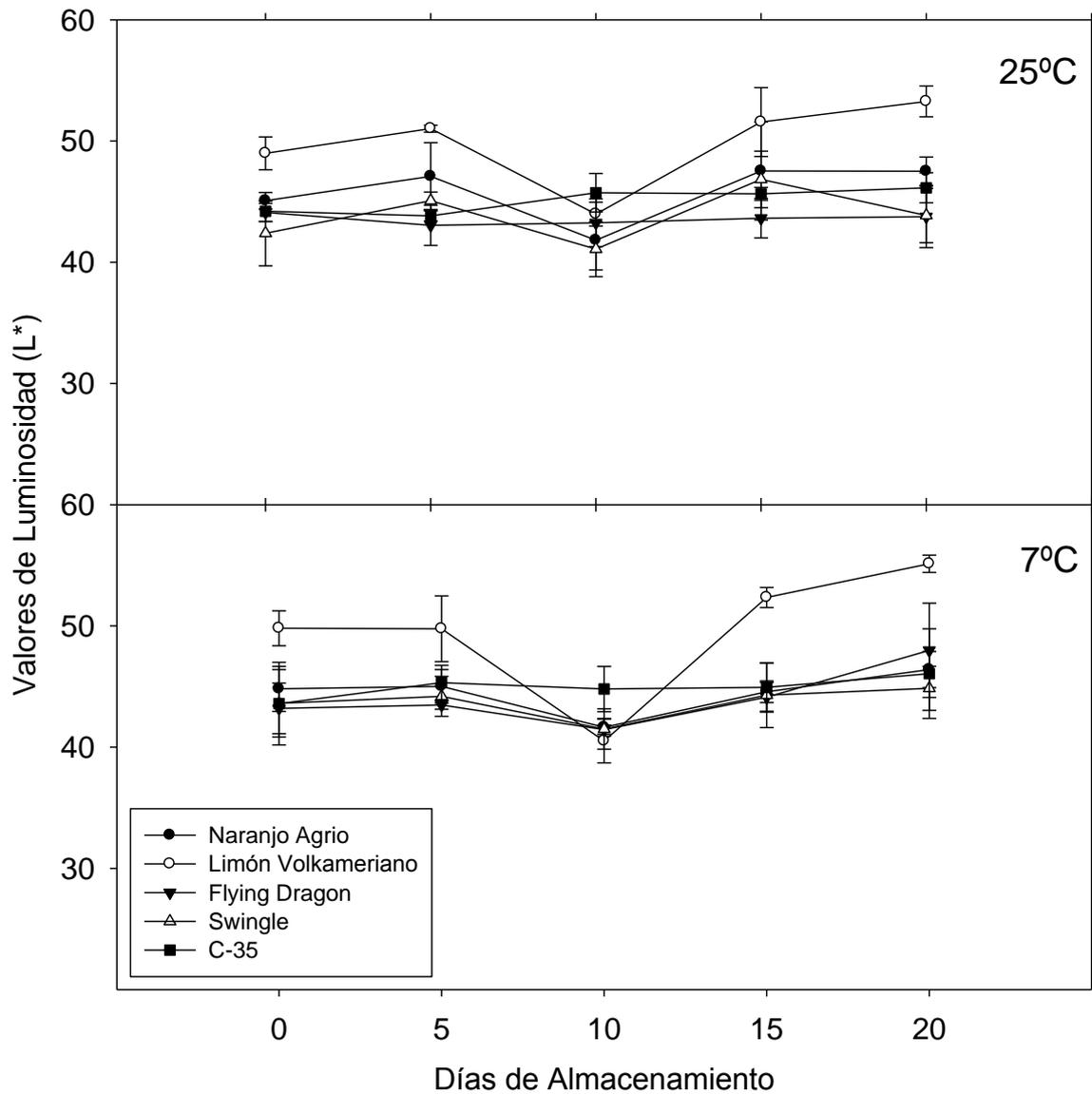


Figura 3. Valores de luminosidad (L\*) del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C. Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

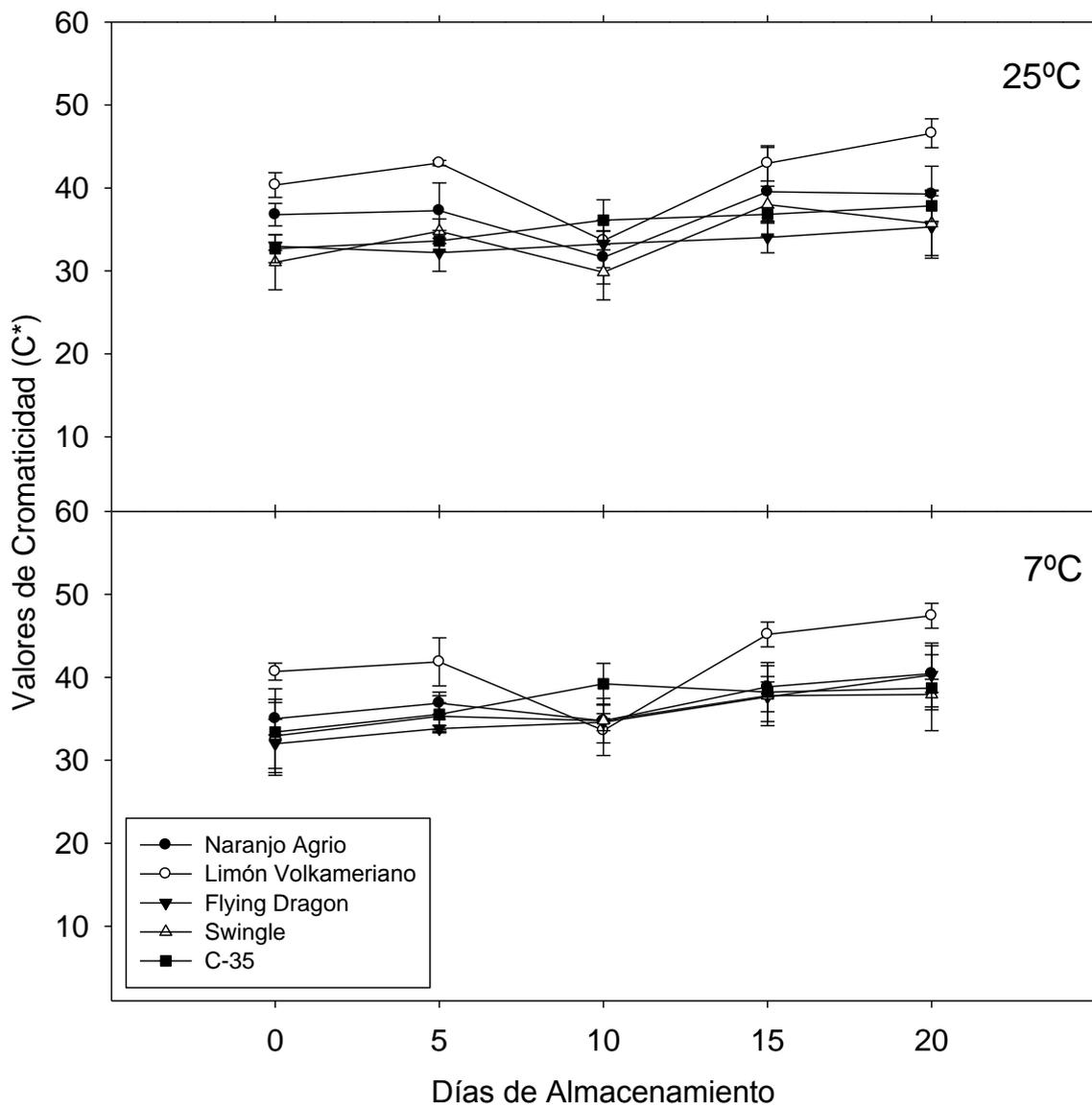


Figura 4. Valores de cromaticidad (C\*) del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C. Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

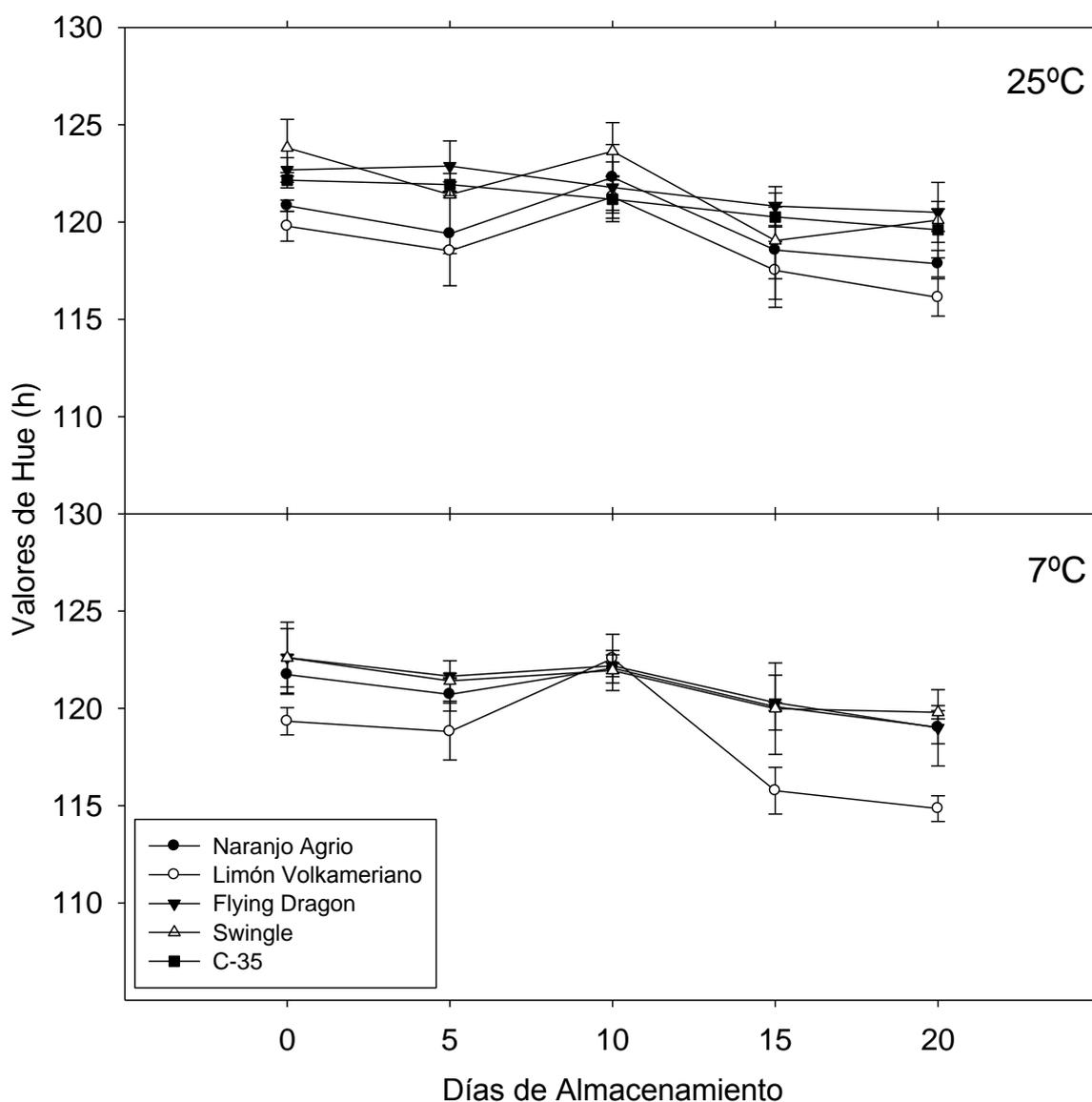


Figura 5. Valores del ángulo hue (h) del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C. Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

## 6.2 Grosor del flavedo-albedo (cáscara)

Otro de los parámetros de calidad importantes en los cítricos de consumo en fresco es el grosor de la cáscara. En general, los cítricos con una cáscara más gruesa usualmente presentan menor cantidad de jugo y son más susceptibles a desarrollar desordenes fisiológicos tales como el partido y rajado de los frutos (“splitting” y “creasing”) (Al-Jaleel et al., 2005).

Por otra parte, diversos autores han reportado que el uso de portainjertos en cítricos modifica el grosor de la cáscara (Al-Jaleel y Sekri 2002; Al-Jaleel et al 2005; Georgiou 2009; Bassal 2009; Castle et al., 2011; Legua et al., 2011).

En general, no se observaron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en el grosor del flavedo y albedo de los frutos por efecto del portainjerto (Figura 6). En este estudio los frutos almacenados a temperatura ambiente mostraron una disminución en el grosor de la cáscara en todos los portainjertos estudiados hacia el final del almacenamiento en comparación con los frutos almacenados a 7 °C (Figura 6). La disminución del flavedo-albedo en los frutos almacenados a temperatura ambiente podría ser explicada por una mayor deshidratación debido al efecto de la temperatura (Álvarez et al., 2008) Estos resultados concuerdan con los reportados por Rivera et al., (2009) en donde frutos de lima Persa almacenados a temperatura ambiente tuvieron una mayor deshidratación en comparación con los frutos almacenados en refrigeración.

En el caso de los frutos que fueron refrigerados, los valores del grosor del flavedo y albedo después de 20 días de almacenamiento se mantuvieron similares a los del análisis inicial sin observarse diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre los portainjertos estudiados (Figura 6).

Por otra parte, es importante resaltar que los frutos del portainjerto Flying Dragon mostraron en promedio 2.2 veces menor grosor del flavedo y albedo en comparación con los frutos del portainjerto Naranja Agrio ( $0.86 \pm 0.08$  y  $1.9 \pm 0.7$ , respectivamente) después de 20 días de almacenamiento en ambas temperaturas (Figura 6).

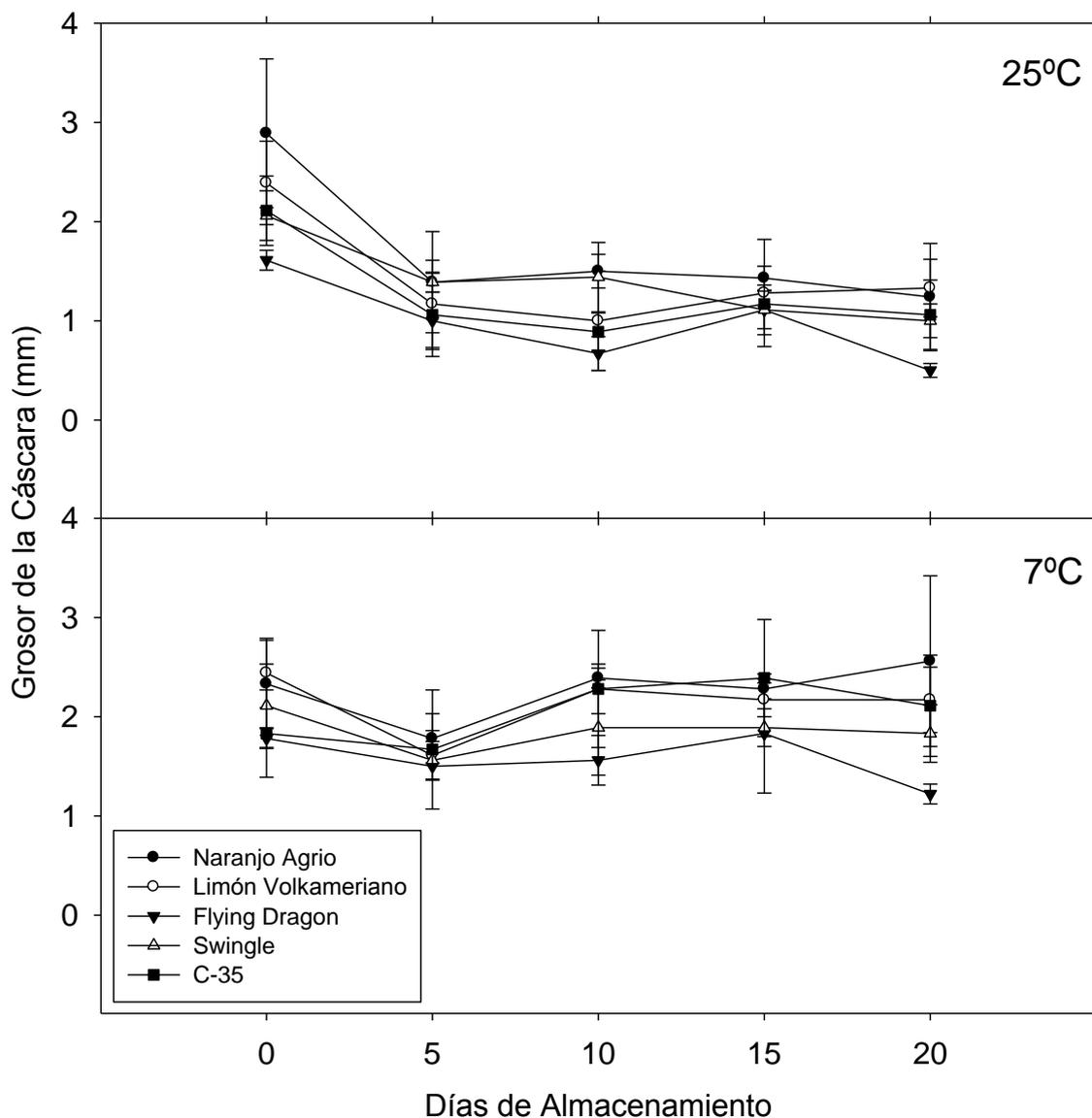


Figura 6. Grosor del flavedo-albedo (cáscara) en frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C. Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

### 6.3 Contenido de jugo

La cantidad de jugo en los cítricos es un parámetro determinante para la industria y para su consumo en fresco. Además, la madurez fisiológica de los cítricos está relacionada con el porcentaje de jugo (Al-Jaleel et al., 2005; Álvarez et al., 2008). Dentro de los principales atributos de calidad de las limas ácidas se encuentra el porcentaje de jugo, el cual debe ser  $\geq 45$  % con

respecto al peso total del fruto (Norma Mexicana NMX-FF-077-1996; Rivera et al., 2010).

Los resultados obtenidos en este estudio, no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el contenido de jugo en frutos de lima Persa por efecto del portainjerto y temperaturas estudiadas durante todo el periodo de almacenamiento (Figura 7). Estos resultados coinciden con los reportados por Rivera et al. (2009) en donde el contenido de jugo en frutos de lima Persa producidos en los portainjertos Flying dragon, Volkameriana y Naranja agrio no fue modificado por efecto del portainjerto. En este sentido, diversos autores han evaluado el efecto de los portainjertos en el tamaño de la planta, rendimiento, tolerancia a enfermedades de lima Persa (Jiménez et al., 1981; Figueiredo et al., 2002; Stenzel y Neves; 2004). Todos los resultados coinciden en señalar que el portainjerto afecta el tamaño de la planta y el rendimiento; sin embargo, cuando se refieren al efecto en la calidad de la fruta (contenido de jugo) en diferentes cítricos, los resultados son contradictorios Jiménez *et al.* (1981); Stenzel *et al.* (2004); Al-Jaleer., 2002, 2005 y Georgiou 2009 reportaron un incremento en este parámetro; en tanto que, Rivera-Cabrera *et al.* (2009) no observaron diferencias significativas por efecto del portainjerto. En general, los frutos de lima Persa que se desarrollan en los limones Volkameriano y Rugoso, presentan un mayor contenido de jugo, que en otros portainjertos (Rivera et al., 2010).

#### **6.4 pH**

El pH es un parámetro fisicoquímico importante en las frutas y hortalizas, ya que los frutos tienen altas cantidades de ácidos orgánicos que son los responsables de los valores bajos de pH (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003).

En este experimento, los valores de pH en el jugo de frutos de lima Persa se mantuvieron similares a los observados en el análisis inicial en todos los portainjertos y temperaturas estudiadas durante todo el periodo de almacenamiento. Por otra parte, no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en los valores de pH por efecto del portainjerto y temperaturas

utilizadas durante todo el periodo de almacenamiento (Figura 8). Los valores observados oscilaron en un rango de 2.1 a 2.4 (Figura 8), lo cual concuerda con los valores reportados por Lombard (1963), Hendrix y Redd (1995), Artés et al. (2007), para limones y Ziena (2000) para el caso específico de la lima Persa.

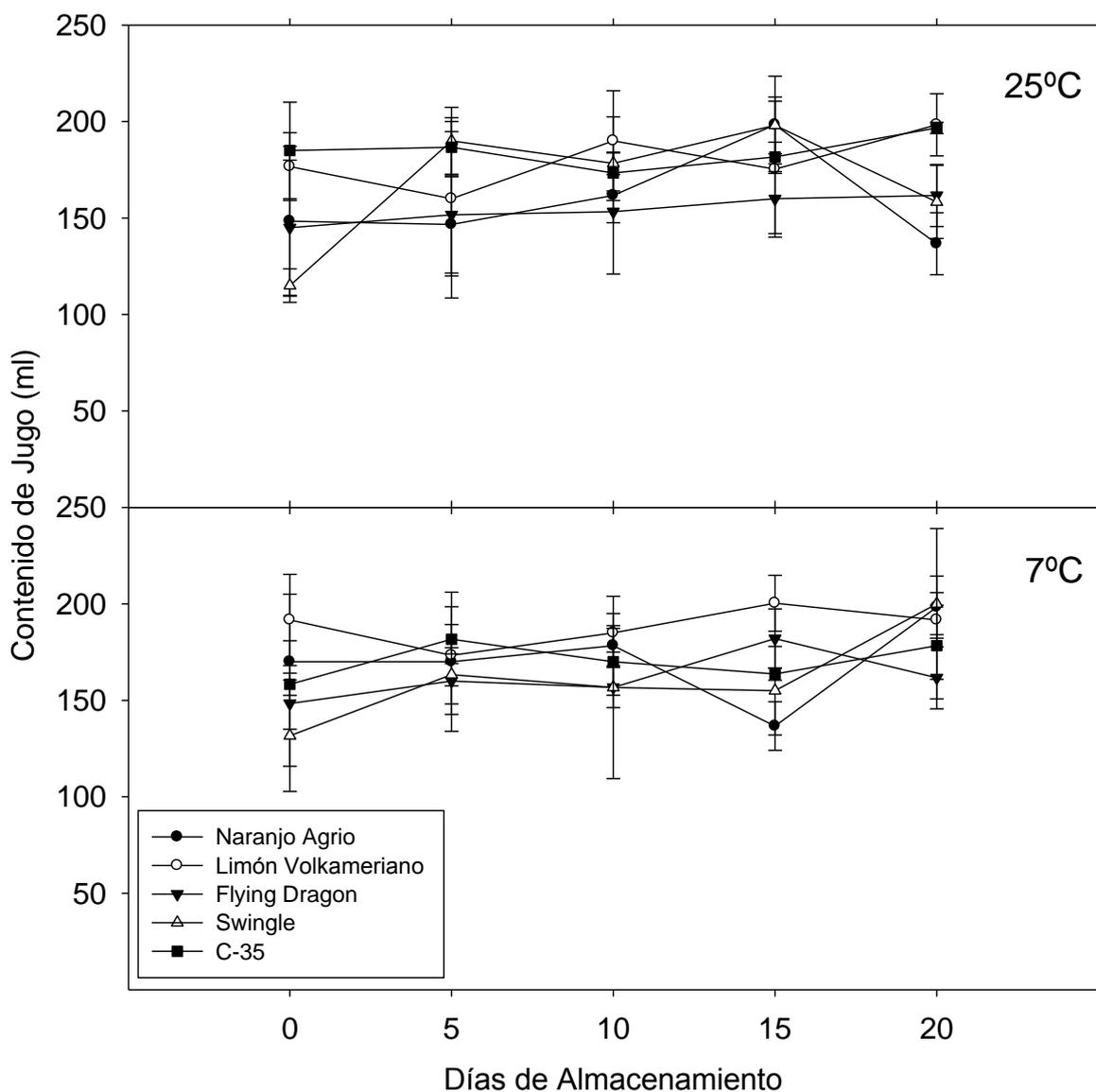


Figura 7. Contenido de jugo en frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C. Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

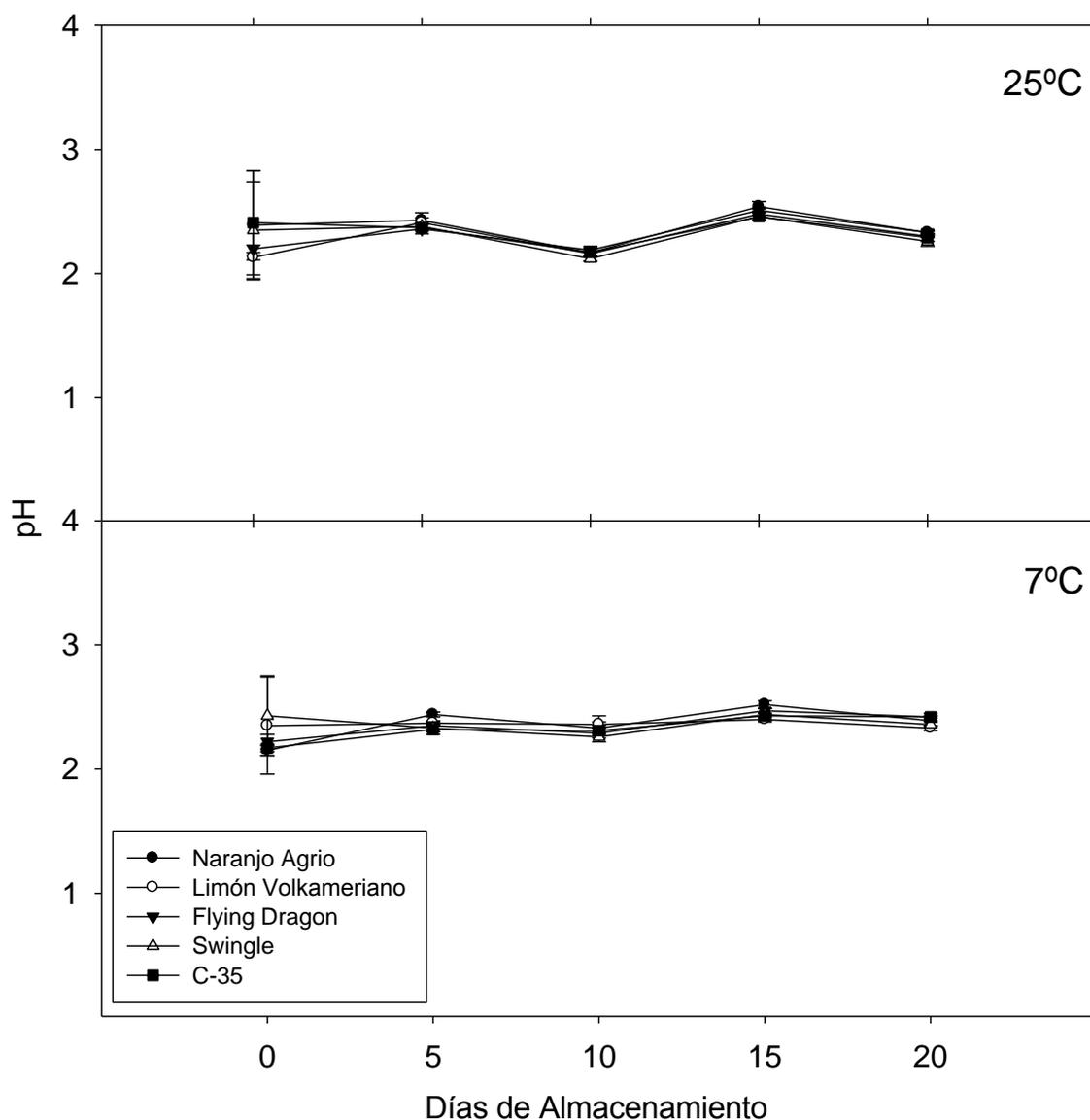


Figura 8. pH en jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C. Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

### 6.5 Acidez titulable (AT)

La acidez en el jugo de los frutos se debe principalmente a los ácidos orgánicos (cítrico, málico, tartárico, ascórbico, oxálico, benzoico, etc.) que se encuentran en gran parte almacenados en las vacuolas de las células vegetales. En el caso particular de los cítricos, el ácido que se encuentra en mayor proporción (del 85 al 95 %) es el cítrico (Tejacal et al., 2009; Nour et al., 2010). Se ha reportado que la acidez disminuye cuando los ácidos orgánicos entran al ciclo del ácido cítrico durante la maduración de los frutos (Gorny y

Kader, 2005; Paliyath y Murr, 2008). La AT es una medida cuantitativa de los ácidos orgánicos presentes en el fruto, que es determinada mediante titulación.

En el caso de las limas ácidas, la Norma Mexicana de calidad para lima Persa (NMX-FF-077-1996) establece que la AT mínima utilizada como índice de corte y relacionada con la madurez fisiológica en lima Persa no debe ser menor al 7 % expresada como ácido cítrico para su consumo. En este experimento, los valores de AT oscilaron en promedio en un rango de 6 a 7.2 % de ácido cítrico en todos los portainjertos y condiciones de almacenamiento (Figura 9).

Los resultados obtenidos en este trabajo, no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el porcentaje de AT en los frutos de lima Persa entre los diferentes portainjertos y temperaturas analizadas durante todo el periodo de almacenamiento (Figura 9). Por otra parte, es importante mencionar que los valores del porcentaje de AT se mantuvieron similares a los del análisis inicial después de 20 días de almacenamiento (Figura 9). Sin embargo, diversos autores han observado que el efecto del uso de portainjertos en cítricos tales como limones, naranjas y mandarinas modifica la AT (Verdu 1993; Ali 2002; Al-Jaleel et al., 2005; Bassal 2009; Georgiou 2009; Yildirim 2010).

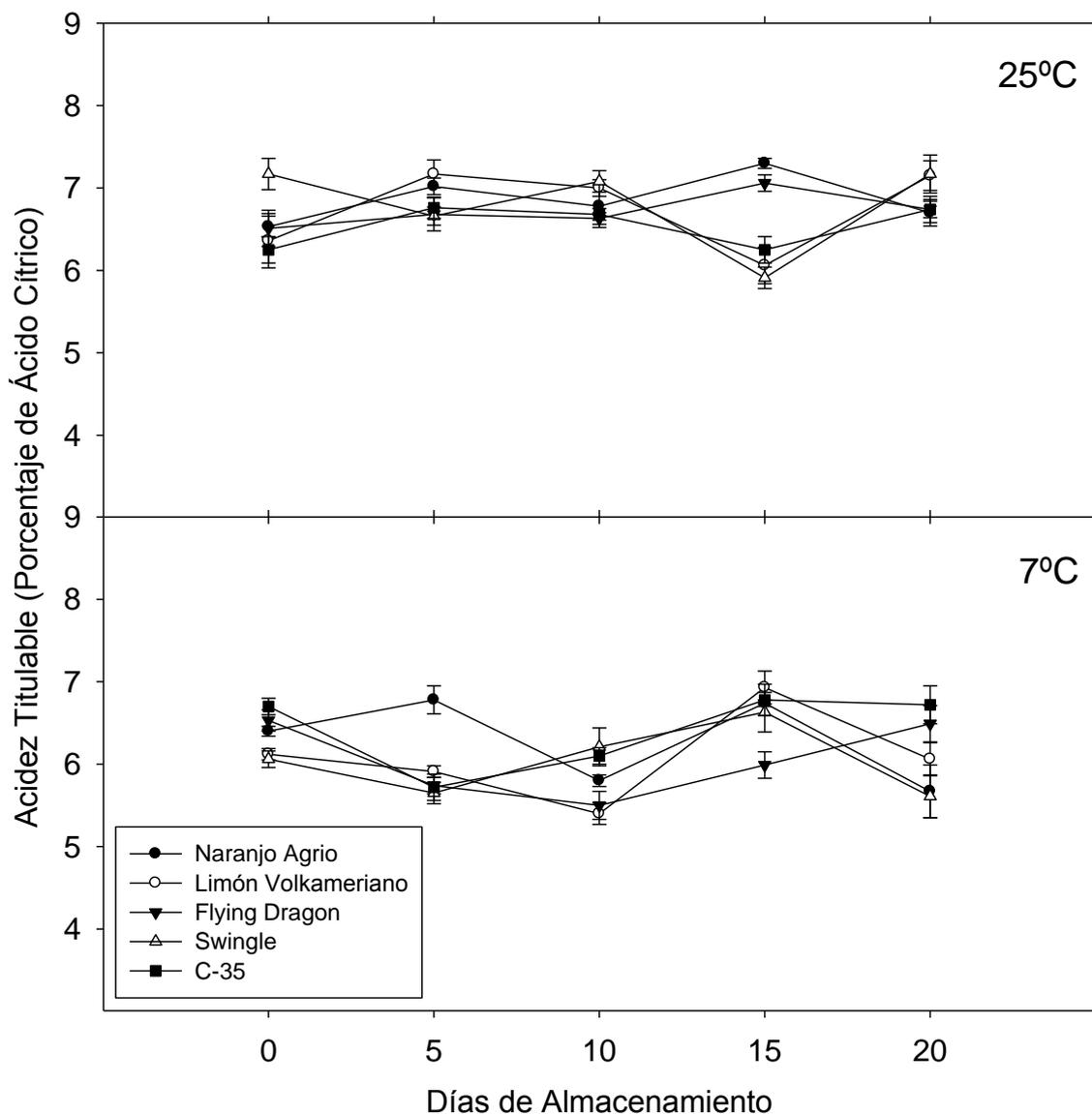


Figura 9. Acidez titulable (porcentaje de ácido cítrico) en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C. Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

### 6.6 Porcentaje de sólidos solubles totales (SST)

El sabor agradable en el jugo de los frutos cítricos es debido en gran parte al contenido de SST presentes, los cuales están compuestos aproximadamente por 80 % de azúcares (principalmente fructosa, glucosa y sacarosa), 10 % de ácidos orgánicos (principalmente ácido cítrico), 1 % de compuestos nitrogenados y el 9 % restante por vitaminas, minerales y otras sustancias solubles en agua (Hours et al., 2005). Diversos autores han reportado que el uso de portainjertos cítricos modifica el contenido de SST. Por

otra parte diversos autores han reportado que valores altos de SST en el jugo de frutos cítricos está asociado con una mayor calidad del fruto (Takahara et al., 2001; Stuchi et al., 2003; Yahata et al., 2003; Al-Jaleel et al., 2005; Bassal et al., 2009; Georgiou 2009; Yildirim et al., 2010; Cantuarias et al., 2010; Ladaniya y Mahalle, 2011).

El porcentaje de SST mínimo para lima Persa de consumo en fresco debe ser de 6.8 % de acuerdo a lo establecido en la Norma Mexicana de calidad NMX-FF-077-1996, ya que este porcentaje garantiza la madurez fisiológica de los frutos.

En este trabajo, los valores del porcentaje de SST en el jugo de frutos de lima Persa oscilaron entre el 8 % y 10.5 % durante todo el periodo de almacenamiento y en todos los portainjertos utilizados (Figura 10). Además, se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el porcentaje de SST por efecto del portainjerto. Los frutos de lima Persa del portainjerto Flying Dragon mostraron los mayores valores de SST ( $p < 0.05$ ) en comparación con los otros portainjertos en ambas temperaturas estudiadas durante todo el periodo de almacenamiento (Figura 10). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Rivera et al. (2009) y Stuchi et al. (2003) en donde los frutos de lima Persa producidos en el portainjerto Flying Dragon mostraron un mayor porcentaje de SST en comparación con el uso de otros portainjertos. De igual manera Takahara et al. (2001), Yahata et al. (2003) y Cantuarias et al. (2010) observaron el mismo efecto del portainjerto Flying Dragon que indujo un mayor porcentaje de SST en frutos de mandarina Satsuma.

Se ha sugerido que el uso del portainjerto Flying Dragon induce un mayor estrés hídrico durante el desarrollo de los frutos en los árboles de mandarina Satsuma, lo que puede acelerar la acumulación de azúcares (Yahata et al., 2003). Para la explicación de este fenómeno se ha propuesto que la conductancia hidráulica y el desarrollo anatómico del injerto se modifican cuando se utilizan portainjertos enanizantes tales como Flying Dragon (Beakbane y Thompson 1939; Tyree y Ewers, 1991; Goncalves et al., 2007).

De esta forma el uso de portainjertos tiene influencia en la productividad del injerto al afectar el balance hídrico de la planta (Fassio et al., 2009), lo que puede provocar un menor flujo hidráulico induciendo un mayor estrés hídrico en el desarrollo de los frutos por efecto del portainjerto (Yahata et al., 2003). Por otra parte, es importante mencionar que los valores de SST se mantuvieron similares a los del análisis inicial después de 20 días de almacenamiento, en todos los portainjertos y temperaturas utilizadas (Figura 10).

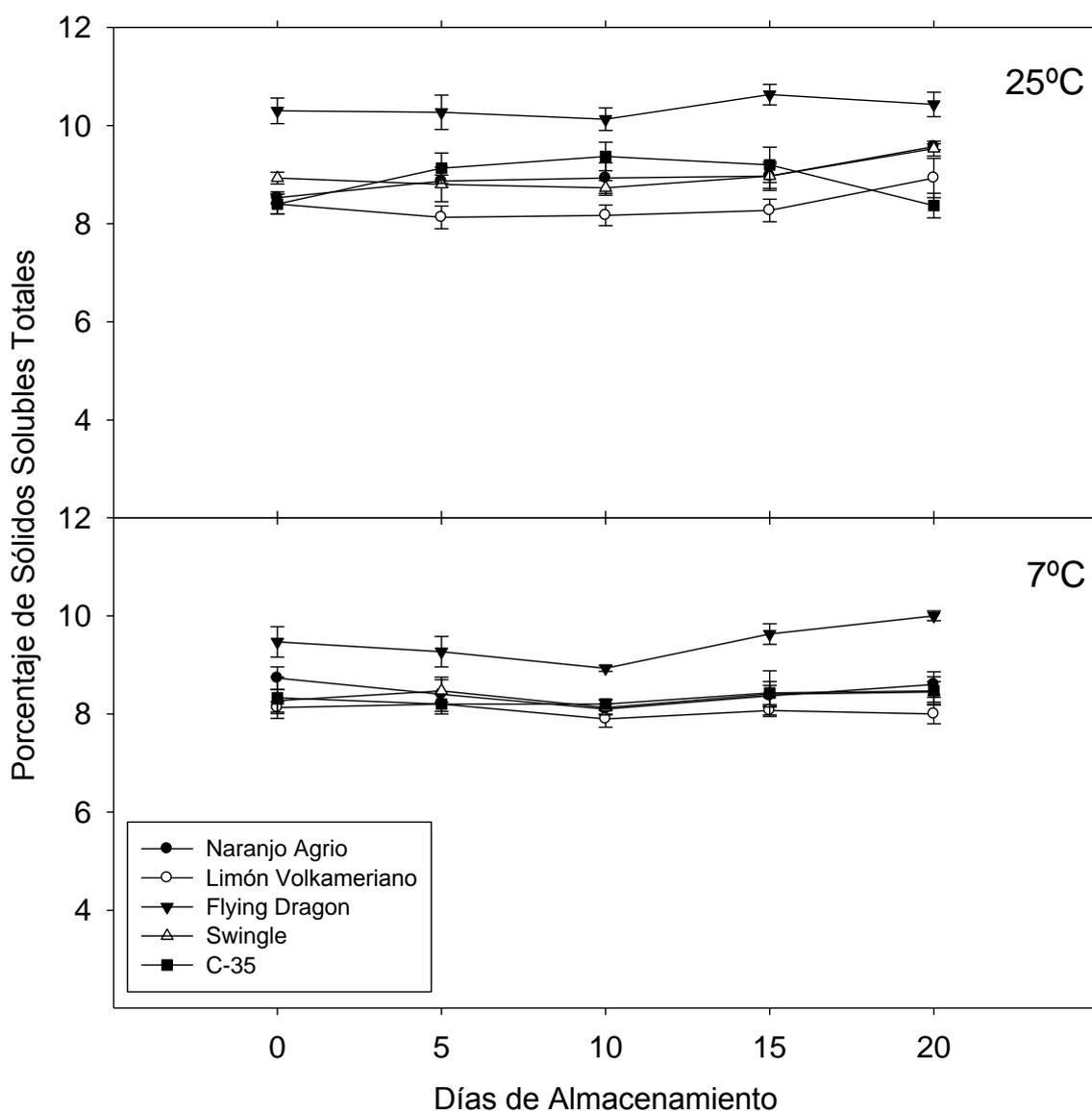


Figura 10. Porcentaje de sólidos solubles totales en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C. Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

## 6.7 Porcentaje de pérdida de peso (PP)

Uno de los principales problemas de los productos frutícolas, es la pérdida de peso durante el almacenamiento, ya que esta pérdida ocasiona una disminución en la calidad comercial del fruto así como también grandes pérdidas económicas (Yahia e Higuera, 2002). La pérdida de peso en los frutos aumenta como consecuencia de la transpiración después de la cosecha. Las condiciones ambientales con baja humedad relativa y altas temperaturas provocan un aumento en la transpiración, lo que ocasiona una mayor pérdida de agua, acelerando la senescencia y disminución de la calidad del fruto (Álvarez et al., 2008). Las condiciones de almacenamiento utilizando bajas temperaturas como es el caso de la refrigeración, es una de las principales tecnologías postcosecha para prolongar la vida de anaquel, manteniendo la calidad e incrementando el tiempo de conservación de los frutos (Gómez et al., 2009; Zhang et al., 2010).

En este estudio, se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la PP de frutos de lima Persa por efecto de la temperatura. Los frutos que fueron almacenados en refrigeración mostraron en promedio 11 % menor PP en comparación con los frutos almacenados a temperatura ambiente después de 20 días de almacenamiento (Figura 11). Esta disminución es debida principalmente a la deshidratación. En el caso de los frutos almacenados a temperatura ambiente, los frutos del portainjerto Flying Dragon mostraron el menor porcentaje de PP (13.6 %) ( $p < 0.05$ ) después de 15 y 20 días del periodo de almacenamiento (Figura 11) en comparación con todos los portainjertos analizados. Estos resultados concuerdan con los observados por Rivera et al. (2009) en donde los frutos de lima Persa del portainjerto Flying Dragon tuvieron la menor PP (13 %) en comparación con el portainjerto Volkameriana que perdió el 30 % de PP después de 20 días de almacenamiento a 25 °C. Es decir, que aún sin emplear refrigeración, los frutos del portainjerto Flying Dragon tiene la menor PP lo cual tiene implicaciones económicas importantes.

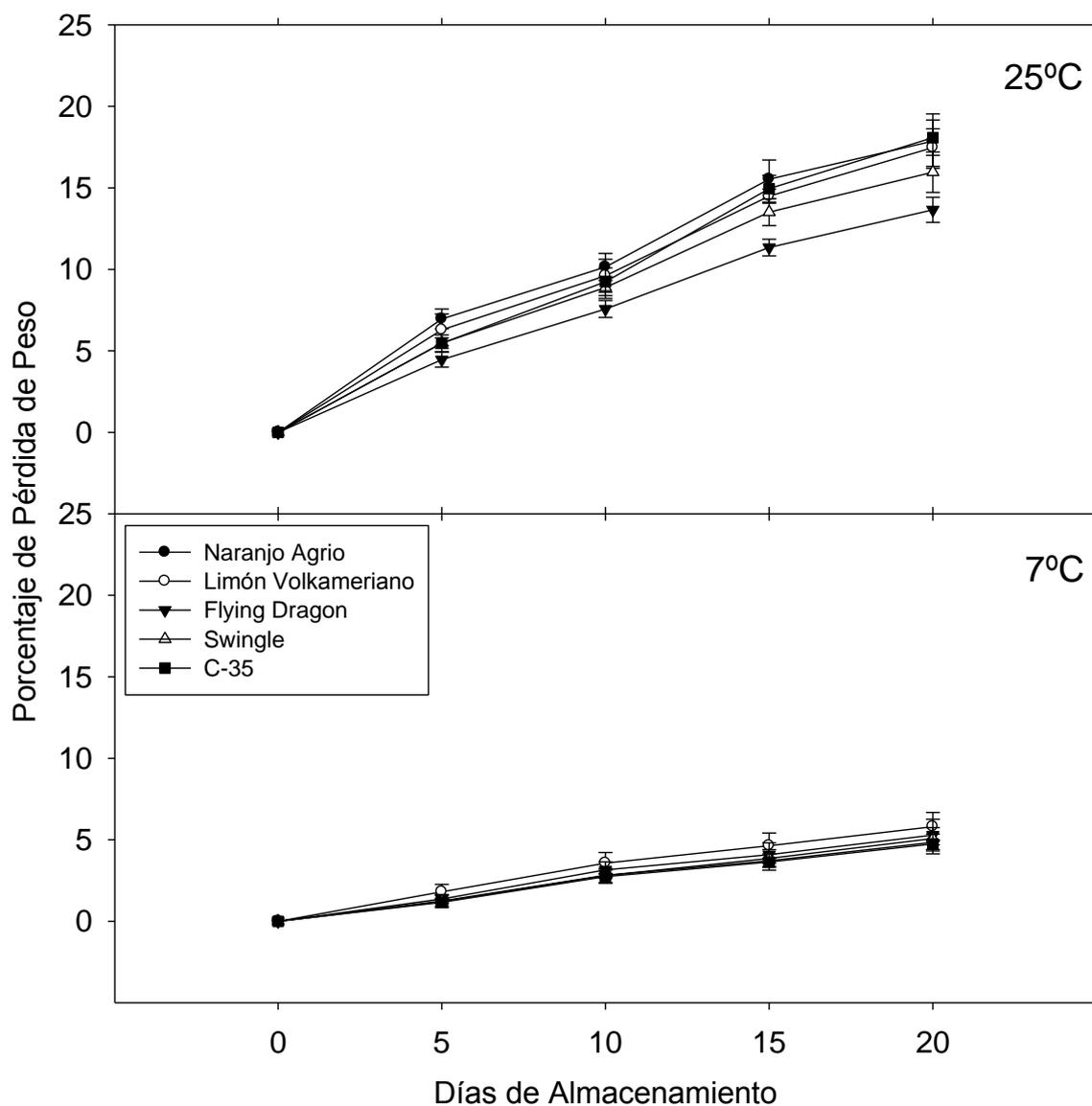


Figura 11. Porcentaje de pérdida de peso de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C. Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

### 6.8 Oleocelosis

La oleocelosis es uno de los principales desórdenes fisiológicos en cítricos, (Eaks 1968; Shomer y Erner 1989; Murata 1997; Knight et al. 2002; Bakkali et al. 2008; Zheng et al., 2009). En la actualidad, se ha reportado que el uso de algunos portainjertos puede incrementar la susceptibilidad al daño por oleocelosis en frutos de naranja “Hamlin” (Zheng et al., 2011). También, se ha reportado que el balance en la concentración de los minerales nitrógeno (N), potasio (K), magnesio (Mg), fósforo (P) y calcio (Ca) presentes en la hoja y

cáscara de frutos de naranja “Hamlin” influyen significativamente en el desarrollo de oleocelosis (Zheng et al., 2010).

Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que los valores de oleocelosis en frutos de lima Persa se encontraron dentro del límite de aceptación en todos los portainjertos estudiados (Figura 12) de acuerdo a lo establecido en la Norma Mexicana (NMX-FF-077-1996).

No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el desarrollo de oleocelosis por efecto del portainjerto durante todo el periodo de almacenamiento (Figura 12). Sin embargo, el que no se hayan observado diferencias significativas ( $p > 0.05$ ), es debido a que el daño por oleocelosis no se presentó en todos los frutos ( $n=15$ , de cada portainjerto), por lo que la ausencia de daño en los frutos incrementó la dispersión de los resultados. Al realizar las pruebas de normalidad (Prueba de Anderson-Darling) y homocedasticidad (Prueba de Levene) de los datos de oleocelosis obtenidos, se observó que no presentaban una distribución normal y homogeneidad de las varianzas, por lo que decidimos utilizar pruebas no paramétricas también llamadas pruebas de distribución libre en el análisis de estos datos. Las pruebas no paramétricas utilizadas fueron la prueba de Kruskal-Wallis en la que se comparan las medianas de varias poblaciones cuando no existe una distribución normal y la prueba de comparación múltiple de medianas de Dunn.

Mediante la aplicación de estas pruebas se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el desarrollo de daño por oleocelosis en frutos de lima Persa por efecto del portainjerto (Figura 13). Los frutos de los portainjertos Naranja agrio, Volkameriana y C-35 presentaron mayor área dañada por oleocelosis en comparación con los frutos de Swingle y Flying Dragon durante todo el periodo del almacenamiento; sin embargo, los frutos de Volkameriana no presentaron daño sino hasta el día 20 del almacenamiento (Figura 13).

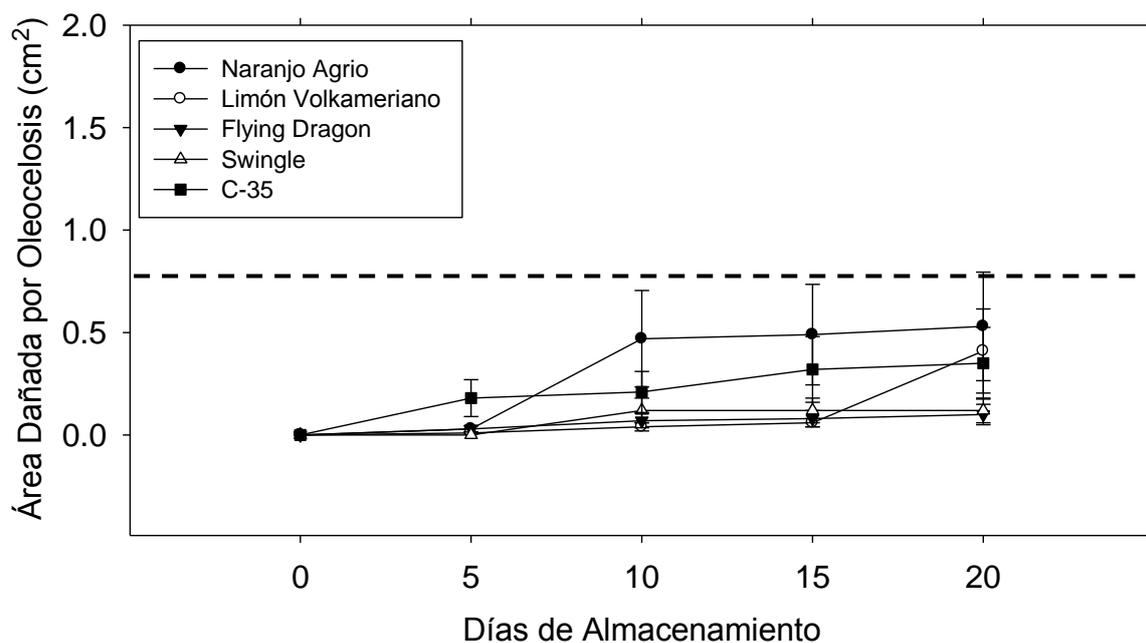


Figura 12. Daño por oleocellosis en frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos. Cada valor es el promedio de cinco repeticiones ( $n=15$ )  $\pm$  desviación estándar. La línea punteada indica el límite de aceptación establecido en este experimento de acuerdo a la Norma Mexicana (NMX-FF-077-1996).

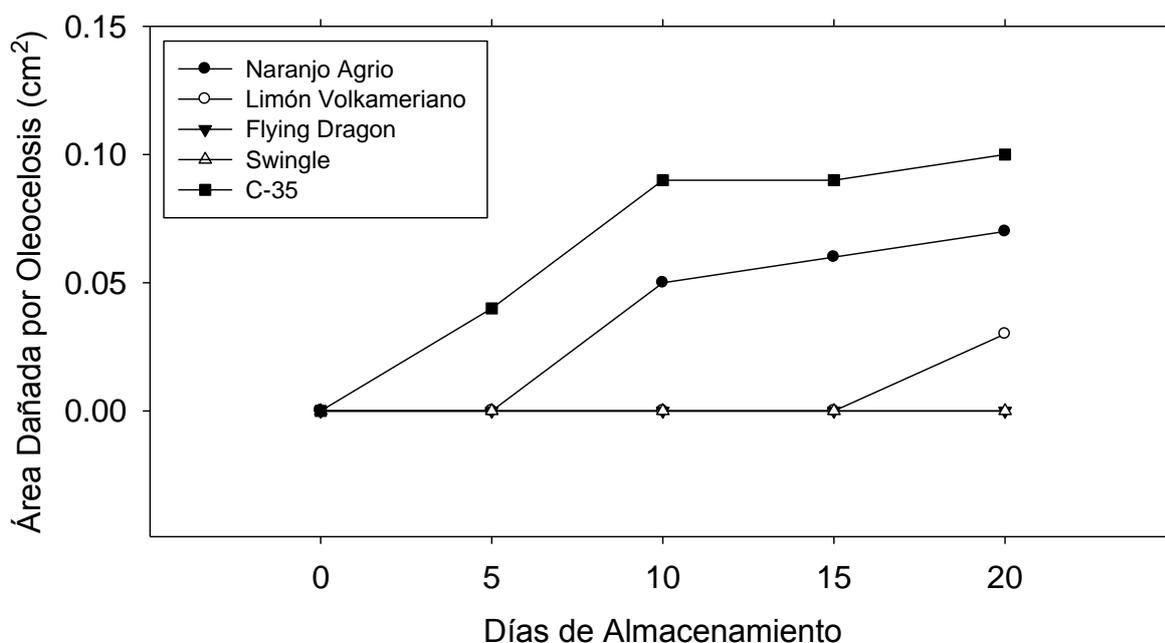


Figura 13. Daño por oleocellosis de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos. Cada valor representa la mediana.

### **6.8.1 Susceptibilidad a desarrollar oleocelosis**

Para determinar la susceptibilidad a desarrollar oleocelosis se realizó un experimento tomando en cuenta el número de frutos dañados por oleocelosis de cada uno de los portainjertos estudiados durante 20 días de almacenamiento. Partiendo de la condición de que todos los frutos de cada uno de los portainjertos tienen la misma probabilidad de presentar oleocelosis, pero no la misma susceptibilidad a desarrollarla.

En la tabla 2, se muestra el número de frutos que desarrollaron oleocelosis de acuerdo a las 4 categorías establecidas en este experimento. Se observó que los frutos producidos de los portainjertos Naranja agrio y C-35 tuvieron el mayor número de frutos dañados después de 20 días de almacenamiento en comparación con Volkameriana, Flying Dragon y Swingle. Además, los frutos de los portainjertos Naranja agrio y C-35 mostraron el mayor porcentaje (20 %) de frutos con daño severo.

**Tabla 2. Susceptibilidad al desarrollo de oleocelosis en frutos de lima Persa.**

Días de Almacenamiento	Sin Daño	Daño Ligero	Daño Moderado	Daño Severo
	0%	< 1 % (< 0.14 cm <sup>2</sup> )	1 - 5 % (0.15 cm <sup>2</sup> - 0.75 cm <sup>2</sup> )	> 5 % (> 0.76 cm <sup>2</sup> )
<b>5 Días</b>				
Naranja Agrio	9	5	1	0
Limón Volkameriano	13	2	0	0
Flying Dragon	11	3	1	0
Swingle	12	3	0	0
C - 35	6	4	4	1
<b>10 Días</b>				
Naranja Agrio	5	5	2	3
Limón Volkameriano	8	6	1	0
Flying Dragon	10	3	2	0
Swingle	10	4	0	1
C - 35	5	5	4	1
<b>15 Días</b>				
Naranja Agrio	5	5	2	3
Limón Volkameriano	8	5	2	0
Flying Dragon	10	3	2	0
Swingle	10	3	1	1
C - 35	5	4	3	3
<b>20 Días</b>				
Naranja Agrio	<b>4</b>	5	3	<b>3</b>
Limón Volkameriano	7	6	0	2
Flying Dragon	10	3	1	1
Swingle	10	3	1	1
C - 35	<b>5</b>	4	3	<b>3</b>

### 6.8.2 Oleocelosis inducida

Los daños mecánicos son extremadamente comunes durante el manejo postcosecha de los cítricos. Estos daños son definidos como deformaciones plásticas, rupturas superficiales o daños en los tejidos causados por fuerzas externas (Sánchez et al., 2008). Los daños mecánicos favorecen el desarrollo de desórdenes en la cáscara, por lo que un manejo postcosecha cuidadoso minimizaría al máximo los daños en el fruto (Eckert y Eaks, 1989). Un aspecto importante relacionado con los daños mecánicos es la incidencia de oleocelosis. De acuerdo a Fischer et al. (2007), los daños mecánicos provocan

ruptura de las glándulas oleíferas del flavedo ocasionando un incremento en los síntomas por oleocelosis.

En este sentido, los resultados obtenidos en el experimento de oleocelosis inducida mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el desarrollo de oleocelosis por efecto de las alturas utilizadas. Los frutos sometidos a daño mecánico con la altura de 100 cm mostraron un mayor daño por oleocelosis en comparación con aquellos frutos a los que se les aplicó el mismo estrés con una altura de 60 cm (Figura 14). Estos resultados coinciden con los reportados por Scherrer et al. (2011), donde la liberación del aceite esencial por el colapso de las glándulas oleíferas en tangerinas Rainha, naranja Valencia y lima Persa depende de la intensidad de la fuerza externa aplicada en la cáscara.

Por otra parte, los valores de oleocelosis en los frutos de lima Persa se encontraron dentro del límite de aceptación en todos los portainjertos estudiados, con excepción de los frutos del portainjerto C-35 en los días 10, 15 y 20 de almacenamiento donde los valores observados rebasaron el límite de aceptación establecido (Figura 14).

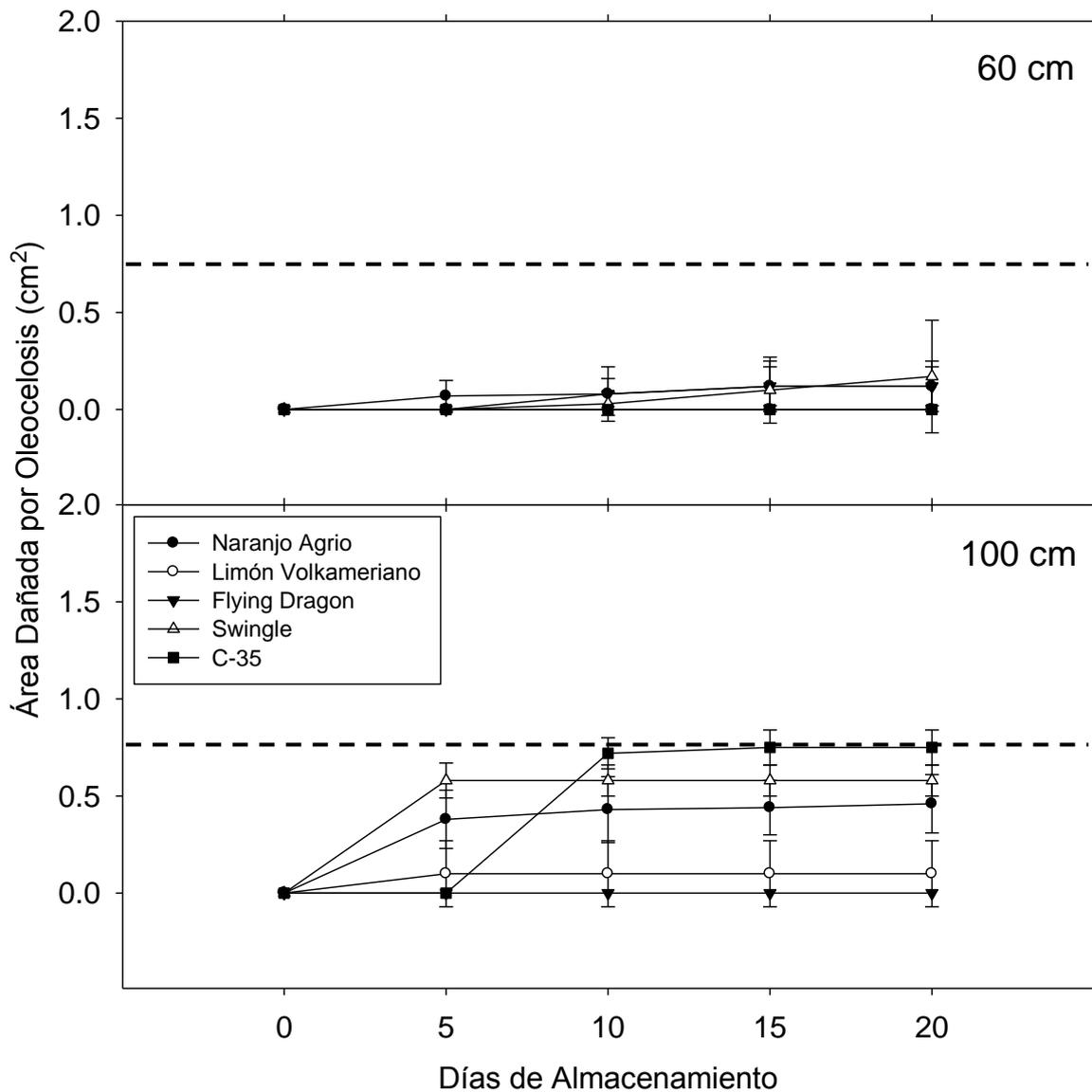


Figura 14. Daño por oleocelosis inducida en frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos utilizando 60 y 100 cm de caída libre. Cada valor es el promedio de cinco repeticiones ( $n=15$ )  $\pm$  desviación estándar. La línea punteada indica el límite de aceptación establecido en este experimento de acuerdo a la Norma Mexicana (NMX-FF-077-1996).

### 6.9 Pectina

Las pectinas son uno de los constituyentes principales de la pared celular de frutos y vegetales (Camejo et al., 2006). Se ha reportado que los frutos de los cítricos presentan el más alto contenido de pectina en comparación con otros frutos (Ywassaki y Canniatti-Brazaca, 2011).

En este estudio, se evaluó la extracción de pectina a partir de desechos de lima Persa injertada en diferentes portainjertos. Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en cuanto al método de extracción utilizado (Tabla 3 y 4). Se observó un mayor rendimiento de pectina en la extracción en seco en comparación con la extracción en fresco en todos los portainjertos estudiados (Tabla 3 y 4). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Domingo et al. (2010) donde observaron un mayor rendimiento de pectina utilizando cáscaras deshidratadas de limón en comparación con el uso de cáscaras frescas. El incremento en la cantidad de pectina obtenida utilizando la extracción en seco, puede atribuirse principalmente a la deshidratación, ya que al utilizar las cáscaras de Lima Persa deshidratadas la cantidad de pectina se concentra.

Por otra parte, los mayores rendimientos de pectina se obtuvieron utilizando los frutos de los portainjertos Naranja Agrio (en fresco y en seco) y Limón Volkameriano (en fresco) en comparación con Flying Dragon, Swingle y C-35 (Tabla 3 y 4). En cuanto a la calidad de la pectina, que es determinada por la pureza (contenido de ácido galacturónico) y la capacidad de gelificación (grupos metoxílicos y grado de esterificación), no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en ninguno de los portainjertos y condiciones de extracción utilizadas (Tabla 3 y 4).

**Tabla 3. Rendimiento de pectina en muestra seca.**

Portainjerto	Rendimiento		Ácido Galacturónico		Grupos Metoxílicos		Grado de Esterificación
	gramos	%	gramos	%	gramos	%	%
Naranja Agrio	4.54 ± 0.31 a	9.09 ± 0.62 a	0.52 ± 0.06 a	51.77 ± 5.6 a	0.04 ± 0.02 a	4.06 ± 1.76 a	29.17 ± 11.02 a
Limón Volkameriano	3.55 ± 0.46 b	7.09 ± 0.92 b	0.81 ± 0.06 a	80.89 ± 5.6 a	0.06 ± 0.02 a	5.58 ± 1.76 a	30.09 ± 4.87 a
Flying Dragon	3.07 ± 0.13 b	6.13 ± 0.26 b	0.65 ± 0.24 a	64.71 ± 24.4 a	0.06 ± 0.02 a	5.58 ± 2.32 a	35.98 ± 13.89 a
Swingle	2.83 ± 0.14 b	5.66 ± 0.28 b	0.66 ± 0.16 a	66.33 ± 15.6 a	0.03 ± 0.02 a	2.54 ± 1.76 a	18.57 ± 7.93 a
C-35	2.83 ± 0.25 b	5.65 ± 0.51 b	0.71 ± 0.06 a	71.18 ± 5.6 a	0.04 ± 0.02 a	3.55 ± 2.32 a	22.95 ± 12.20 a

\* Las letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 4. Rendimiento de pectina en muestra fresca.**

Portainjerto	Rendimiento		Ácido Galacturónico		Grupos Metoxílicos		Grado de Esterificación
	gramos	%	gramos	%	gramos	%	%
Naranja Agrio	3.36 ± 0.35 a	6.71 ± 0.71 a	0.61 ± 0.06 a	58.24 ± 5.6 a	0.04 ± 0.01 a	3.04 ± 0.88 a	26.85 ± 5.7 a
Limón Volkameriano	3.04 ± 0.08 a	6.07 ± 0.16 a	0.55 ± 0.15 a	55.01 ± 14.8 a	0.04 ± 0.02 a	4.06 ± 2.32 a	30.00 ± 10 a
Flying Dragon	2.23 ± 0.12 b	4.47 ± 0.24 b	0.55 ± 0.28 a	55.01 ± 28 a	0.05 ± 0.01 a	5.07 ± 0.88 a	39.29 ± 12.88 a
Swingle	1.42 ± 0.11 c	2.84 ± 0.23 c	0.58 ± 0.1 a	58.24 ± 9.71 a	0.04 ± 0.01 a	4.06 ± 0.88 a	30.83 ± 6.29 a
C-35	2.23 ± 0.09 b	4.46 ± 0.17 b	0.63 ± 0.05 a	63.10 ± 4.85 a	0.04 ± 0.01 a	4.06 ± 0.88 a	29.04 ± 5.97 a

\* Las letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### **6.10 Ácidos orgánicos**

Los ácidos orgánicos y azúcares son los principales compuestos del jugo de los cítricos. La acidez del jugo está determinada principalmente por la concentración de los ácidos orgánicos predominantes (ácido cítrico), aunque algunos aminoácidos, minerales y fenoles pueden afectar también la percepción de la acidez (Kader, 2008).

En este estudio, los valores obtenidos en el contenido de los ácidos oxálico, málico, ascórbico y cítrico presentes en el jugo de frutos de lima Persa injertados en los diferentes portainjertos estudiados fueron en promedio de 1.02, 6.22, 0.92 y 62.5 g L<sup>-1</sup> de jugo, respectivamente. Estos resultados coinciden con los reportados por Nour et al. (2010) en el jugo de frutos de limas ácidas. En el caso particular de los ácidos orgánicos tartárico y láctico los niveles no fueron detectables (Tabla 5).

Por otra parte, no se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el contenido de los ácidos oxálico, málico y ascórbico en el jugo de frutos de lima Persa en ninguno de los portainjertos estudiados (Tabla 5). Sin embargo, los portainjertos Volkameriana y Flying Dragon mostraron el mayor contenido de ácido cítrico en comparación con los otros portainjertos estudiados (Tabla 5).

**Tabla 5. Contenido de ácidos orgánicos en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

Portainjerto	Ácido Oxálico <sup>1</sup> (g/l)	Ácido Tartárico (g/l)	Ácido Máfico <sup>2</sup> (g/l)	Ácido Ascórbico <sup>3</sup> (g/l)	Ácido Láctico (g/l)	Ácido Cítrico <sup>4</sup> (g/l)
Naranja Agrio	0.954 ± 0.062 a	ND	7.829 ± 2.587 a	0.948 ± 0.034 a	ND	61.531 ± 0.291 b
Limón Volkameriano	1.149 ± 0.025 a	ND	5.894 ± 0.473 a	0.958 ± 0.010 a	ND	64.632 ± 0.767 a
Flying Dragon	1.057 ± 0.240 a	ND	5.231 ± 0.965 a	0.954 ± 0.023 a	ND	63.920 ± 3.696 a
Swingle	0.815 ± 0.194 a	ND	5.928 ± 0.320 a	0.899 ± 0.071 a	ND	61.125 ± 0.258 b
C-35	1.133 ± 0.131 a	ND	6.220 ± 0.190 a	0.878 ± 0.060 a	ND	61.448 ± 0.399 b

<sup>1</sup> $\alpha = 0.05$ ; N=3; F=2.47; P=0.111851.

<sup>2</sup> $\alpha = 0.05$ ; N=3; F=1.76; P=0.212432.

<sup>3</sup> $\alpha = 0.05$ ; N=3; F=1.90; P=0.186664.

<sup>4</sup> $\alpha = 0.05$ ; N=3; F=10.8; P=0.001185.

\* ND= No detectable.

\* Las letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### 6.10.1 Vitamina C

Los frutos de los cítricos se caracterizan por su alto contenido en vitamina C (ácido ascórbico). Existen algunos factores que afectan el contenido de vitamina C en las frutas y hortalizas, tales como temporada de cosecha, duración del transporte de los productos hasta su destino, periodo de almacenamiento y la cocción (Padayatty et al., 2003).

Los valores obtenidos de vitamina C en el jugo de frutos de lima Persa fueron en promedio de 200 a 230 mg L<sup>-1</sup> de vitamina C en todos los portainjertos y las temperaturas de almacenamiento utilizadas y se mantuvieron similares a los valores iniciales después de 20 días de almacenamiento (Figura 15).

Estos resultados coinciden con los valores reportados por Coelho (1993), Donadio et al. (1995), Ziena (2000), Mendonca et al. (2006) y Espinoza (2010) en donde los valores de vitamina C en el jugo de frutos de lima Persa oscilan entre 200 a 400 mg de vitamina C L<sup>-1</sup> de jugo.

Por otra parte, no se observaron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) la cantidad de vitamina C por efecto del portainjerto durante todo el periodo de almacenamiento (Figura 15), excepto en el análisis inicial donde se observa que los frutos del portainjerto Volkameriana mostraron los menores valores de vitamina C en comparación con los otros portainjertos estudiados en ambas temperaturas de almacenamiento (Figura 15). Estos resultados son contradictorios a los reportados por Bassal (2009) donde el uso de portainjertos modificó el contenido de vitamina C en frutos de clementina cv Marisol.

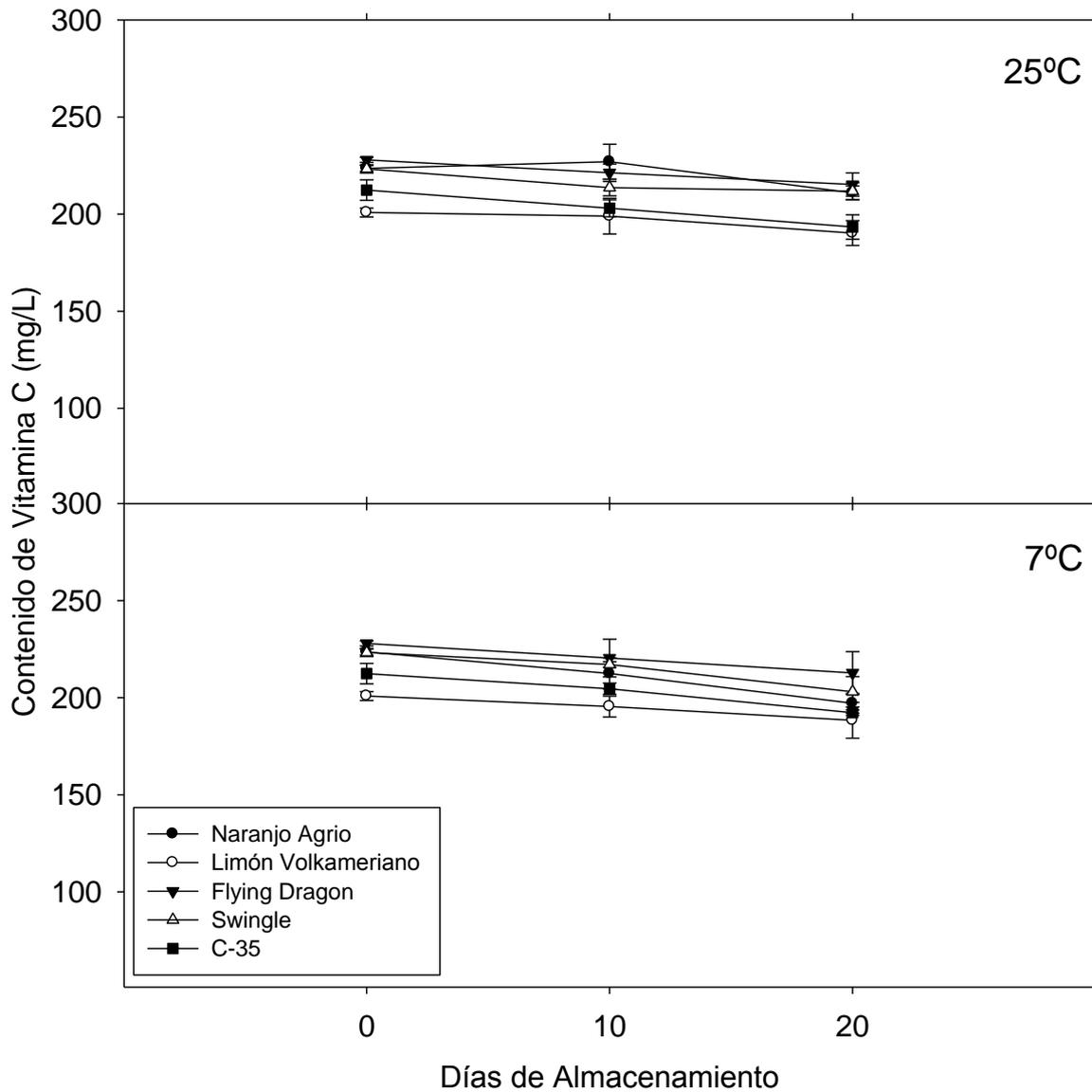


Figura 15. Contenido de vitamina C en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

### 6.11 Azúcares: fructosa, glucosa y sacarosa

El contenido de azúcares en el jugo de los cítricos es variable. Generalmente, estos azúcares se encuentran en el jugo de manera libre como monosacáridos (fructosa y glucosa) y disacáridos (sacarosa). La sacarosa (principal azúcar no reductor) en las plantas funciona como azúcar de transporte, mientras que la fructosa y glucosa de almacenamiento (Ladaniya, 2008).

En este experimento no se observaron diferencias significativas en el contenido de fructosa, glucosa y sacarosa por el uso del portainjerto en ambas temperaturas utilizadas ( $p > 0.05$ ) durante todo el periodo del almacenamiento (Figura 16, 17 y 18). Además, los niveles de fructosa, glucosa y sacarosa se mantuvieron similares a los observados en el análisis inicial en todos los portainjertos y temperaturas estudiadas durante todo el periodo del almacenamiento (Figura 16, 17 y 18). Esto podría explicarse por el comportamiento no climatérico de las limas ácidas, por lo que una vez alcanzada la madurez fisiológica los frutos no tienen grandes cambios en estos parámetros.

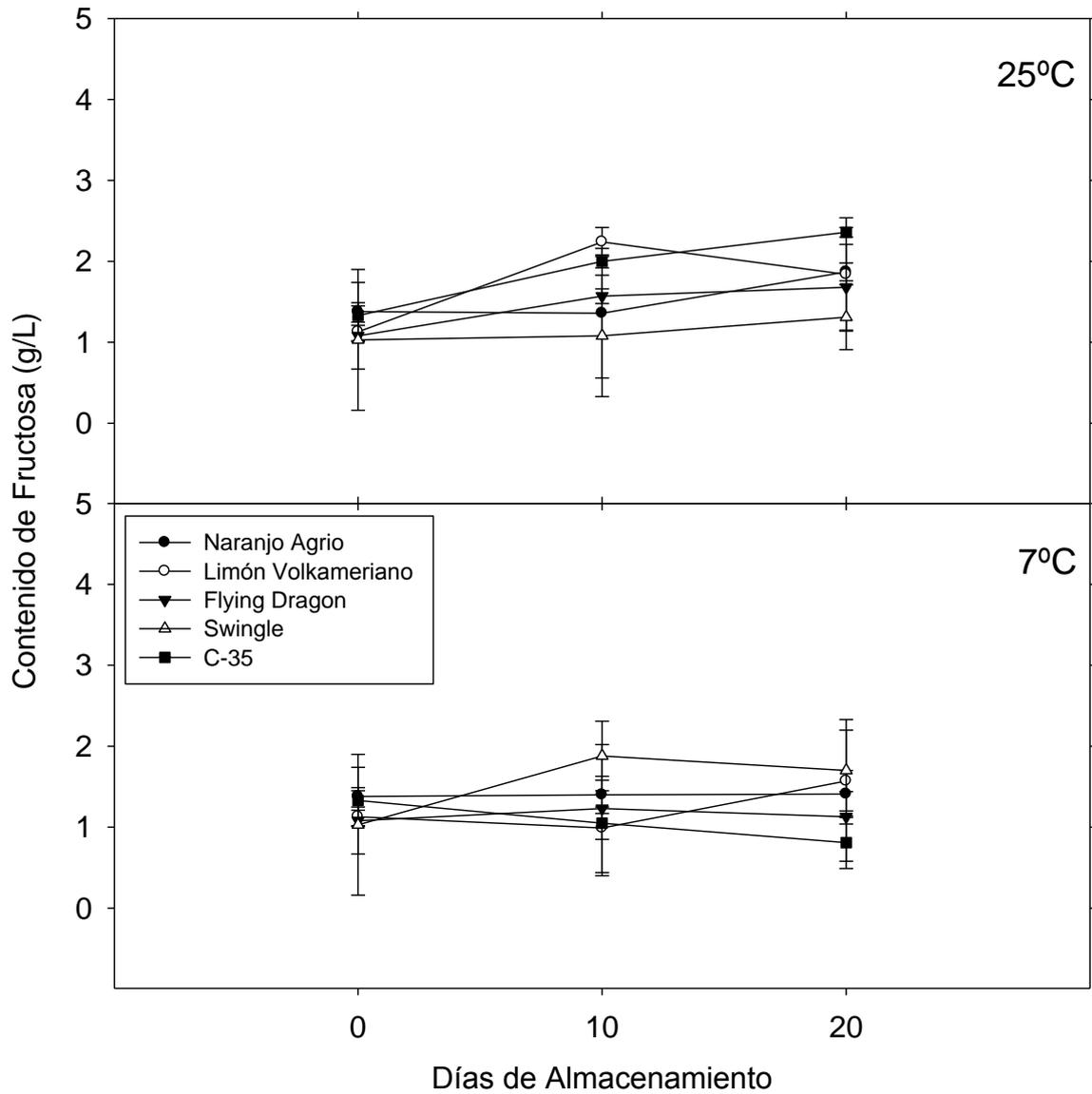


Figura 16. Contenido de fructosa en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

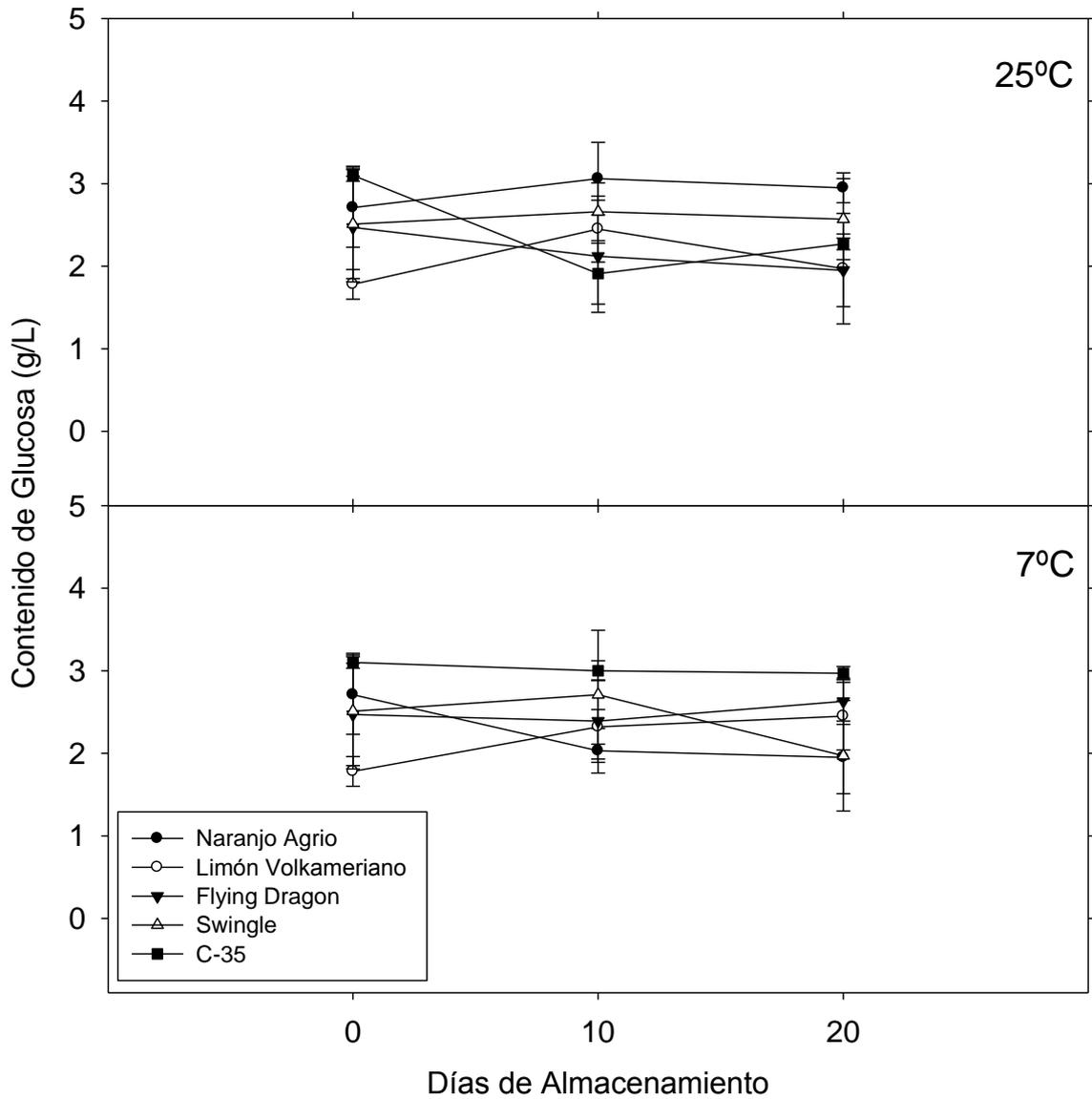


Figura 17. Contenido de glucosa en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

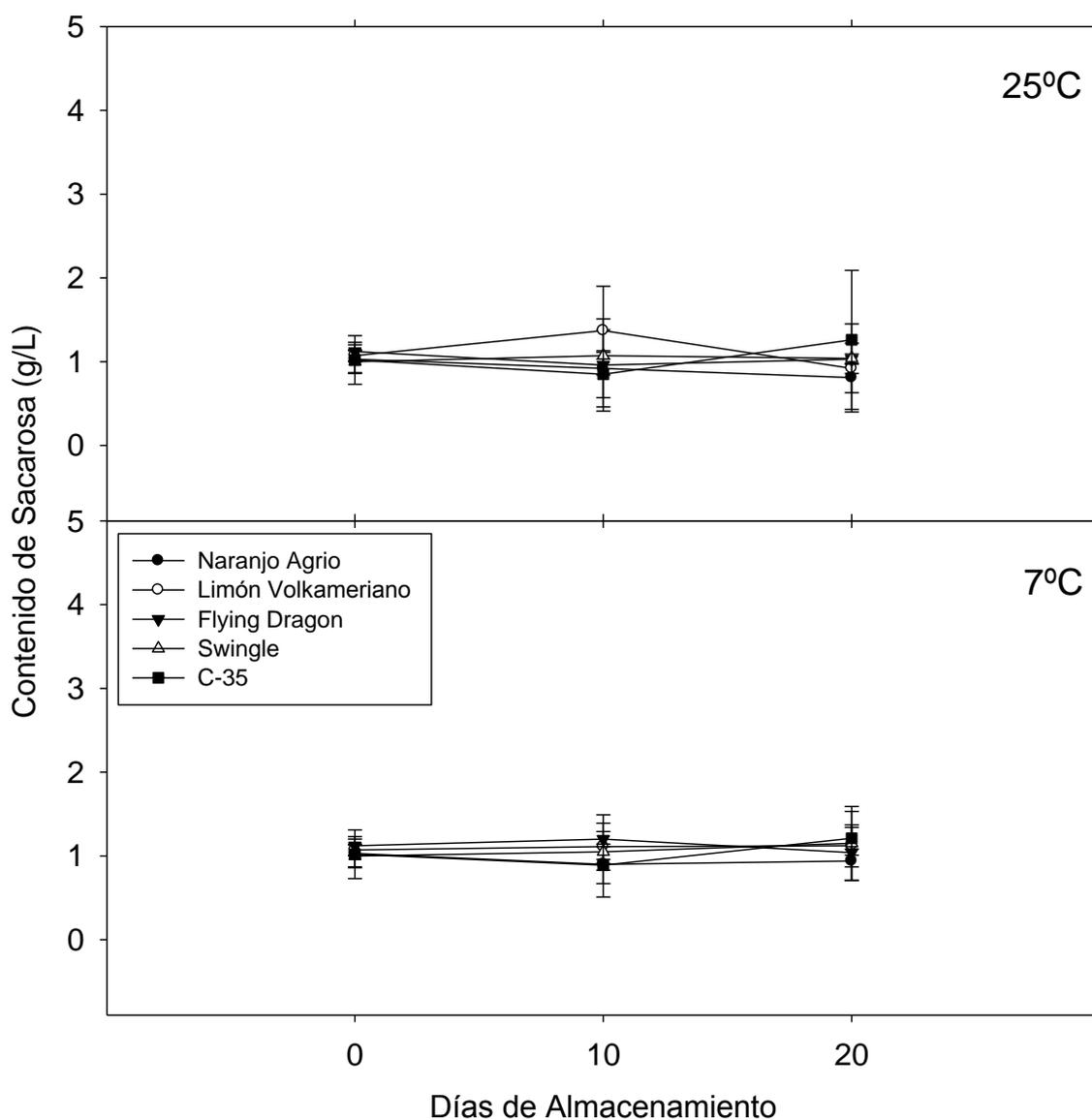


Figura 18. Contenido de sacarosa en el jugo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos y almacenados a 25 °C y 7 °C Cada valor es el promedio de tres repeticiones  $\pm$  desviación estándar.

### 6.12 Aceite esencial

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua y que contienen los compuestos responsables del aroma de las plantas. Los aceites esenciales pueden clasificarse con base a diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química (Cerutti y Neumayer, 2004).

No se observaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el rendimiento y composición química del aceite esencial por efecto de portainjerto utilizado (Tabla 6 y 7). De un total de 51 componentes químicos presentes en el aceite esencial, los componentes químicos con mayor abundancia fueron principalmente limoneno (45 %), seguido por  $\beta$ -pineno (12 %) y  $\gamma$ -terpineno (10 %) (Tabla 7). Estos resultados son similares a los reportados por Lota et al. (2002) y Bousbia et al. (2009) en la cuantificación y composición química del aceite esencial de frutos y hojas de limas ácidas.

**Tabla 6. Rendimiento de aceite esencial de frutos de lima Persa injertada sobre diferente portainjertos.**

Portainjerto	Aceite Esencial* (ml / 200gpf)
Naranja Agrio	0.633 ± 0.125 a
Limón Volkameriano	0.650 ± 0.086 a
Flying Dragon	0.730 ± 0.075 a
Swingle	0.710 ± 0.065 a
C – 35	0.606 ± 0.100 a

\* $\alpha = 0.05$ ; N=20; F=0.94; P=0.480542.

**Tabla 7. Composición química del aceite esencial de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

Componente	TR	Portainjerto (porcentaje individual de los componentes)				
		Naranja Agrio	Limón Volkameriano	Flying Dragon	Swingle	C-35
2-trujeno	8	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0	0.11 ± 0	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0
$\alpha$ -pineno	8.6	1.6 ± 0.14	1.72 ± 0.01	2 ± 0.05	1.83 ± 0.03	1.28 ± 0.35
$\beta$ -pineno	11.1	12.54 ± 0.33	12.14 ± 0.06	12.63 ± 0.04	12.38 ± 0.08	11.68 ± 0
$\beta$ -mirceno	12.1	1.48 ± 0	1.47 ± 0.01	1.54 ± 0.06	1.6 ± 0.01	1.52 ± 0.01
Limoneno	15.2	47.63 ± 0	46.89 ± 0.14	47.57 ± 0.04	46.81 ± 0.05	44.77 ± 0.05
$\beta$ -ocimeno	15.7	0.24 ± 0	0.24 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.23 ± 0	0.24 ± 0
$\gamma$ -terpineno	16.9	10.99 ± 0.01	10.97 ± 0.13	11.13 ± 0.03	10.94 ± 0.03	10.65 ± 0
Terpinoleno	18.6	0.79 ± 0	0.8 ± 0.01	0.8 ± 0	0.8 ± 0	0.77 ± 0.01

Linalol	19.6	0.93 ± 0.01	1.01 ± 0.01	1.1 ± 0.02	1.16 ± 0.01	1.3 ± 0.03
Citronelal	23.2	0.32 ± 0.01	0.27 ± 0.02	0.31 ± 0	0.32 ± 0	0.36 ± 0.01
Terpineol-4	24.8	0.68 ± 0.01	0.72 ± 0.01	0.63 ± 0.01	0.67 ± 0.01	0.77 ± 0.02
α-terpineol	26	1.16 ± 0.02	1.18 ± 0.05	1.08 ± 0.01	1.15 ± 0.01	1.32 ± 0.03
Dodecano	26.5	0.17 ± 0.01	0.2 ± 0	0.52 ± 0.05	0.82 ± 0.03	1.06 ± 0.01
Decanal	27	0.22 ± 0	0.24 ± 0	0.2 ± 0	0.22 ± 0	0.26 ± 0.01
cis-geraniol	29	2.51 ± 0.06	2.8 ± 0.10	2.32 ± 0.04	2.57 ± 0.04	3 ± 0.03
Neral	29.7	2.93 ± 0.06	3.09 ± 0	2.87 ± 0.08	2.95 ± 0.08	3.39 ± 0.10
Citral	31.8	3.99 ± 0.11	4.05 ± 0.05	3.8 ± 0	3.9 ± 0	4.5 ± 0.09
Timol	33.8	0.22 ± 0.02	0.04 ± 0	0.24 ± 0	0.19 ± 0	0.3 ± 0
δ-elemeno	35.7	0.26 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.24 ± 0	0.21 ± 0	0.28 ± 0
Nerol acetato	37.8	1.25 ± 0.03	1.3 ± 0.01	1.28 ± 0.02	1.31 ± 0.02	1.46 ± 0.03
Geraniol acetato	39	0.32 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.35 ± 0	0.38 ± 0.01
β-elemeno	39.2	0.36 ± 0.02	0.35 ± 0	0.33 ± 0	0.34 ± 0.01	0.38 ± 0.01
β-cariofileno	40.8	1.16 ± 0.03	1.16 ± 0.01	1.16 ± 0.01	1.16 ± 0	1.3 ± 0.02
γ-elemeno	41.8	0.29 ± 0.02	0.26 ± 0	0.26 ± 0	0.27 ± 0.01	0.28 ± 0.01
α-bergamoteno	42	1.34 ± 0.04	1.36 ± 0.01	1.27 ± 0.01	1.27 ± 0	1.45 ± 0.03
(Z)-β-farneseno	42.9	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.12 ± 0	0.12 ± 0	0.13 ± 0
cis-β-farneseno	43.4	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0	0.1 ± 0	0.1 ± 0	0.11 ± 0
Germacreno D	44.6	0.14 ± 0	0.15 ± 0	0.16 ± 0	0.15 ± 0	0.16 ± 0
γ-selineno	45.4	0.07 ± 0	0.07 ± 0	0.03 ± 0	0.07 ± 0	0.08 ± 0
cis-α-bisaboleno	46.1	0.2 ± 0.01	0.2 ± 0	0.18 ± 0	0.19 ± 0	0.22 ± 0.01
β-bisaboleno	46.6	2.23 ± 0.09	2.27 ± 0.03	2.1 ± 0.01	2.11 ± 0	2.41 ± 0.03
Elixeno	49	0.07 ± 0	0.7 ± 0	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0	0.1 ± 0
α-bisabolol	56.5	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0	0.16 ± 0	0.19 ± 0
Hexadecanal	63.4	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0	0.05 ± 0	0.05 ± 0
Timol	33.8	0.22 ± 0.02	0.04 ± 0	0.24 ± 0	0.19 ± 0	0.3 ± 0
δ-elemeno	35.7	0.26 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.24 ± 0	0.21 ± 0	0.28 ± 0
Nerol acetato	37.8	1.25 ± 0.03	1.3 ± 0.01	1.28 ± 0.02	1.31 ± 0.02	1.46 ± 0.03
Geraniol acetato	39	0.32 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.35 ± 0	0.38 ± 0.01

$\beta$ -elemeno	39.2	0.36 $\pm$ 0.02	0.35 $\pm$ 0	0.33 $\pm$ 0	0.34 $\pm$ 0.01	0.38 $\pm$ 0.01
$\beta$ -cariofileno	40.8	1.16 $\pm$ 0.03	1.16 $\pm$ 0.01	1.16 $\pm$ 0.01	1.16 $\pm$ 0	1.3 $\pm$ 0.02
$\gamma$ -elemeno	41.8	0.29 $\pm$ 0.02	0.26 $\pm$ 0	0.26 $\pm$ 0	0.27 $\pm$ 0.01	0.28 $\pm$ 0.01
$\alpha$ -bergamoteno	42	1.34 $\pm$ 0.04	1.36 $\pm$ 0.01	1.27 $\pm$ 0.01	1.27 $\pm$ 0	1.45 $\pm$ 0.03
(Z)- $\beta$ -farneseno	42.9	0.13 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0	0.12 $\pm$ 0	0.13 $\pm$ 0
cis- $\beta$ -farneseno	43.4	0.2 $\pm$ 0.01	0.2 $\pm$ 0	0.1 $\pm$ 0	0.1 $\pm$ 0	0.11 $\pm$ 0
Germacreno D	44.6	0.14 $\pm$ 0	0.15 $\pm$ 0	0.16 $\pm$ 0	0.15 $\pm$ 0	0.16 $\pm$ 0
$\gamma$ -selineno	45.4	0.07 $\pm$ 0	0.07 $\pm$ 0	0.03 $\pm$ 0	0.07 $\pm$ 0	0.08 $\pm$ 0
cis- $\alpha$ -bisaboleno	46.1	0.2 $\pm$ 0.01	0.2 $\pm$ 0	0.18 $\pm$ 0	0.19 $\pm$ 0	0.22 $\pm$ 0.01
$\beta$ -bisaboleno	46.6	2.23 $\pm$ 0.09	2.27 $\pm$ 0.03	2.1 $\pm$ 0.01	2.11 $\pm$ 0	2.41 $\pm$ 0.03
Elixeno	49	0.07 $\pm$ 0	0.7 $\pm$ 0	0.07 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0	0.1 $\pm$ 0
$\alpha$ -bisabolol	56.5	0.17 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0	0.16 $\pm$ 0	0.19 $\pm$ 0
Hexadecanal	63.4	0.05 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01	0.04 $\pm$ 0	0.05 $\pm$ 0	0.05 $\pm$ 0
<b>TOTAL</b>		<b>96.72</b>	<b>96.87</b>	<b>96.87</b>	<b>96.58</b>	<b>96.24</b>

\*TR= Tiempo de retención.

### 6.13 Características histológicas del flavedo

Los tejidos y estructuras observadas en este estudio fueron: presencia y/o ausencia de cutícula así como el grosor de la misma, grosor y número de capas presentes en la epidermis, grosor y número de capas celulares del flavedo, tamaño de las glándulas oleíferas así como el número de capas de células limítrofes, glándulas oleíferas por cm<sup>2</sup> y número de estomas en frutos de lima Persa de los diferentes portainjertos analizados.

#### 6.13.1 Cutícula

La cutícula es un elemento estructural y de importancia funcional que cubre la pared vegetal de las células epidérmicas más externas de las hojas y de los frutos. La cutícula está compuesta principalmente de cutina (éster de ácidos grasos hidroxilados de cadena larga), en la cual se entrecruzan ceras intracuticulares y es cubierta por las ceras epicuticulares (Petit et al., 2007). Además, contiene una serie de componentes no lipídicos tales como polisacáridos (celulosa y pectina), polipéptidos y compuestos fenólicos (López 2006). Una de las principales funciones de la cutícula es la de regular la

transpiración y mantener el balance de agua, así como el intercambio de gases en los frutos (Kolattukudy, 1996; Veraverbeke et al., 2003). Otra de las funciones de la cutícula que se han reportado en los frutos son la protección contra patógenos, daños mecánicos, protección contra radiación ultravioleta y agentes contaminantes (Holroyd et al., 2002).

Los resultados obtenidos se muestran en las microfotografías de cortes histológicos en frutos de lima Persa de todos los portainjertos analizados en donde se observa la presencia de cutícula (Figura 19). El rango del grosor de la cutícula observado fue de 3.0  $\mu\text{m}$  a 3.3  $\mu\text{m}$  (Tabla 8). Estos resultados coinciden con lo reportado por Scott et al. (1947) en frutos maduros de Naranja Navel (*Citrus sinensis*). En este sentido, López (2006) menciona que el rango del grosor de la cutícula puede variar entre 2.5  $\mu\text{m}$  y 20  $\mu\text{m}$  dependiendo de la especie del fruto. Además, la estructura y composición química de la cutícula cambian a través del desarrollo del fruto y varían ampliamente entre especies (Petit et al., 2007). Es importante mencionar que las funciones de la cutícula no dependen específicamente de su grosor, sino de los cambios de la estructura cuticular, de la variación de sus componentes y las proporciones en que éstos se encuentran (Petit et al., 2007).

No se observó un efecto del portainjerto en el grosor de la cutícula en los frutos de lima Persa.

**Tabla 8. Grosor de cutícula de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

<b>Portainjerto</b>	<b>Rango (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
Naranjo Agrio	3.1 - 3.2
Limón Volkameriano	3.1 - 3.3
Flying Dragon	3.2 - 3.3
Swingle	3.0 - 3.1
C – 35	3.1 - 3.2

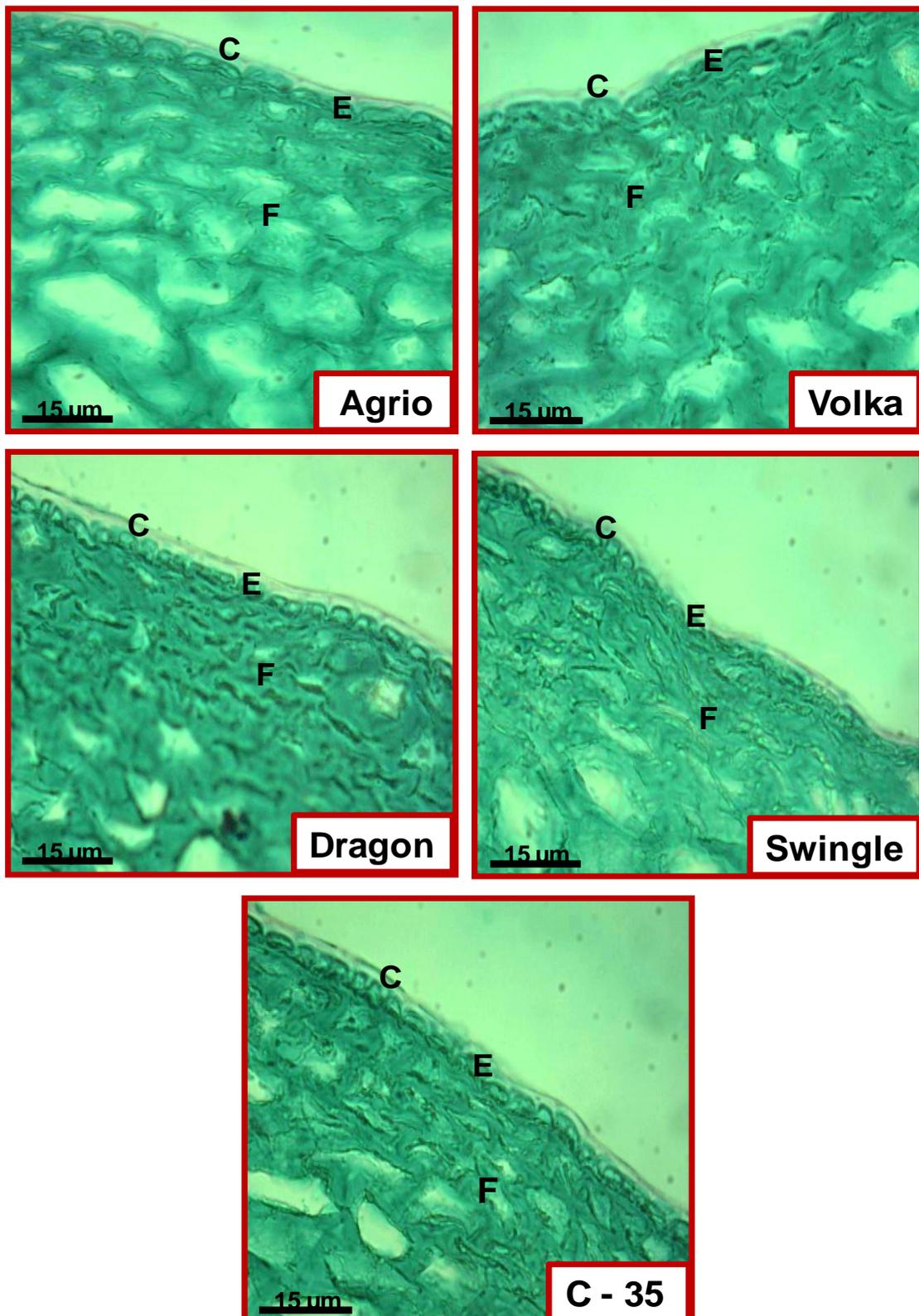


Figura 19. Cutícula. Cortes histológicos transversales (40X) teñidos con Safranina "O"-Verde rápido en la región del flavedo y albedo en frutos maduros de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos. C=cutícula, E=epidermis, F=flavedo. Barra=15 µm.

### 6.13.2 Epidermis

La epidermis es la capa de células más externa del cuerpo vegetal primario y constituye el sistema epidérmico de las hojas, de las partes florales, de los frutos, semillas, tallos y raíces. En la mayoría de las plantas la epidermis está formada por una sola capa de células (Raven et al., 1992) y por encima de ella se encuentra la cutícula, la cual es sintetizada por las células epidérmicas y del parénquima (López, 2006). Gran parte de las células epidérmicas se encuentran estrechamente unidas (Raven et al., 1992).

En este trabajo, la epidermis de los frutos de lima Persa de los diferentes portainjertos analizados se observó como un tejido monoestratificado (compuesto por una sola capa de células), en el cual las células epidérmicas presentaron forma rectangular e isodiamétrica (Figura 20). El rango del tamaño de las células epidérmicas presente en los frutos de lima Persa fue de 4.9  $\mu\text{m}$  a 5.8  $\mu\text{m}$  (Tabla 9).

No existió efecto del portainjerto en el tamaño de las células epidérmicas en los frutos de lima Persa.

**Tabla 9. Tamaño de células epidérmicas de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

Portainjerto	Rango ( $\mu\text{m}$ )
Naranja Agrio	5.5 - 5.8
Limón Volkameriano	4.9 - 5.1
Flying Dragon	5.2 - 5.6
Swingle	5.0 - 5.5
C – 35	5.4 - 5.6

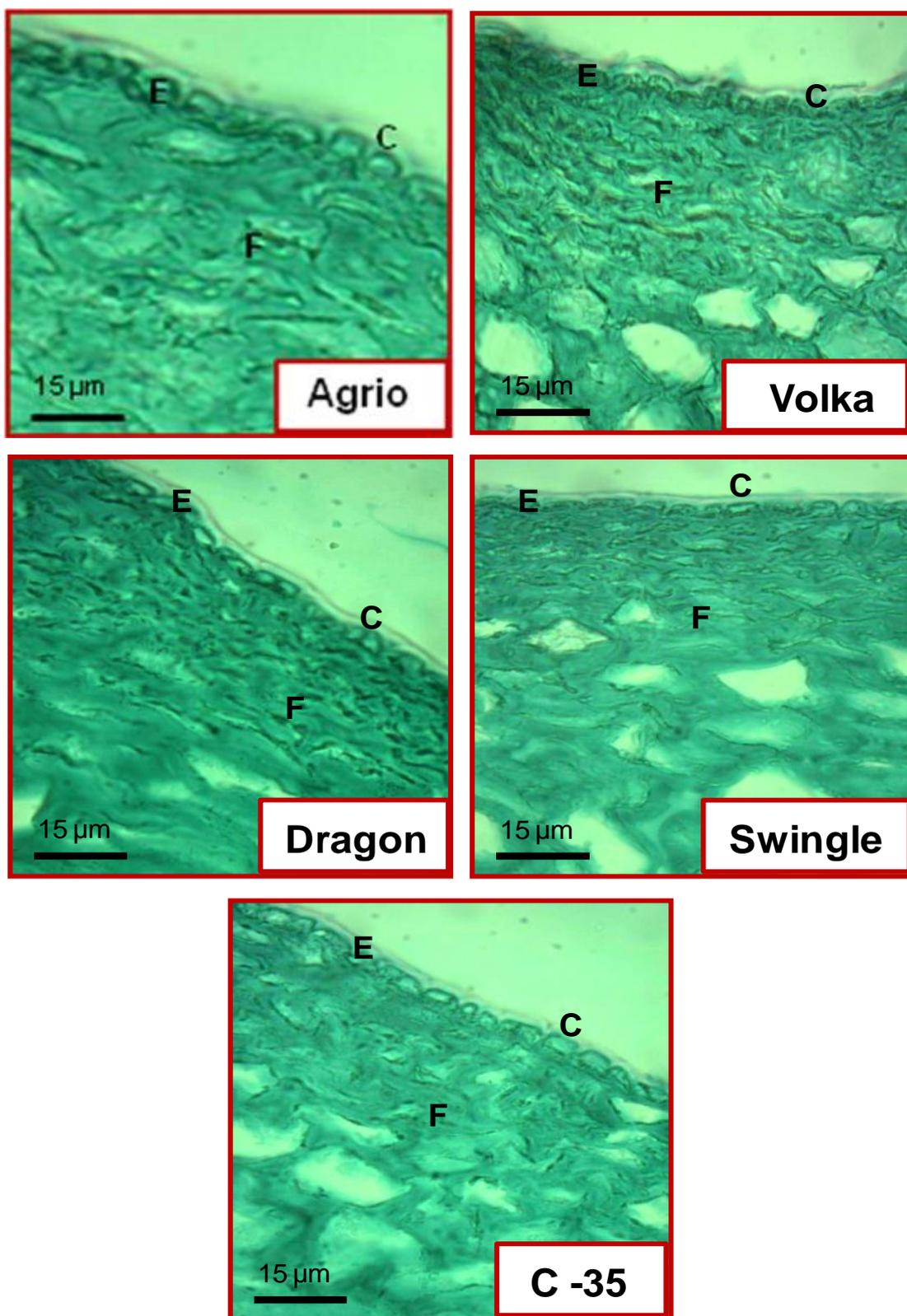


Figura 20. Epidermis. Cortes histológicos transversales (40X) teñidos con Safranina "O"-Verde rápido en la región del flavedo y albedo en frutos maduros de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos C=cutícula, E=epidermis, F=flavedo. Barra=15 µm.

### 6.13.3 Flavedo

El tejido pluriestratificado del flavedo en los frutos de lima Persa de cada uno de los portainjertos analizados mostró un rango de grosor de 55.5  $\mu\text{m}$  a 61.3  $\mu\text{m}$  y generalmente conformado de 5 a 8 capas celulares (Figura 21) (Tabla 10 y 11). El tamaño y forma de las células que componen el flavedo coincide con lo reportado por Ford (1942) en frutos de limón Eureka. El grosor del flavedo no se vió afectado por el uso del portainjerto en los frutos de lima Persa. Referente al número de capas celulares que componen el flavedo, los frutos de Swingle mostraron el menor número de capas celulares, mientras que Volkameriana el mayor número de capas celulares (Tabla 11) (Figura 21). Lo que podría sugerir que los frutos de Swingle son más susceptibles a presentar algún tipo de daño mecánico.

**Tabla 10. Grosor del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

Portainjerto	Rango ( $\mu\text{m}$ )
Naranja Agrio	59.3 - 60.1
Limón Volkameriano	58.8 - 61.3
Flying Dragon	55.5 - 56.8
Swingle	56.5 - 58.7
C – 35	58.4 - 59.2

**Tabla 11. Número de capas celulares del flavedo de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

Portainjerto	Rango
Naranja Agrio	6 - 7
Limón Volkameriano	7 - 8
Flying Dragon	6 - 7
Swingle	5 - 6
C – 35	5 - 7

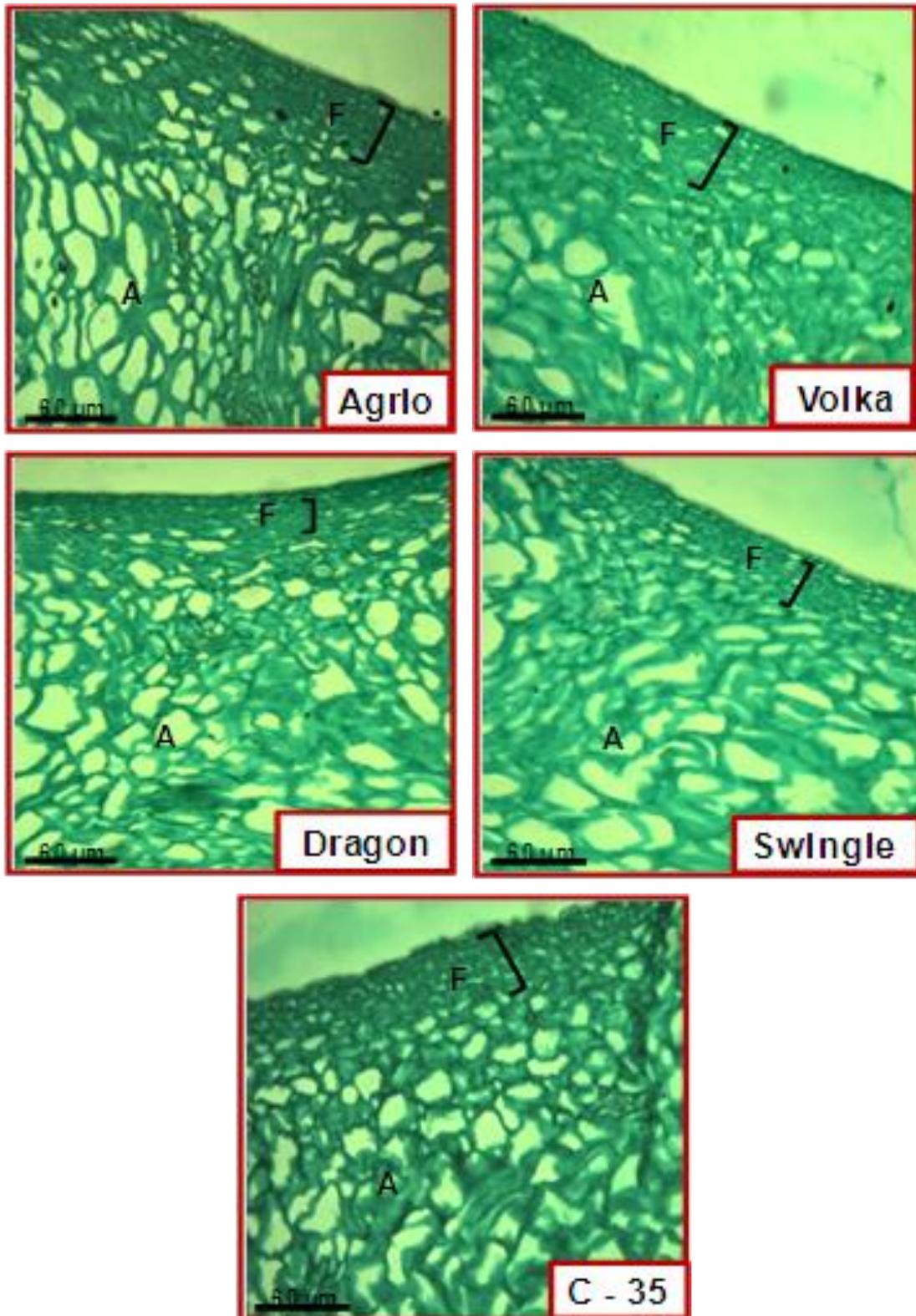


Figura 21. Flavedo. Cortes histológicos transversales (40X) teñidos con Safranina "O"-Verde rápido en la región del flavedo y albedo en frutos maduros de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos F=flavedo, A=albedo. Barra=60 µm.

#### 6.13.4 Glándulas oleíferas

Las glándulas oleíferas se encuentran en el flavedo de todos los frutos cítricos y presentan forma ovoide y/o esférica. Están constituidas por una cavidad o lumen de la glándula, células limítrofes planas, que rodean y le dan forma a la glándula oleífera, las cuales tienen como función sintetizar y secretar el aceite esencial hacia el lumen de la glándula. El tamaño de las glándulas oleíferas es variable y pueden estar localizadas a diferentes profundidades inmersas en el flavedo e incluso algunas de ellas pueden llegar a presentarse en el albedo. En la Figura 22, se muestra una microfotografía representativa de una glándula oleífera presente en un fruto maduro de naranja Navel.

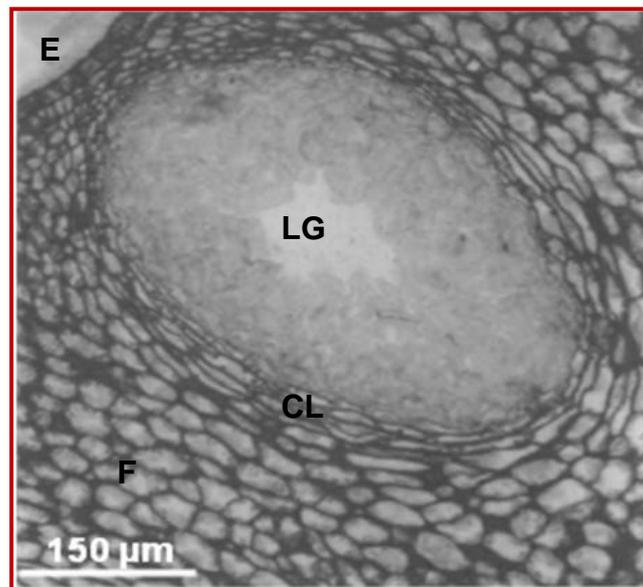


Figura 22. Corte histológico transversal teñido con PAS/TBO en la región de una glándula oleífera en un fruto maduro de Naranja 'Navel'. E=epidermis, LG=lumen de la glándula, CL=células limítrofes, F=flavedo. Barra=150 µm.

En este estudio se observó un rango de 45 a 120 glándulas oleíferas presentes por cm<sup>2</sup> (Tabla 12). Se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el número de glándulas oleíferas (cm<sup>2</sup>) por el uso del portainjerto. Los frutos de los portainjertos C-35 y Naranjo agrio presentaron el mayor número de glándulas oleíferas en comparación con Volkameriana, Swingle y Flying Dragon (Tabla 12). Los resultados anteriores podrían estar correlacionados con el área dañada por oleocelosis (cm<sup>2</sup>) (Figura 13), en donde se observa que los frutos

de Naranja agrio y C-35 presentaron mayor área dañada por oleocelosis, mientras que el daño por oleocelosis en los frutos de Swingle y Flying Dragon no fue significativa, lo cual quiere decir, que a mayor número de glándulas oleíferas, mayor es el daño por oleocelosis. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Scherrer et al. (2011) en donde establece que un mayor número de glándulas oleíferas presentes en frutos de tangerina Ponkan incrementa la incidencia de oleocelosis. La diferencia observada en el número de glándulas oleíferas presentes en el flavedo de los frutos de lima Persa, puede sugerir alguna diferencia fisiológica entre los portainjertos estudiados. Sin embargo, se necesitan estudios bioquímicos complementarios para confirmar los resultados histológicos obtenidos.

No se observó un efecto del portainjerto en el tamaño de las glándulas oleíferas (Tabla 13) (Figura 23). El rango del número de capas de células limítrofes fue de 4 a 13 capas de células (Tabla 14) (Figura 23). Se observó un efecto del portainjerto en el número de capas de células limítrofes. Los frutos del portainjerto Swingle presentaron un mayor número de capas de células limítrofes en comparación con el resto de los portainjertos (Tabla 14) (Figura 23).

**Tabla 12. Número de glándulas oleíferas por cm<sup>2</sup> de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

Portainjerto	Rango	Promedio ± DE*
Naranja Agrio	89 - 120	104.8 ± 9.88 a
Limón Volkameriano	65 - 95	82.20 ± 9.05 b
Flying Dragon	45 - 65	54.60 ± 6.28 c
Swingle	56 - 76	66.93 ± 7.97 c
C - 35	85 - 115	100.0 ± 8.51 a

\* $\alpha$ = 0.05; N=3; F=96.20; P=0.000000.

\* Las letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas (p<0.05).

**Tabla 13. Tamaño de las glándulas oleíferas de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

<b>Portainjerto</b>	<b>Largo x Ancho (µm)</b>
Naranja Agrio	509 x 563
Limón Volkameriano	509 x 518
Flying Dragon	454 x 499
Swingle	536 x 536
C – 35	499 x 490

**Tabla 14. Número de capas de células limítrofes de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

<b>Portainjerto</b>	<b>Rango</b>
Naranja Agrio	6 - 8
Limón Volkameriano	6 - 8
Flying Dragon	5 - 7
Swingle	10 - 13
C – 35	4 - 6

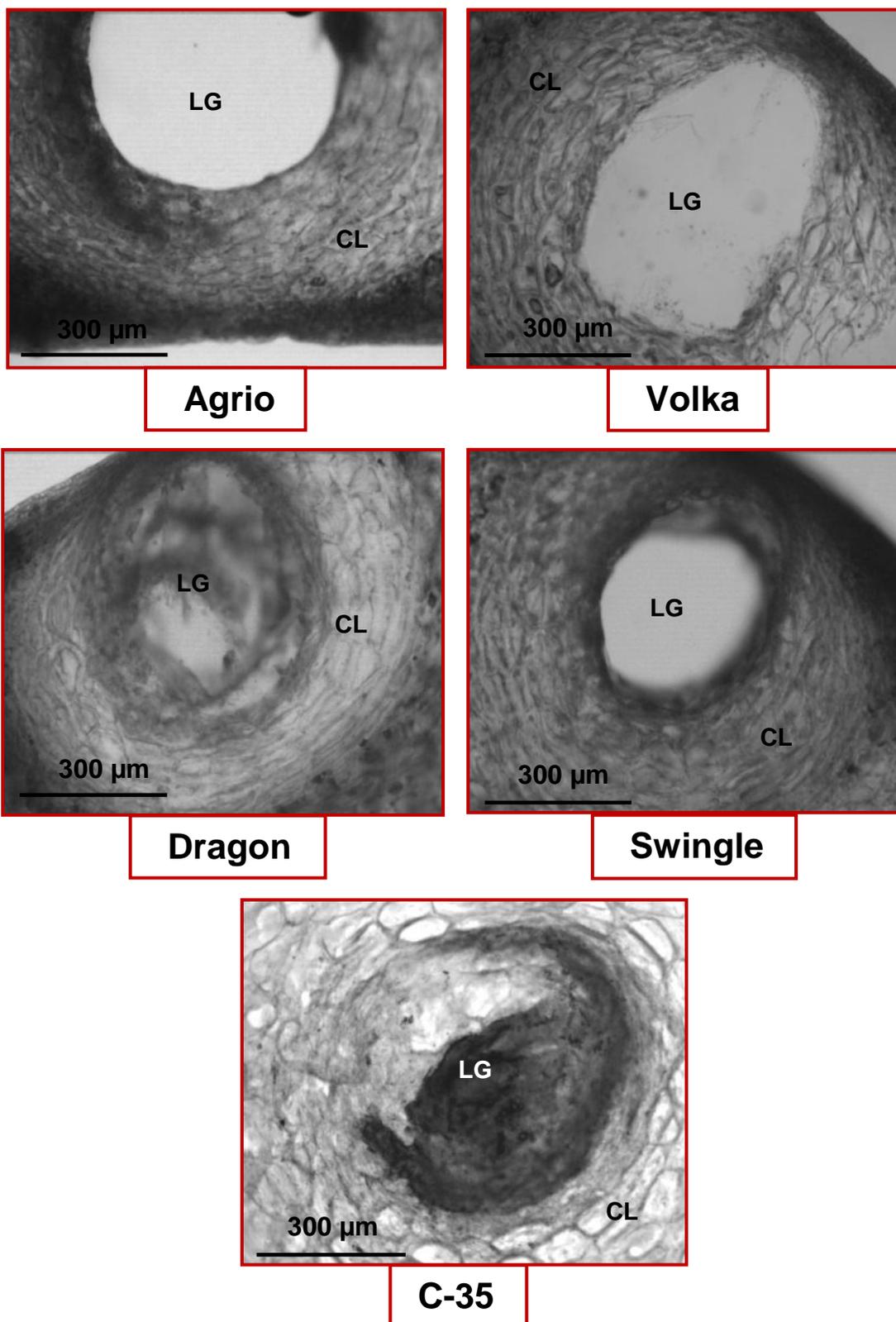


Figura 23. Glándulas oleíferas. Cortes histológicos transversales (10X) teñidos con Safranina "O"-Verde rápido en la región de una glándula oleífera en frutos maduros de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos. LG=lumen de glándula oleífera, CL=células limítrofes.

### 6.13.5 Estomas

En este estudio, se observó un rango de 32 a 93 estomas presentes en la epidermis de los frutos (Tabla 15). No se observó un efecto del portainjerto en el número de estomas en frutos de lima Persa (Tabla 15). Sin embargo, Lallan et al. (1999) reportó que el uso de portainjertos en limas ácidas afecta el número de estomas.

**Tabla 15. Número de estomas de frutos de lima Persa injertada sobre diferentes portainjertos.**

<b>Portainjerto</b>	<b>Rango</b>
Naranja Agrio	48 - 88
Limón Volkameriano	32 - 84
Flying Dragon	32 - 93
Swingle	39 - 92
C – 35	33 – 90

## 7. CONCLUSIONES

No existió efecto del portainjerto en el contenido de jugo, pH, AT, vitamina C, azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa) y ácidos orgánicos (oxálico, málico y ascórbico) en frutos de lima Persa.

Los frutos de Flying Dragon presentaron un color verde más oscuro e intenso, los mayores valores de SST, menor porcentaje de PP y grosor del flavedo y albedo, lo cual está relacionado con una mayor calidad del fruto. Además, son menos susceptibles a desarrollar oleocelosis en comparación con los frutos del portainjerto Naranja agrio.

Para obtener mejor rendimiento de extracción de pectina se recomienda el uso de frutos de plantas injertadas en los portainjertos Naranja Agrio y Limón Volkameriano, así como las condiciones de extracción de pectina en base

seca. Por otra parte, dependiendo del uso de la pectina, cualquiera de los cinco portainjertos analizados en este estudio es recomendable, ya que no se observaron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en los parámetros de calidad de la pectina.

La susceptibilidad a desarrollar daño por oleocelosis no está relacionado con la cantidad y composición química del aceite esencial de lima Persa por efecto del portainjerto. Sin embargo, el mayor número de glándulas oleíferas observado en los frutos de Naranja agria y C-35 podría estar relacionado con una mayor susceptibilidad a desarrollar oleocelosis.

La oleocelosis inducida es directamente proporcional con la magnitud del daño mecánico.

No se observaron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en el tamaño de las glándulas oleíferas.

El número de capas de células limítrofes no está relacionado con la susceptibilidad a desarrollar daño por oleocelosis, así como el número de estomas no está relacionado con la PP.

## 8. REFERENCIAS

- Agusti M, Almela V, Juan M, Alferez F, Tadeo FR, Zacarias L.** (2001) Histological and physiological characterization of rind breakdown of 'Navelate' sweet orange. *Ann. Bot.* **88**, 415–422.
- Agustí M** (2003) Anatomía de los cítricos. En: Citricultura. 2da Edición, Ediciones Mundi.Prensa, España. pp. 78.84.
- Ali GM** (2002) Effects of four citrus rootstocks on fruit quality and storability of Fremont tangerine, Tanta Univ. *J. Agric. Res.* **28**, 312-326.
- Al-Jaleel A, Zekri Mongi.** (2002). Yield and fruit quality of 'Olinda Valencia' trees grown on nine rootstocks in Saudi Arabia. *Proc. Fla. State Hort. Soc* **115**, 17-22.
- Al-Jaleel A, Zekri M, Hammam Y** (2005) Yield, fruit quality, and tree health of 'Allen Eureka' lemon on seven rootstocks in Saudi Arabia. *Scientia Horticulturae.* **105**, 457-465.
- Alquezar B, Mesejob C, Alfereza F, Agustí M, Zacariasa L.** (2010) Morphological and ultrastructural changes in peel of 'Navelate' oranges in relation to variations in relative humidity during postharvest storage and development of peel pitting. *Postharv. Biol. Technol.* **56**, 163–170.
- Álvarez R, Saucedo C, Chávez S, Medina V, Colinas T, Báez R** (2008) Reguladores de crecimiento en la maduración y senescencia de frutos de limón mexicano. *Agric. Téc. Méx.* 34, n.1.
- Arbeu R, Villegas A, Ruíz LM, Sahagún J, Colinas MT** (2009) interacción lima persa-portainjertos efecto en características estomáticas de hoja y vigor de árboles. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, vol. 16, núm. 2, mayo-agosto, pp. 91-97 Universidad Autónoma Chapingo. México.

- Artés Hernández F, Rivera Cabrera F, Kader AA** (2007) Quality retention and potential shelf-life of fresh-cut lemons as affected by cut type and temperature. *Postharv. Biol. Technol.* **43**, 245-254.
- AOAC.** (1990) Official Methods of Analysis. Decimoquinta ed. pp 344. Association of Official Analytical Chemists. Washington D. C. E. U. Técnica: 19.128.
- Babazadeh Darjazi B** (2009). The effects of rootstock on the volatile flavour components of Page mandarin juice and peel. Ph.D of science Thesis. Islamic Azad University. Science and Research Branch.
- Bacchi O** (1940). Observacoes citológicas em *Citrus*. I. Número de cromossômios de algumas espécies e variedades. *Journal de Agronomia piracicaba* **3**, 249-258.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M** (2008) Biological effects of essential oils; A review. *Food Chem. Toxicol.* **46**, 446-475.
- Bassal M.A.** (2009). Growth, yield and fruit quality of 'Marisol' clementine grown on four rootstocks in Egypt. *Sci. Hort.* **119**, 132–137.
- Beakbane AB y Thompson EC** (1939) Anatomical studies of steams and roots of hardy fruit trees. II. The internal structure of the roots of some vigorous and some dwarfing apple rootstocks and the correlation of structure with vigor. *Journal Horticultural Science.* **17**, 141-149.
- Bennici A, Tani C** (2004) Anatomical and ultrastructural study of the secretory cavity development of *Citrus sinensis* and *Citrus limon*: evaluation of schizolysigenous ontogeny. *Flora* **199**, 464-475.
- Bosabalidis A, Tsekos I.** (1982a) Ultrastructural studies on the secretory cavities of *Citrus deliciosa* Ten. II. Development of the essential oil-accumulating central space of the gland and process of active secretion. *Protoplasma* **112**, 63-70.

- Bosabalidis A, Tsekos I.** (1982b) Ultrastructural studies on the secretory cavities of *Citrus deliciosa* Ten. II. Development of the essential oil-accumulating central space of the gland and process of active secretion. *Protoplasma* **112**, 63-70.
- Bousbia N, Abert M, Ferhat M, Meklati B, Chemat F** (2009) A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*. **90**, 409–41.
- Buchanan V** (1997) The molecular biology of leaf senescence. *Journal Experimental Botany*. **48**, 181–199.
- Cahoon, G. A., B. L. Grover, and I. L. Eaks.** (1964) Cause and control of oleocellosis on lemons. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* **84**, 188-198.
- Camara MM, Diez C, Torija ME, Cano MP** (1994) HPLC determination of organic acids in pineapple juices and nectars. *Eur. Food Res. Technol.* **198**, 52-56.
- Camejo G, Ferrer A, Pefia J, Cedeño M** (2006) Extracción y caracterización de pectina en limones injertados de la región Zuliana. *Rev. Fac. Agron.* **13**, 641-645.
- Cantuarias T, Mourao F, Sanches E, Rodrigues S, Espinoza E.** (2010). Tree performance and fruit yield and quality of 'Okitsu' Satsuma mandarin grafted on 12 rootstocks. *Sci. Hort.* **123**, 318–322.
- Castle WS** (1995) Rootstock as a fruit quality factor in citrus and deciduous tree crops. New Zealand. *J. Crop Hort. Sci.* **23**, 383-394.

- Castle WS, Bowman K, Baldwin J, Grosser J, Gmitter F** (2011) Rootstocks Affect Tree Growth, Yield, and Juice Quality of 'Marsh' Grapefruit. *HostScience*. **46**, 841-848.
- Cerutti M y Neumayer F** (2004) Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. **7**, 149-155.
- Chamblee TS, Clark BC, Jr. Radford T, Jacobucci GA** (1985) Identification of new constituents in cold-pressed lime oil. *J. Chromatogr.* **330**, 141-151.
- Chikaizumi S** (2000). Mechanisms of rind-oil spot development in 'Encore' (*Citrus nobilis* Lour. X *C. deliciosa* Ten.) fruit. *Jpn. Soc. Hortic. Sci.* **69**, 149-55.
- Claridades Agropecuarias** (2002) La competitividad de la cadena productiva del limón Mexicano. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentos (SAGARPA), Mexico, DF, pp 3-33.
- Coelho IS** (1993) Lima ácida 'Tahiti' para exportação: aspectos técnicos da produção. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais. Brasília: EMBRAPA-SPI, 35P. (Série publicações técnicas FRUPEX; 1).
- Commenil P, Brunet L, Audran J** (1997) The development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease. *J. Exp. Bot.* **48**, 1599-1607.
- Cooper WC, Chapot H** (1977) Fruit production with special emphasis on fruit forprocessing. In: Nagy S, Shaw PE, Veldhuis MK (eds), *Citrus Science*

*and Technology* (1<sup>st</sup> Edn, vol 2), AVI Publishing Company., Westport, CT, USA, pp 1-127.

**Cunha SC, Fernandes JO** (2002) HPLC/UV determination of organic acids in fruit juices and nectars. *Eur Food Res Technol.* **214**, 67–71.

**Curti SA, Loredo X, Díaz U, Sandoval JA, Hernández HJ.** (2000) “Tecnología para producir Limón Pérsico“. INIFAP - CIRGOC. Campo Experimental Ixtacuaco. Libro técnico No. 8. Veracruz, México.

**Darjazi BB** (2011) The effects of rootstock on the volatile flavour components of page mandarin [(*Citrus reticulata* var dancy × *Citrus paradisi* var dancan) × *Citrus clemantina*] flower and leaf. *African Journal of Agricultural Research.* **6**, 1884-1896.

**Devia JE** (2003) Proceso para producir pectinas cítricas. Revista Univesidad EAFIT. ISSN: 0120-341X. pp. 21-30.

**Domingo M, López R, López S** (2010) Aprovechamiento de desperdicios del beneficio del limón. Instituto tecnológico de Oaxaca. Sociedad Oaxaqueña de Ingeniería Sanitaria y Ambiental.

**Donadio LC, Figueiredo JO, Pio RM** (1995) Variedades cítricas brasileiras. Jaboticabal: FUNEP, pp. 228.

**Di Giacomo A, Di Giacomo, D** (2002) Essential oil production. In: Dugo G, Di Giacomo A (Eds) *Citrus: The Genus Citrus* (1<sup>st</sup> Edn), CRC press Taylor and Francis group, Boca Raton, FL, USA, pp 114-147.

**Dussel PE** (2002) *Territorio y competitividad en la agroindustria en México: Condiciones y propuestas de política para los clusters del limón Mexicano en Colima y la piña en Veracruz* (1<sup>st</sup> Edn), Plaza y Valdez-CEPAL-INIFAP-Universidad de Colima-Ayuntamiento de Isla, pp. 270.

- Eaks IL** (1968) Rind disorders of oranges and lemons in California. In: 1<sup>st</sup> *International Citrus Symposium*. 16-26 March, 1968 UC Riverside CA, USA, pp. 1343-1354.
- Eckert JW, Eask IL** (1989) Postharvest disorders and diseases of citrus fruit. In: Reuther W. E, Calavan E.C, Carman GE (Eds.) *The Citrus Industry* (Vol. V), University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, CA, USA. pp 174-260
- Espinoza E** (2010) Porta-enxertos para limeira àcida `Tahiti` cultivada com e sem irrigacao. Tesis de Doctorado. Universidad de Sao Paulo. Área de concentración: fitotecnia. Piracicaba.
- Fahn A** (1979) *Secretory tissues in plants*. London, New York: Academic Press.
- FAOSTAT** (2009) The FAO Statistical Database on-line. Available online: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>.
- Fassio C, Heath R, Lu Arpitia M, Castro M** (2009) Sap flow in 'Hass' avocado trees on two clonal rootstocks in relation to xylem anatomy. *Scientia Horticulturae*. **120**, 8-13.
- Fawcett HS** (1916) A spotting of citrus fruit due to the action of oil liberated from the rind. *California Agric. Exper. Station. Bull.* **266**, 259-270.
- FCC** (1996). *Food Chemical Codex*. (National Academy of Sciences, Washington, DC). INS:440. CAS: [9000-69-5].
- Figueiredo JO, Stuchi ES, Donadio LC, Sobrinho JT, Laranjeira FF, Pio RM, Sempionato OR** (2002). Porta-enxertos para a lima ácida 'Tahiti' na região de Bebedouro, SP. *Revista Brasileira de Fruticultura* **24**, 155-159.

- Fischer IH, Toffano L, Lourenco SA, Amorim L** (2007) Caracterizacao dos danos pos-colheita em citros procedentes de "packinghouse". *Fitopatol Bras.* **32**, 304-310.
- Ford ES** (1942) Anatomy and histology of the Eureka lemon. *Bot. Gaz.* **104**, 288-305.
- García F, Pérez JG, Botia P, Martínez V** (2006) The response of young mandarin trees grown under saline conditions depends on the rootstock. *Eur. J. Agronomy.* **24**, 129-139.
- Georgiou A** (2009) Evaluation of rootstocks for the Cyprus local lemon variety 'Lapithkiotiki'. *Scientia Horticulturae.* **123**, 184-187.
- Gómez R, Nieto D, Téliz D, Mora A, Martínez T, Vargas M** (2009) Evaluación de la calidad e incidencia de hongos en frutos refrigerados de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn. *Agrociencia.* **43**, 1-3.
- Goncalves B, Correia CM, Bacelar EA, Santos A, Ferreira H, Montinho-Pereira M** (2007) Variation in xylem structure and function in roots and stems of scion-rootstock combinations of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.). *Trees.* **21**, 121-130.
- Gorny J, Kader A** (2005). Fresh cut fruit products. En Cantwell M. (ed.) Fresh cut products. Maintaining quality and safety. Postharvest Horticulture Ser. No. 10. Postharvest outreach program, University of California, Davis. Sección 11c, pp 1-10.
- Gray P** (1964). Handbook of Basic Microtechnique. 3a. ed. McGraw-Hill Book Company. New York. pp 302.
- Grierson W** (1981) Physiological disorders of citrus fruits. In: *4<sup>th</sup> International Citrus Congress, International Society of Citriculture*, 9-13 November, 1981, Tokyo, Japan **2**, 764-767.

- Happi Emaga, T., Ronkart, S. N., Robert, C., Wathelet, B., Paquot, M.** (2008). Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. *Food Chemistry*, **108**, 463–471.
- Hasib A, Jaouad A, Mahrouz M, Khouili M** (2002). HPLC determination of organic acids in Moroccan apricot. *Cienc. Tecnol. Aliment.* **3**, 207-211.
- Hendrickson R, Kesterson JW, Cohen M** (1970). The effect of rootstock and budwood selections on the peel oil content of Valencia orange. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, **83**, 259-262.
- Hendrix CM, Redd JB** (1995). Chemistry and technology of citrus juices and by-products. En: Production and packaging of non-carbonated fruit juices and fruit beverages. Blackie Academic and professional editorial (2a edición). London. pp 53-87.
- Hintze J** (2001). Number Cruncher Statistical Systems. Kaysville, Utah.
- Hodgson, R.** (1967) Horticultural varieties of citrus. In: Reuther W, Batchelor LD, Webber HJ (Eds) *The citrus industry*. (1st Edn, Vol I) Division of agricultural Sciences, University of California, California, USA, pp 496-533.
- Holroyd G, Hetherington J, Gray J** (2002) A role for the cuticular waxes in the environmental control of stomatal development. *New Phytol.* **153**, 433-439.
- Hours R, Ferreyra M, Gerard L, Zapata L, Davies C** (2005) Caracterización fisicoquímica y microbiológica de jugos de naranja destinados a vinificación. *Ciencia, Docencia y Tecnología.* **31**, 219-239.
- Iglesias, M. T., Lozano, J. E.** (2004). Extraction and characterization of sunflower pectin. *Journal of Food Engineering*, **62**, 215–223.

- Jenks M, Eigenbrode S, Lemieux B (2002)** Cuticular waxes of *Arabidopsis*. *J. Cell Biol.* **17**, 208-212.
- Jiménez VR, García BG, Santos MM (1981)** Influencia de cinco patrones sobre la calidad de la lima Persa SRA-58 (*Citrus latifolia*) en el sur de la Habana. *Agrotecnia de Cuba* **13**, 21-29.
- Jimenez A, Creissen G, Kular B, Firmin J, Robinson S, Verhoeyen M and Mullineaux P (2002)** Changes in oxidative processes and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. *Planta* **214**, 751-758.
- Kader AA (2008)** La calidad del sabor de frutas y hortalizas. *J. Sci. Food Agric.* **88**, 1863-1868.
- Kalapathy, U., Proctor, A. (2001).** Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. *Food Chemistry.* **73**, 393–396.
- Kanlayanarat S, Oogaki C, and Gemma H (1988)** Occurrence of Rind-Oil Spot of Hassaku (*Citrus hassaku* Hort. ex TANAKA) Fruits Stored under Different Temperatures and Relative Humidities. *Jpn. Soc. Hortic. Sci.* **57**, 513-520.
- Karadeniz F (2004).** Main organic acid distribution of authentic citrus juices in Turkey. *Turk. J. Agric. For.* **28**, 267-271.
- Kelebek H, S Selli, Canbas A, Cabaroglu T (2009)** HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal.* **91**, 187-192.
- Ketsa S (1990).** Weight loss of tangerines as affected by peel thickness. *Trop. Sci.* **30**, 73-76.

- Knight TG, Klieber A, Sedgley M** (2001). The relationship between oil gland and fruit development in Washington Navel Orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Ann Bot.* **88**, 1039–1047.
- Knight TG, Klieber A, Sedgley M** (2002) Structural basis of the rind disorder Oleocellosis in Washington navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Ann Bot.* **90**, 765-773.
- Kolattukudy P** (1996) Biosintetic pathways of cutin and waxes, and their sensivity to environmental stresses. In: Plant Cuticles. G. Kerstiens (ed). Oxford: BIOS Scientific Publishers. pp. 83-108.
- Koubala, BB., Kansci, G., Mbome, LI., Crepeau, MJ., Thibault, JF., Ralet, MC.** (2008). Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from “Améliorée” and “Mango” mango peels. *Food Hydrocolloids*, **22**, 1345–1351.
- Ladaniya S** (2008) Citrus fruits, Biology, Technology and Evaluation. Elsevier-Academic Press. USA. pp. 558.
- Ladaniya S, Mahalle B** (2011) Fruit maturation and associated changes in ‘Mosambi’ orange (*Citrus sinensis*). *Indian Journal of Agricultural Sciences* **81**, 494–9.
- Lallan R, Singh S, Marathe RA** (1999) Preformance of pre-bearing acid lime on various rootstocks strains. *India Agric. Sci.* **69**,193-197.
- Laskowski L, García-Luis A. y Torres J.** (2006) Desarrollo del fruto de *Citrus sinensis* var. Salustiana. *Bioagro* **18**, 15-23.
- Legua P, Bellver R, Forner JB, Forner MA** (2011) Trifoliata hybrids rootstocks for ‘Lane Late’ navel orange in Spain. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, **68**, 548-553.

- Lin J, Cook N, Albert C, Zaharris E, Gaziano JM, Denburgh M, Buring J, Manson J** (2009) Vitamins C and E and Beta Carotene Supplementation and Cancer Risk: A Randomized Controlled Trial. *J Natl Cancer Inst* **101**, 14-23.
- Liu Y, Ahmad H, Luo Y, Gardiner DJ, Gunasekera RS, McKeehan WL, Patil BS** (2001) Citrus pectin: characterization and inhibitory effect on fibroblast growth factor – receptor interaction. *J Agric Food Chem.* **49**, 3051-3057.
- Lombard B** (1963). Maturity study of mandarins, tangelos, and tangors. *Calif. Citrogr.* **48**, 171-176.
- López Casado GM** (2006) Tesis Doctoral. Biomecánica de la epidermis y la cutícula del fruto de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y su relación con el agrietado. Universidad de Málaga. Facultad de Ciencias. Julio de 2006. pp. 31.
- Lota ML, de Rocca Serra D, Tomi F, Jacquemond C, Casanova J** (2002) Volatile components of peel and leaf oils of lemon and lime species. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 796-805.
- Loussert R** (1992) *Los agrios* (1<sup>st</sup> Edn) Mundi-prensa, Madrid, España, pp. 319.
- Marín RF, Soler C, Benavente O, Castillo J, Pérez JA** (2007) By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chem.* **100**, 736-741.
- Marsh KB, Richardson AC, Erner Y** (2003) Effect of environmental conditions and horticultural practices on citric acid content. In: Proceedings of the International Society of Citriculture, 9th Congress 2000: Orlando, FL, 2003, pp. 640-643.

- Mazariegos MJA** (2008). Tesis. Identificación y cuantificación de los componentes principales del aceite esencial del flavedo (cáscara) de *Citrus reshni* (Mandarina Cleopatra), *Citrus reticulata* (Mandarina común) y *Citrus reticulata* Blanco o *Citrus tangerina* (Mandarina Dancy) por medio de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Mazzuz CF** (1996) Calidad de frutos de cítricos: manual para su gestión desde la recolección hasta la expedición. Ediciones de Horticultura, Barcelona, España. pp.317.
- McCornack AA** (1970) Peel injury on Florida navel oranges. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* **83**, 267-270.
- McCready RM** (1977) Carbohydrates: composition, distribution, significance. In: Nagy S, Shaw PE, Veldhuis MK (eds), *Citrus Science and Technology* (1st Edn, vol 1), AVI Publishing Company., Westport, CT, USA, pp 1-127).
- Medina-Urrutia VM, Robles-González MM** (2004) Situación actual y perspectivas del limón Mexicano. In: *2<sup>do</sup> Simposium internacional de Citricultura*, 26-28 Agosto, 2004, Puerto Escondido, Oaxaca, México. pp. 1-10.
- Mendonca L, Conceicao A, Piedade J, Carvalho V, Teodoro V** (2006) Caracterización de la composición química y rendimiento de dos residuos industriales de lima Tahití (*Citrus latifolia* T.). *Cienc. Tecnol. Aliment.* Campinas. **26**, 870-874.
- Mesbahi G, Jamalian J, Farahnaky A** (2005). Comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. *Food Hydrocolloid* **19**, 731-738.

- Mollea, C., Chiampo, F., Conti, R.** (2008). Extraction and characterization of pectins from cocoa husks: A preliminary study. *Food Chemistry*, **107**, 1353–1356.
- Morton, J** (1987) Mexican Lime. In: Morton J (Ed) *Fruits of warm climates* (1<sup>th</sup> Edn) Creative Resource Systems, Inc. Winterville, NC, USA, pp. 168–172.
- Muchuweti M, Zenda G, Ndhala A, Kasiyamhuru A** (2005) Sugars, organic acid and phenolic compounds of *Ziziphus mauritiana* Fruit. *Eur Food Res Technol* **221**, 570–574.
- Murata T** (1997) Citrus. In: Mitra SK (Ed) *Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits* (1<sup>st</sup> Edn), CAB International, Wallingford UK, pp. 21-46.
- Mustard MJ** (1954) Oleocellosis or rind-oil spot on Persian limes. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* **67**, 224-226.
- Nagy S** (1996) Factor affecting the flavor of citrus fruits and their juice products. In: Nagy S, Shaw PE, Chen CS (Eds) *Quality control manual for citrus processing plants* (1<sup>st</sup> Edn, Vol III), Agscience., Inc., Auburndale, FL, pp 102-133.
- Nagy S, Shaw PE, Veldhuis** (1977). Citrus science and technology. AVI Publ. Co., Westport, CT, Vol. 1. pp 531.
- NMX-FF:077-1996.** Productos alimenticios no industrializados para consumo humano fruta fresco. Limón persa (*Citrus latifolia* T.). Especificaciones. Normas Mexicanas. Direccion General de Normas. pp. 10.
- Noda K, Okuda H, Kihara T, Iwagaki I, Kawase K** (2001) Effects of rootstocks on the growth and fruit quality in veri early ripening Satsuma mandarin Yamakawa. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* **70**, 78-82.

- Nour V, Trandafir I, Ionica ME** (2010) HPLC organic acid analysis in different citrus juices under reversed phase conditions. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.* **38**, 44-48.
- Ortiz JM** (2002) Botany: Taxonomy, morphology and physiology of fruits, leaves and flowers. In: Dugo G, Di Giacomo A (Eds) *Citrus: The Genus Citrus* (1<sup>st</sup> Edn), CRC press Taylor and Francis group, Boca Raton, FL, USA, pp. 114-147.
- Oude LM, Verschuren WM, Kromhout D, Ocké MC, Geleijnse JM** (2011) Colors of fruit and vegetables and 10-year incidence of stroke. *Stroke* **42**, 3190-3195.
- Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta SK, Levine M** (2003) Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. A review. *Journal of the American College of Nutrition* **22**, 18–35.
- Paliyath G, Murr DP** (2008) Biochemistry of fruits. In: Postharvest Biology and technology of fruits, vegetables and Flowers. Paliyath, G., D. P. Murr, A. K. Handa, S. Lurie. (eds.) Wiley-Blackwell. USA. pp. 19-50.
- Pantastico EB, W Grierson, Soule J** (1966) Peel Injury and Rind Color of "Persian" Limes as Affected by Harvesting and Handling Methods. Proceedings of the Florida State Horticultural Society. **79**, 338-343.
- Petit D, González A, González G, Sotelo R, Báez R** (2007) Cambios de la cutícula durante la ontogenia del fruto de *Mangifera indica* L. *Rev. Fitotec. Mex.* **30**, 51-60.
- Penniston K, Nakada M, Holmes R, Assimos D** (2009) Quantitative Assessment of Citric Acid in Lemon Juice, Lime Juice, and Commercially-Available Fruit Juice Products. *J. Endourol.* **22**, 567–570.

- Pio RM, Figueiredo JO, Stuchi ES, Barros SA** (2005) Variedades copas. In: Mattos D, Negri JD, Pio RMy Pompeu J. (Eds) *Citrus* Campinas: Instituto Agronómico e Fundog. Cordeiropolis, SP. Brazil pp. 37-60.
- Rafiei M, Rajaei, H** (2007) Structural and Developmental Studies on Oil Producing Reproductive Organs in Lime (*Citrus aurantifolia* Swingle). *J. Biol. Sci.* **7**, 848-853.
- Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE** (1992) El cuerpo de las angiospermas: Estructura y desarrollo. En: *Biología de la Plantas*, Volumen 2. Editorial Reverté S.A. pp. 394-395.
- Rivera Cabrera F, Díaz de León Sánchez F, Pelayo Zaldívar C, Pérez Flores LJ, Ebeler SE, Kader AA** (2006a) Postharvest behavior of fresh-cut limes (*Citrus latifolia* t.) under two different cutting procedures. In: *27<sup>th</sup> International Horticultural Congress*, 13-19 August, 2006, Seoul, Korea, p 442 (Abstract).
- Rivera Cabrera F, Raddatz Mota D, Villegas Monter A, Curtí-Díaz S** (2009) Efecto de dos portainjertos tolerantes al VTC en la calidad postcosecha de lima Persa (*Citrus Latifolia* T.). In: *Proceedings of 54<sup>th</sup> Meeting of the InterAmerican Society for Tropical Horticulture*. 12-17 Octubre, 2008, Vitória, Brasil **52**, 131-133.
- Rivera-Cabrera F, Ponce-Valadez M, Díaz de León F, Buentello B, Villegas-Monter A, Pérez-Flores LJ.** (2010) Acid limes: A review. *Fresh Produce* **4**, 116-122.
- Rojas LJ, Perea VA, Stashenko EE** (2009) Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos. *VITAE* **16**, 110-115.
- Salem A** (2003). Extraction and identification of essential oil components of the peel, leaf and flower of Tangerine "Citrus nobilis loureior var deliciosa

swingle" cultivated at the north of Iran. Master of Science Thesis, Islamic Azad University-Pharmaceutical sciences Branch.

**Sánchez J, Durigan JF, Durigan MFB** (2008) Aplicacao de danos mecánicos em abacates e seus efeitos na qualidade dos frutos. *Eng. Agric.* **28**, 164-175.

**Sánchez Y, Pino O, Correa TM, Naranjo E, Iglesia A** (2009) Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (caisimón de anís). *Rev. Protección Veg.* **24**, 1.

**Santamarina MP, García FJ, Vilella V, Roselló JL** (2004) La flor, el fruto y la semilla. En: *Biología y Botánica*. Tomo I. Editorial UPV, Universidad politécnica de Valencia. pp. 282-282.

**Scott FM, Baker KC** (1947) Anatomy of Washington Navel orange rind in relation to water spot. *Bot. Gaz.* **108**, 459–475.

**Scherrer CR, Loss L, Cunha L, Pires R, Joao R** (2011) Oleocellosis incidence in citrus fruit in response to machanical injuries. *Scientia Horticulturae*. Doi: 10.1016j.scientia.2011.10.026.

**Shaw PE** (1977) Essential oils. In: Nagy S, Shaw PE, Veldhius MK (Eds) *Citrus science and technology* (1<sup>st</sup> Edn, Vol I), AVI publishing Co., Inc., Westport, CT, USA, pp. 427-462.

**Shewfelt RL** (2003) Color. In: *Postharvest Physiology and Technology and Pathology Vegetables*. Bartz, J. A., J. K. Brecht (eds.). Marcel Dekker. New, York, USA. 733 p.

**Shomer I, Erner Y** (1989) The nature oleocellosis in citrus fruits. *Bot. Gaz.* **150**, pp. 281-288.

- Sirisakulwat S, Nagel A, Sruamsiri S, Carle R, Neidhart S** (2008) Yield and quality of pectins extractable from the peels of Thai mango cultivars depending on fruit ripeness. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 10727-10738.
- Soliva R, Martín O** (2003) New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Sci. Tech.* **14**, 341-353.
- Stenzel MNM, Neves J CSV** (2004) Rootstocks for 'Tahiti' lime. *Sci. Agric.* **61**, 151-155.
- Storey R, Treeby MT** (1994). The morphology of epicuticular wax and albedo cells of orange fruit in relation to albedo breakdown. *J. Hort. Sci.* **69**, 329-338.
- Stuchi ES, Donadio LC, Sempionato OR** (2003) Performance of Tahiti Lime on *Poncirus trifoliata* var. *montrosa* Flying Dragon on four densities. *Fruits* **58**, 13-17.
- Sudheer KP, Indira V** (2007) Photosynthesis in: Postharvest Technology of Horticultural Crops, Vol. 07, Horticulture Science Series. New Delhi, India. pp. 32-33.
- Swisher HE, Swisher LH** (1980) Lemon and lime juices. In: Nelson PE, Tressler DK (Eds) *Fruit and vegetable juice processing technology* (3<sup>rd</sup> Edn), AVI publishing Co., Inc., Westport, CT, pp. 125-128.
- Takahara D, Ogata T, Fujisawa H, Muramatsu N** (2001) Effect of rootstocks on tree growth, yield and fruit quality of 'Shirawaka' Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) . Bull. Fruit Tree Res Station. **35**, 99-107.
- Tejacal I, Beltrán M, Alonso A, Flores F** (2009) Calidad del limón persa y naranja valencia en el estado de morelos. Folleto Técnico No. 41, ISBN 978-607-425-263-7. Diciembre de 2009. pp. 6.

- Ting SV, Attaway JA** (1971) Citrus fruit. In: Hulme AC (Ed) *The biochemistry of fruit and their products* (Vol I), Academic Press: London, pp 107-369.
- Thomson WW, Platt KA, Endress AG.** (1976) Ultrastructure of oil gland development in the leaf of *Citrus sinensis* L. *Bot. Gaz.* **137**, 330-340.
- Torres AM, Soost RK, Diedenhofen U** (1978) Leaf isozymes as genetic markers in Citrus. *Am. J. Bo.* **65**, 869-881.
- Turrell FM, Klotz LJ** (1940) Density of Stomata and Oil Glands and Incidence of Water Spot in the Rind of Washington Navel Orange. *Bot. Gaz.* **101**, 862-871.
- Tuzcu O, Yildirim B, Duzenoglu S, Emenyr IB, Kaplankiran M, Yesiloglu T, Aubert B** (1999) The effects of some citrus on the yield and quality of Washington Navel Shamouiti orange varieties in Adana ecological conditions. In: Proceedings of 5<sup>th</sup> International Society of Citrus Nurserymen Congress. Montpellier, France, March 5-8. pp. 91-100.
- Tyree MT y Ewers FW** (1991) The hydraulic architecture of tree and other woody plants. *New Phytologist.* **119**, 345-360.
- Underhill SJR, McLauchlan R, Dahler JM.** (1998) Flavedo and albedo changes in "Eureka" lemons caused by static compression and impact loading. *J. Texture Studies* **29**, 437-52.
- Usai M, Arras G, Agabbio M** (1994). Changes in composition on essential oils of peel of marsh seedless grapefruits grafted on nine different rootstocks. *Agr. Med.*, **124**, 256-266.
- Veraverbeke E, Verboven P, Van P, Nicolai B** (2003) Prediction of moisture loss across the cuticle of apple (*Malus sylvestris* subsp. Mitis (Wallr)) during storage. Part 1. Model development and determination of diffusion coefficients. *Postharv. Biol. Technol.* **30**, 75-88.

- Verdu EI** (1993) Comportamiento de las Clemenules sobre patrones tolerantes. In: Ajuntament de Nules (Eds.) I congreso de Citricultura de la Plana. 26-27 de Marzo. pp. 91-100.
- Verzera, A. Trozzy A. Gazea, F. Ciccirello, G. Cotroneo A.** (2003). Effects of rootstock on the composition of bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 206-210.
- Vriesmann L, Teófilob R, Petkowicz CL** (2011) Optimization of nitric acid-mediated extraction of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers* **84**, 1230–1236.
- Wardowski, W, Nagy S, y Grierson W** (1986). Fresh citrus fruits. Wesport, Conn. AVI Publishing Co., pp. 571.
- Wardowski WM, Hall DJ, Grierson W** (2006) *Fresh citrus fruits* (2st Edn), Florida Science Source, Inc. Florida, USA, pp.571.
- Webber HJ** (Eds) *The citrus industry*. (1<sup>st</sup> Edn, Vol I) Division of agricultural Sciences, University of California, California, USA, pp 496-533.
- Wilkins MR, Widmer WW, Grohmann, K, Cameron RG** (2007) Hydrolysis of grapefruit peel waste cellulase and pectinase enzymes. *Bioresource Technol.* **98**, 1596-1601.
- Wills RH, Lee TH, Mc Glasson WB, Hall EG, Graham D** (1984) Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas Post Recolección. Editorial Acribia, Zaragoza, España, pp. 195.
- Wright, KP y Kader, AA** (1997). Effects of slicing and controlled atmosphere storage on the ascorbate content and quality of strawberries and persimmons. *Postharv. Biol. Technol.* **10**, 39-48.

- Yahata D, Ushijima K, Matsumoto K** (2003) Characteristics of sugar accumulation in juice during fruit development of ripening of Satsuma mandarin tree grafted on Hyriu rootstock. *Hortic. Res.* **2**, 39-44.
- Yahia EM, Higuera C.** (2002) Fisiología y tecnología postcosecha de productos hortícolas. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Ed. Limusa, México.
- Yapo BM, Koffi KL** (2006). Yellow passion fruit rind—A potential source of low-methoxyl pectin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 2738–2744.
- Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., Paquot, M.** (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, **100**, 1356–1364.
- Yildirim B, Yesiloğlu T, Kamiloğlu MU, Incesu M, Tuzcu Ö y Çimen B.** (2010). Fruit yield and quality of Santa Teresa lemon on seven rootstocks in Adana (Turkey). *African Journal of Agricultural Research.* **5**, 1077-1081.
- Yongqiang Z , Shaolan H, Shilai Y, Zhiqin Z, Shasha M, Xuyang Z, Lie D** (2009) Predicting oleocellosis sensitivity in citrus using VNIR reflectance spectroscopy. *Scientia Horticulturae.* **125**, 401-405.
- Ywassaki LA y Canniatti-Brazaca SG** (2011) Ascorbic acid and pectin in different sizes and parts of citric fruits. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, **31**, 319-326.
- Zhang H, Yang S, Joyce D, Jiang Y, Qu H, Duan X** (2010) Physiology and quality response of harvested banana fruit to cold shock. *Postharv. Biol. Technol.* **55**, 154-159

**Zheng Y, Sholan H, Shilai Y, Zhou Z, Mao S, Zhao X, Deng L** (2009) Characteristics and oleocellosis sensitivity of citrus fruits. *Sci. Hort.* **123**, 312-317.

**Zheng Y, Deng L, He S, Yi S, Zhao X, Mao S** (2010) Study on the relation between botany characters, mineral nutrition levels and oleocellosis development in 72-1 Navel orange. *Journal of Fruit Science* **37**, 532-534

**Zheng B, Deng L, Hea S, Zhou Z, Yia S, Zhao X, Wang L** (2011) Rootstocks influence fruit oleocellosis in 'Hamlin' sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) *Sci. Hort.* **128**, 108-114.

**Zeiger E, Taiz L** (2007) Fisiología Vegetal. Volumen 1. Colección: Ciencias experimentales. U.S.A. pp. 103-106.

**Ziena H** (2000) Quality attributes of Bearss Sedles lime (*Citrus latifolia* Tan) juice during storage. *Food Chem.* **71**, 167-172.

## ANEXO I

### Preparación de 100 mL del fijador (FAA) (Gray, 1964)

Alcohol etílico 96° al 70 %: 90 mL  
Formaldehído al 40 %: 7 mL  
Acido acético glacial: 3 mL

### Preparación de 100 mL de agente deshidratante (Gray, 1964)

- 1) Agua destilada: 50 mL  
Alcohol etílico: 40 mL  
Alcohol terbutílico: 10 mL
- 2) Agua destilada: 30 mL  
Alcohol etílico: 50 mL  
Alcohol terbutílico: 20 mL
- 3) Agua destilada: 15 mL  
Alcohol etílico: 50 mL  
Alcohol terbutílico: 35 mL
- 4) Agua destilada: 5 mL  
Alcohol etílico: 40 mL  
Alcohol terbutílico: 55 mL
- 5) Alcohol etílico: 25 mL  
Alcohol terbutílico: 75 mL
- 6) Alcohol terbutílico: 100 mL

### **Preparación del colorante Safranina "O" (Gray, 1964)**

Methyl Cellosolve:	50 mL
Alcohol etílico al 95 %:	25 mL
Agua destilada:	25 mL
Acetato de sodio:	1 g
Formaldehído al 40 %:	2 mL
Safranina:	0.1 g

### **Preparación del colorante Verde rápido (Gray, 1964)**

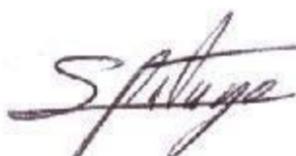
En 100 mL de alcohol etílico al 90 % agregar 0.1 % de solución Verde rápido.

### **Preparación de la solución de aceite de clavo (Gray, 1964)**

Aceite de Clavo:	30 mL
Xileno:	30 mL
Alcohol etílico absoluto:	30 mL

Los miembros del jurado de examen, designado por el Posgrado en Biología Experimental, abajo firmantes, aprobaron la tesis **“Efecto del portainjerto en la calidad, composición química de azúcares y aceite esencial, glándulas oleíferas y el desarrollo de oleocelosis en lima Persa (*Citrus latifolia* T.)”**. Presentada por **Denise Raddatz Mota** quien realizó la disertación pública el **13 de Diciembre de 2011**, en las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

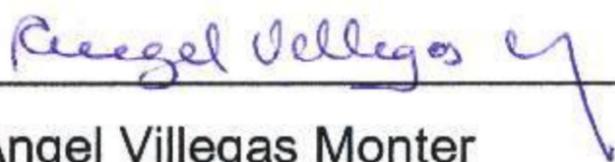
**Presidente:**



---

Dra. Clara Pelayo Zaldivar

**Secretario:**



---

Dr. Ángel Villegas Monter

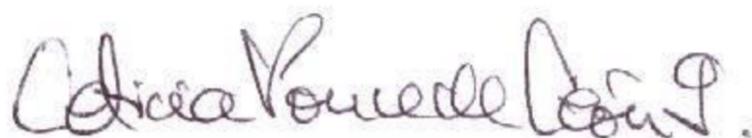
**Vocal:**



---

Dr. Francisco Cruz Sosa

**Vocal:**



---

Dra. Leticia Ponce de León García