

## Calidad y vida poscosecha de frutos de limón mexicano provenientes de árboles con síntomas de HLB y asintomáticos

Aideé Hernández-Rivera<sup>1</sup>  
Gregorio Arellano-Ostoa<sup>1</sup>  
Manuel Marciano Robles-Gonzales<sup>2</sup>  
David Jaén-Contrearras<sup>1</sup>  
Adriana Contreras-Oliva<sup>3</sup>  
Crescenciano Saucedo-Veloz<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Programa de Fruticultura Instituto de Recursos Genéticos y Productividad-Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 35.5, Montecillos, Texcoco, Estado de México. CP. 56230. Tel. 01(595) 9520233. <sup>2</sup>Campo Experimental Tecomán-INIFAP. Carretera Colima-Manzanillo km 35, Tecomán, Colima, México. CP. 28100. <sup>3</sup>Colegio de Postgraduados. Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, Amatlán de los Reyes, Veracruz.

§Autor de correspondencia: saaveloz@colpos.mx.

### Resumen

En México la presencia de Huanglongbing (HLB) en las zonas productoras de limón mexicano, se ha manifestado en una reducción de la producción como el caso de la zona productora Colima, se ha estimado en 66.8% en los últimos 10 años. El efecto de la enfermedad en la calidad de los frutos ha sido poco estudiado, reportándose la reducción del tamaño. El objetivo fue evaluar la calidad organoléptica y nutritiva, relacionada con el comportamiento poscosecha de frutos de limón mexicano de árboles con HLB y de asintomáticos. Se cosecharon frutos de árboles con y sin síntomas de HLB del Campo Experimental Frutícola del INIFAP, Tecomán, Colima, México. Se establecieron cuatro tratamientos considerando el origen de los frutos (árboles con síntomas de HLB y asintomáticos) y dos temperaturas (ambiente:  $22 \pm 2$  °C por 4 y 8 días, refrigeración:  $9 \pm 1$  °C por 2 semanas más 4 y 8 días al ambiente). Después de cada periodo se evaluaron las variables: SST, acidez titulable, índice tecnológico, ácido ascórbico (vitamina C), pérdidas de peso, índice de color y daños por frío. Con relación a estas variables, no se observaron diferencias significativas, al momento de cosecha, entre frutos de árboles con síntomas de HLB y asintomáticos. El comportamiento poscosecha fue similar durante las dos condiciones de almacenamiento y no se observaron diferencias en las variables; no obstante, las pérdidas de peso, de ácido ascórbico y del color verde, fueron mayores en los frutos de árboles con HLB, además de presentar mayor incidencia de daño por frío. Se concluye que la calidad, evaluada por las variables mencionadas, de los frutos de árboles con síntomas de HLB y asintomáticos no es afectada significativamente, a excepción de los frutos cosechados de árboles con HLB son más sensibles a daños por frío.

**Palabras claves:** *Diaphorina citri*, Huanglongbing, limón mexicano, poscosecha.

Recibido: agosto de 2018

Aceptado: septiembre de 2018

Por lo variado de su utilización, el limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) constituye uno de los frutales de importancia comercial en México; sin embargo, actualmente enfrenta una severa problemática en su producción debido a la presencia de Huanglongbing (HLB), enfermedad de impacto devastador para los cítricos (Manjunath *et al.*, 2008) causada por la proteobacteria *Candidatus liberibacter* y transmitida por el psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Bové, 2006). De acuerdo con Gottwald e Irej (2008) la presencia de HLB en cítricos es responsable de pérdidas de hasta 65% del rendimiento, en México se ha detectado en diversas zonas productoras de cítricos dulces y limas ácidas. En el caso de limón mexicano, se ha vuelto endémico en estados como Colima, en donde la producción ha experimentado una importante disminución, la cual en el año 2005 se situaba en 525 803 t y para el año 2014 en 174 615 t, significando una disminución de 66.8% (SIAP-SAGARPA, 2016); al respecto, Robles *et al.* (2014) han reportado que, en árboles de limón mexicano con 75-100% de síntomas de la enfermedad, su producción se reduce hasta 50%, respecto a los asintomáticos, debido a una significativa reducción de la capacidad de floración y fructificación, a su vez provocada por la disminución de la actividad fotosintética de las hojas dañadas (Robles *et al.*, 2013).

Se ha señalado Bové (2006) que en frutos los síntomas no son específicos; sin embargo, en árboles con síntomas avanzados de HLB los frutos producidos son pequeños, asimétricos y de baja calidad comercial, además de reducir el (%) de jugo y contenido de SST. De acuerdo con Robles *et al.* (2014), en el caso de limón mexicano el principal efecto en la calidad es la reducción del tamaño, no siendo afectados el grosor de la cáscara, número de semillas desarrolladas y abortadas (%) de jugo, acidez titulable y SST; sin embargo, dada la sensibilidad de los frutos a las pérdidas de peso, disminución del color verde y a la aparición de desórdenes fisiológicos, resulta desconocido el comportamiento poscosecha de frutos provenientes de árboles afectados por HLB, toda vez que su demanda en el mercado nacional no se ha demeritado. Por lo anterior, los objetivos de esta investigación fueron evaluar el efecto en la calidad organoléptica y nutritiva, relacionada con la vida poscosecha de frutos de limón mexicano cosechados de árboles con y sin síntomas de HLB.

La fase experimental consistió en la cosecha de un total de 600 frutos de limón mexicano variedad Colimex de árboles desarrollados en el campo experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de Tecomán, Colima, México, localizado a 40 msnm, el clima es cálido, subhúmedo con lluvias en verano y semiseco muy cálido; la temperatura promedio es de 25° C y la precipitación pluvial total anual promedio varía de 798.7 a 940 mm; del total de frutos 300 se cortaron de árboles con síntomas de HLB (% de jugo 39.1  $\pm$ 3.4) y otros 300 de árboles asintomáticos (AS) (% de jugo 37.2  $\pm$ 2.4).

Cada lote de 300 frutos se subdividió en dos de 150, uno de los cuales se almacenó a la temperatura ambiente (20  $\pm$ 2° C y 55  $\pm$ 5% HR) y otro a condiciones de refrigeración (9  $\pm$ 1° C; 85  $\pm$ 5% HR), quedando conformados cuatro tratamientos: HLB<sub>amb</sub>, AS<sub>amb</sub>, HLB<sub>ref</sub> y AS<sub>ref</sub>, los frutos al ambiente se almacenaron por 4 y 8 días y los expuestos a refrigeración por 2 semanas más 4 y 8 días a temperatura ambiente, esto último para simular condiciones de comercialización para consumidores.

Durante el experimento se evaluaron variables de calidad organoléptica (sólidos solubles totales, acidez titulable e índice tecnológico en jugo), calidad nutritiva (contenido de ácido ascórbico) y vida poscosecha (color externo, pérdidas de peso e índice de daños por frío). Los sólidos solubles totales se midieron aplicando el método de la AOAC (2000), utilizando un refractómetro digital ATAGO PR-100 con escala 0-32%, los datos se expresaron como %SST, para la acidez titulable (AT) se aplicó la metodología descrita por la AOAC (2000), utilizando para la neutralización NaOH 0.1N y como indicador fenoftaleína en solución alcohólica al 2.5%, esta variable se reportó en base al contenido (%) de ácido cítrico, con la ecuación  $\%SST * \% \text{ de jugo} / 100$ , se calculó el índice tecnológico (IT) (Obeed y Harhash, 2006).

El contenido de ácido ascórbico (vitamina C) en jugo se determinó mediante el método de Tillman (1990), realizando la extracción con ácido oxálico (0.5%) y la titulación con 2,6-diclorofenol-indofenol (0.02%), para el cálculo del contenido de esta vitamina se obtuvo una curva estándar y los datos se expresaron en  $\text{mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ . Color externo medido en la zona ecuatorial del fruto entero mediante un colorímetro de reflexión Hunter Lab (Reston, Virginia, USA, modelo D-25) con escala CIELab calculando con los parámetros de color L, a, b obtenidos el índice de color (IC) para cítricos (1000a/bL) propuesto por Jiménez *et al.* (1981), pérdidas de peso obtenidas por la diferencia en peso entre el obtenido al inicio del almacenamiento y el registrado durante el avance del mismo, expresando los datos como %PP, índice de daños por frío (%) considerando el número de frutos con síntomas de picado y manchado del epicarpio (Wang, 2010).

Para el análisis estadístico de los datos se consideró como unidad experimental un fruto, con un número de repeticiones de: 10 (pérdidas de peso e índice de color) y 50 (daños por frío, considerando para el análisis de calidad organoléptica y nutritiva como unidad experimental cinco frutos y cinco repeticiones). Las determinaciones se realizaron a los 4 y 8 días en los almacenados directamente a la temperatura ambiente, así como al inicio y salida de refrigeración más 4 y 8 días después de transferir al ambiente. Los datos se analizaron aplicando un diseño experimental en bloques al azar generalizado y pruebas de comparación de medias por Tukey ( $p \leq 0.05$ ), aplicando el programa SAS System V9 (SAS Institute 2002).

### **Almacenamiento a temperatura ambiente**

Al momento de cosecha no se observaron diferencias significativas, entre frutos provenientes de árboles con y sin síntomas de HLB, en todas las variables evaluadas (Cuadro 1), lo que coincide con lo reportado por Robles *et al.* (2013) quienes no encontraron diferencias significativas en el contenido de jugo, °Brix y ácido ascórbico; sin embargo, resulta contrario a lo reportado por Bassanezi *et al.* (2009) en naranjas dulces de Brasil donde los frutos cosechados de árboles con HLB presentaron menor contenido de jugo y SST, así como con mayor acidez. Las pérdidas de peso se incrementaron significativamente conforme avanzó el tiempo de almacenamiento tanto en los frutos provenientes de árboles con HLB y sin HLB, pero no hubo diferencias entre ambos grupos; similar respuesta se observó con el índice de color, el cual disminuyó significativamente al avanzar el tiempo de almacenamiento, sin diferencias entre los dos grupos de frutos (Cuadro 1), no observándose problemas de mantenimiento de color verde (greening) en el extremo estilar como en el caso de naranjas (Bassanezi *et al.*, 2009).

**Cuadro 1. Evaluación de algunos de los componentes de calidad de frutos de limón mexicano almacenados a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C) por 4 y 8 días.**

Almacenamiento (días)	PP (%)	AT (% ácido cítrico)	SST (%)	Índice tecnológico	IC (1 000a/bL)	Ácido ascórbico (mg 100 mL <sup>-1</sup> )
<b>C/HLB</b>						
Cosecha	0 c	7.7 a	9.2 a	2.6 ab	-13.2 a	39.1 a
4	6.5 b	7.7 a	9.2 a	1.9 b	-11.8 b	33.7 b
8	12.4 a	8.3 a	9.9 a	1.8 b	-8.7 c	25.4 c
<b>S/HLB</b>						
Cosecha	0 c	7.7 a	9.2 a	3.3 a	-13.3 a	43.6 a
4	6.3 b	7.7 a	9.2 a	2.3 ab	-11.2 b	35.3 b
8	11.9 a	7.5 a	8.9 a	2.1 ab	-9.2 c	28.2 c

Medias con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

En cuanto a la vitamina C, en ambos grupos de frutos la concentración tendió a disminuir al avanzar el almacenamiento, esto como producto de la oxidación del ácido ascórbico por efecto del avance de la senescencia y el estrés por las pérdidas de agua (Lee y Kader, 2000), es de señalar que si bien no se presentaron diferencias significativas en la concentración de vitamina C entre frutos cosechados de árboles con HLB y asintomáticos, estos últimos presentaron mayor concentración (Cuadro 1); asimismo, en ambos casos la concentración de ácido ascórbico estuvo entre los rangos reportados por otros investigadores con 39.3 mg 100 g<sup>-1</sup> (Zea-Hernández *et al.*, 2016) y 45.2 mg 100 g<sup>-1</sup> (Álvarez-Armenta *et al.*, 2008)

Por su parte, el contenido de ácido cítrico y SST permanecieron sin cambios significativos entre los frutos provenientes de árboles con y sin HLB, así como en función del tiempo de almacenamiento, permaneciendo similares a los del momento de cosecha. En cuanto al índice tecnológico (<valor <calidad de jugo en la industria de cítricos) su comportamiento tendió a disminuir, en ambos grupos de frutos, durante el almacenamiento y si bien el IT resultó mayor en los frutos cosechados de árboles asintomáticos, no se observaron diferencias respecto a los provenientes de árboles con síntomas de HLB; valores de IT de 3.9 han sido reportados en frutos de limón mexicano al momento de cosecha (Obeed y Harhash, 2006), siendo menores a los obtenidos en el presente experimento.

### Almacenamiento a temperatura de refrigeración

En los frutos cosechados de árboles con y sin HLB almacenados a  $9 \pm 1$  °C por dos semanas, no se observaron diferencias significativas, entre estos, en las pérdidas de peso, las cuales se situaron en 6.4 y 5.7%, siendo similares ( $5.5 \pm 0.7\%$ ) a las reportadas por Muñoz-Lazcano *et al.* (2011) a las mismas condiciones de refrigeración; mismo comportamiento se presentó al transferir a la temperatura ambiente (Cuadro 2). En función del tiempo de almacenamiento, en ambos grupos de frutos las pérdidas de peso se incrementaron significativamente tanto a las condiciones de refrigeración como de temperatura ambiente. En el IC no se observaron diferencias significativas entre los frutos provenientes de árboles con HLB y asintomáticos a las dos condiciones de

almacenamiento, en función del tiempo de almacenamiento los frutos de ambos grupos presentaron un IC sin diferencias, respecto al valor al momento de cosecha, a la salida de refrigeración, y con diferencias tras cuatro y ocho días de exposición al ambiente (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Evaluación de algunos de los componentes de calidad de frutos de limón mexicano almacenados a  $9 \pm 1$  °C por dos semanas y transferidos a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C) por 4 y 8 días.**

Almacenamiento (días)	PP (%)	AT (% ácido cítrico)	SST (%)	Índice tecnológico	IC (1 000a/bL)	Ácido ascórbico (mg 100 <sup>-1</sup> mL)
<b>C/HLB</b>						
Cosecha	0 d	7.7 a	9.2 a	2.6 ab	-13.2 a	39.1 a
Salida*	6.4 c	7.4 a	8.8 a	3.4 a	-10.5 ab	31 b
4	9.6 b	7.4 a	8.8 a	3.2 a	-5.3 bc	23.3 bc
8	13.9 a	7.5 a	8.9 a	1.8 b	-3.3 c	16.4 c
<b>S/HLB</b>						
Cosecha	0 d	7.5 a	9.2 a	3.3 a	-13.3 a	43.6 a
Salida*	5.7 c	7.4 a	8.9 a	3.6 a	-11.9 ab	31.5 b
4	8.7 b	7.1 a	8.5 a	3.4 a	-6.6 bc	21.3 bc
8	13.6 a	7.3 a	8.7 a	2.6 ab	-4.8 c	17 c

\*= dos semanas de refrigeración ( $9 \pm 1$  °C). Medias con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Durante el almacenamiento a las dos temperaturas, se observaron pérdidas de ácido ascórbico por efecto del tiempo de exposición, principalmente al transferir al ambiente; sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre frutos cosechados de árboles con síntomas de HLB y asintomáticos. En cuanto a las variables acidez titulable y SST no se observaron cambios significativos entre ambos grupos de frutos y también por efecto del tiempo de almacenamiento, permaneciendo sus valores similares a los del momento de cosecha (Cuadro 2). Tanto en frutos cosechados de árboles con síntomas de HLB y asintomáticos, el IT tendió a incrementarse durante el periodo de refrigeración a 9 °C por dos semanas con valores de 3.4 y 3.6, respectivamente (Cuadro 2), coincidiendo esta respuesta con resultados obtenidos por Obeed y Harhash, (2006); sin embargo, al transferir a la temperatura ambiente el IT tendió a disminuir al avanzar el tiempo de almacenamiento. Entre los dos grupos de frutos no se observaron diferencias significativas en el valor del IT. El aumento de esta variable sugiere inicialmente un efecto de concentración donde pueden estar interrelacionados el contenido de jugo, SST y otros compuestos; asimismo el concepto de mejor calidad de jugo en base al mayor valor del IT es limitado, toda vez que en el sabor intervienen otros compuestos como los aromas.

A la salida de refrigeración los frutos cosechados de árboles con síntomas de HLB presentaron un índice de daños por frío de 27.7%, en tanto que los asintomáticos 13.3%, en ambos casos de carácter ligero (<10% de la superficie del epicarpio con síntomas de picado). De acuerdo con McDonald *et al.* (1993) la composición y morfología de ceras epicuticulares influye en el desarrollo de daños por frío en frutos cítricos, debido a la alteración del transporte de gases y vapor de agua a través

del epicarpio; si bien, en la presente investigación no se observaron diferencias en las pérdidas de peso (como indicador de pérdidas de agua), entre frutos provenientes de árboles con HLB y asintomáticos, en los primeros la tendencia fue de una mayor pérdida, lo que permitiría asumir que en los frutos con HLB el contenido y composición de ceras episuticulares es afectado, no obstante esto debe ser comprobado mediante otros estudios.

## Conclusiones

Al momento de cosecha, no hay diferencias en la calidad, evaluada por el contenido de jugo, SST, ácido cítrico, ácido ascórbico, índice tecnológico e índice de color, entre frutos provenientes de árboles con síntomas de HLB y asintomáticos.

El comportamiento postcosecha de los frutos, en cuanto a pérdidas de peso, disminución del color verde externo, pérdidas de vitamina C (ácido ascórbico) y cambios en la calidad del jugo (IT), no presenta diferencias entre los cosechados de árboles con y sin HLB, tanto a la temperatura ambiente como de refrigeración; no obstante, en los frutos de árboles con HLB dichas pérdidas son más evidentes.

Los frutos provenientes de árboles con HLB resultan más sensibles a daños por frío durante la conservación a 9 °C por dos semanas.

Se sugiere realizar estudios considerando otros parámetros de calidad como contenido de compuestos funcionales y respuesta fisiológicas por la aplicación de recubrimientos superficiales, además de evaluar la calidad de frutos provenientes de árboles con síntomas de HLB, pero con nuevas tecnologías de producción.

## Literatura citada

- Álvarez-Armenta R., Saucedo-Veloz C., Chávez-Franco S. H., Medina-Urrutia V., Colinas-León M. T., Báez-Sañudo R. 2008. Reguladores de crecimiento en la maduración y senescencia de frutos de limón mexicano. *Agric. Téc. Méx.* 34(1):5-11.
- AOAC. 1984. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 13<sup>th</sup>. Ed. Arlington, V. 1023 p.
- Bassanezi R. B.; Montesino, L. H. and Stuchi, E. S. 2009. Effects of Huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil. *Eur. J. Plant Pathol.* 125(1):565-572.
- Bové, J. M. 2006 Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela. *Bol. Entomol. Venez* 15(2):235-243.
- Gottwald, T. R. and Irey, M. 2008. The plantation edge effect of HLB: a geostatistical analysis. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando. Orlando, Florida. 305-308 pp.
- Manjunath, K. L.; Halbert, S. E.; Ramadugu, C.; Webb, S. and Lee, R. F. 2008. Detection of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in *Diaphorina citri* and its importance in the management of citrus Huanglongbing in Florida. *Am. Phytopathol. Soc.* 98(4):387-396.

- Muñoz, L. A.; Saucedo, V. C.; García, O. C. y Robles, G. M. 2011. Evaluación de la calidad y tiempo de almacenamiento del fruto en tres variedades de limón mexicano. Rev. Iberoam. Tecnol. Postcosecha. 12(2):156-163.
- Obeed, R. S. and M. M. Harhash., J. 2006. Impact of postharvest treatments on storage life on quality of "Mexican" lime. Adv. Agric. Res. (Fac. Agric. Saba Basha). II(3):1-17
- Orozco, S. M.; Robles, G. M. M.; Velásquez, M. J. J.; Manzanilla, R. M. A.; Bermúdez, G. M. J.; Carrillo, M. S. H.; Medina, U. V. M.; Hernández, F. L. M.; Gómez, J. R.; Manzo, S. G.; Farías, L. J.; Nieto, Á. D.; Minjangos, H. E.; Sánchez, De la T. J. A. y Valera, F. S. 2014. El Limón Mexicano (*Citrus aurantifolia*) SAGARPA, INIFAP, CIRPAC. Campo Experimental Tecomán, Colima, México. Libro técnico núm. 1. 489 p.
- Robles, G. M. M.; Velásquez, M. J. J.; Manzanilla, R. M. Á.; Orozco, S. M.; Medina, U. V. M.; López, A. J. I.; Flores, V. R. 2013. Síntomas del Huanglongbing (HLB) en árboles de limón mexicano [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] y su dispersión en el estado de Colima, México. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 19(1):15-31.
- McDonald, E. R.; Nordby, E. H. and McCollum, G. T. 1993. Epicular wax morphology and composition are related to grapefruit chilling injury. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, US. Horticultural Research Laboratory, 2120 Camden Road, Orlando, FL 32803. 28(4):311-312.
- Lee, S. K. and Kader, A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. Postharvest Biol. Technol. 20:207-220.
- SIAP. 2016. Sistema de Información Pesquera. <http://www.siap.org.mx>
- Zea, H. L.; Saucedo, V. C.; Cruz, H. N.; Ramírez, G. M. E. y Robles, G. M. M. 2015. Evaluación de aplicaciones precosecha de ácido giberélico en la calidad y vida de anaquel de tres variedades de limón mexicano Rev. Chapingo Hortic. 22(1):17-26.