

Evaluation of post-harvest applications of gibberellic acid on the quality and shelf life of three varieties of Mexican lime

Evaluación de aplicaciones precosecha de ácido giberélico en la calidad y vida de anaquel de tres variedades de limón mexicano

Laura Olivia Zea-Hernández¹; Crescenciano Saucedo-Veloz^{1*}; Nicacio Cruz-Huerta¹; Martha Elva Ramírez-Guzmán¹; Manuel Marciano Robles-González²

¹Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, C.P. 56230, MÉXICO.

Email: saucedo@colpos.mx, tel. y fax: (595) 952 02 33 (*Corresponding author).

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Tecmán. Carretera Colima-Manzanillo km 35, Tecmán, Colima, C.P. 28100, MÉXICO.

Abstract

Among the acid limes produced in Mexico, the Mexican lime is the most important in the domestic market; however, because of the heterogeneous quality of the fruit at harvest time, the export volume is limited. Due to the thin epicarp, the fruits are sensitive to weight and green color loss, so their shelf life is short. Three varieties have recently been registered, namely Colimex, Colimón and Lise, whose response to the use of plant hormones to slow senescence and maintain quality is unknown. The aim of this research was to study the effect of pre-harvest treatment with gibberellic acid (GA₃) on the quality and shelf life of the fruit of the above-mentioned varieties. In two periods of fruit growth, spraying with GA₃ (30 mg·L⁻¹) was performed. After the harvest, a wax was applied to fruits with and without GA₃; in addition, there were fruits without any treatment (control). The fruits were stored for 10 days at 22 ± 2 °C. At the end of this time, the following variables were evaluated: weight loss, color index, and concentration of chlorophyll, citric acid, TSS and ascorbic acid. GA₃ treatments decreased weight loss and delayed changes in color, chlorophyll, TSS and citric acid, with ascorbic acid remaining unchanged. This response was more consistent in the Colimex and Lise varieties. We conclude that pre-harvest treatment with GA₃, in combination with wax, maintains fruit quality for a longer period.

Keywords: *Citrus aurantifolia* Swingle, color index, ascorbic acid, weight loss, citric acid.

Resumen

Entre la producción de limas ácidas en México, la del limón mexicano es la de mayor importancia en el mercado nacional; sin embargo, por lo heterogéneo de la calidad del fruto al momento de la cosecha, el volumen de exportación es limitado. Debido a lo sutil del epicarpio, los frutos son sensibles a pérdidas de peso y del color verde, siendo corta su vida de anaquel. Recientemente se han registrado tres variedades: Colimex, Colimón y Lise, cuya respuesta al uso de fitohormonas para retardar la senescencia y mantener la calidad, es desconocida. El objetivo fue estudiar el efecto del tratamiento, precosecha con ácido giberélico (AG₃), en la calidad y vida de anaquel del fruto de las variedades señaladas. En dos periodos de crecimiento del fruto, se realizaron aspersiones con AG₃ (30 mg·L⁻¹). Tras la cosecha, a frutos con y sin AG₃ se les aplicó una cera, considerando además otro sin ningún tratamiento (testigo). Los frutos se almacenaron por 10 días en 22 ± 2 °C. Al término se evaluaron las variables: pérdida de peso, índice de color, concentración de clorofila y de ácido cítrico, SST y ácido ascórbico. Los tratamientos con AG₃ disminuyeron las pérdidas de peso y retardaron los cambios en color, clorofila, SST y ácido cítrico, permaneciendo sin cambios el ácido ascórbico. Esta respuesta fue más consistente en las variedades Colimex y Lise. Se concluyó que el tratamiento precosecha con AG₃, en combinación con encerado, mantiene la calidad de los frutos por mayor tiempo.

Palabras clave: *Citrus aurantifolia* Swingle, índice de color, ácido ascórbico, pérdidas de peso, ácido cítrico.



Introduction

Globally, Mexican lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) is produced in several countries, including Mexico, Brazil, India, Peru and Egypt (Plattner, 2014). The juice is used in the preparation of drinks and the peel for the extraction of pectin, whereas the essential oils are used in the perfume industry (Liu, Heying, & Tanumihardjo, 2012). Nutritionally, Mexican lime is important for its contribution of ascorbic acid (vitamin C), minerals, citric acid and bioactive compounds such as limonin glucoside, a highly-oxygenated triterpenoid associated with anticancer activity (Jacob, Hasegawa, & Manners, 2000).

In Mexico, production of Mexican lime, with spines or *criollo* (a native, regional variety), is estimated at 1.4 million tons (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2014), which is mainly sold in the domestic market, since only 2.3 % of production meets the color, size, juice content and health characteristics required for export (Plattner, 2014). The fruits of Mexican lime with spines are small, with a high number of seeds, a thin epicarp and accelerated senescence; the latter results in a short shelf life, so a high percentage of the harvested fruit is destined for either industrial purposes or the fresh market.

Based on studies of natural genetic variation, conducted by the National Institute for Forestry, Agriculture and Livestock Research (INIFAP) through its Mexican Lime Breeding Program, three registered varieties have been generated: Colimex, Lise and Colimón. The first are trees with spines, which have high yield and larger fruit size; the second is similar to the first but in trees without spines, and the third produces seedless fruits (Robles-González, Carrillo-Medrano, Manzanilla-Ramírez, Velázquez-Monreal, & Medina-Urrutia, 2010). In addition, the fruits of these varieties have better quality characteristics in terms of juice content, flavor components and refrigerated storage potential (Muñoz-Lazcano, Saucedo-Veloz, García-Osorio, & Robles-González, 2011); however, their response to the use of bioregulators with phytohormonal effect, aimed at reducing the advance of deteriorative changes related to senescence, which significantly affect the quality of the fruits and limit their shelf life, is still unknown.

Physiologically, the fruit has non-climacteric behavior (Kader, 2000), so in postharvest it shows changes associated with the phenomenon of senescence which, among other processes, involves a decrease in photosynthetic capacity and chlorophyll content, vitamin C losses and changes in membrane permeability, which favor the loss of water in cells and tissues (Goldschmidt, 2000). These processes represent the main factors that significantly affect the quality

Introducción

A nivel mundial, el limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) se produce en diversos países, entre los que destacan México, Brasil, India, Perú y Egipto (Plattner, 2014). El jugo se utiliza en la preparación de bebidas, la cáscara para la extracción de pectinas y los aceites esenciales en la industria de la perfumería (Liu, Heying, & Tanumihardjo, 2012). Nutricionalmente, el limón mexicano es importante por su aporte de ácido ascórbico (vitamina C), minerales, ácido cítrico y compuestos bioactivos como el limonin-glucósido, que es un triterpenoide altamente oxigenado relacionado con actividad anticancerígena (Jacob, Hasegawa, & Manners, 2000).

En México, la producción de limón mexicano, con espinas o criollo, se estima en 1.4 millones de toneladas (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2014); el cual se comercializa principalmente en mercado nacional, toda vez que sólo el 2.3 % de la producción cumple con las características de color, tamaño, contenido de jugo y sanidad, requeridas para su exportación (Plattner, 2014). Los frutos del limón mexicano con espinas son de tamaño pequeño, con elevada cantidad de semillas, epicarpio delgado y acelerada senescencia; traduciéndose esta última en una corta vida en anaquel, lo que hace que un alto porcentaje de la fruta cosechada se destine a la industria, y el resto al mercado en fresco.

Con base en estudios sobre variación genética natural, a través del Programa de Mejoramiento Genético de Limón Mexicano del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), se han generado tres variedades registradas: Colimex, Lise y Colimón. La primera son árboles con espinas, presentan alto rendimiento y mayor tamaño de fruto; la segunda es similar a la anterior pero en árboles sin espinas, y la tercera tiene producción de frutos sin semilla (Robles-González, Carrillo-Medrano, Manzanilla-Ramírez, Velázquez-Monreal, & Medina-Urrutia, 2010). Además, los frutos de estas variedades poseen características de mejor calidad en cuanto a contenido de jugo, componentes del sabor y potencial de almacenamiento refrigerado (Muñoz-Lazcano, Saucedo-Veloz, García-Osorio, & Robles-González, 2011); sin embargo, aún es desconocida su respuesta al uso de biorreguladores con efecto fitohormonal, tendientes a reducir el avance de los cambios deteriorativos relacionados con la senescencia, los cuales afectan significativamente la calidad de los frutos y limitan su vida en anaquel.

Fisiológicamente, el fruto presenta comportamiento no climatérico (Kader, 2000), por lo que en postcosecha muestra cambios asociados al fenómeno de senescencia que, entre otros procesos, involucra la disminución de

and reduce the shelf life of Mexican lime fruits (Álvarez-Armenta et al., 2010). In this regard, significant losses in the internal and external quality of untreated fruits of the Colimex, Lise and Colimon varieties, stored at 22 ± 2 °C for six days, have been reported (Muñoz-Lazcano et al., 2011).

The use of plant hormones such as auxins (Agustí et al., 2002), gibberellins (Jomori-Lye, Kluge, & Jacomino, 2003) and cytokinins (Baéz-Sañudo, Tadeo, Primo-Millo, & Zacarías, 1993) has been studied to assess their effect on the slowing of senescence-related changes in citrus fruits. In these fruits, pre-harvest applications with gibberellic acid (GA_3) have been evaluated in order to delay senescence, increase epicarp firmness, delay the harvest and control physiological disorders, all with contrasting results due to the effect of species, variety, dose, and application method, among other factors (Ritenour, Burton, & McCollum, 2005). The aim of this research was to study the effect of pre-harvest treatment with GA_3 on controlling the progress of senescence in the fruit of three Mexican lime varieties, and its effect on fruit quality and shelf life.

Materials and methods

This study used Mexican lime fruits of the Colimex, Lise and Colimón varieties, obtained from the Tecomán Experimental Station, Colima, Mexico, belonging to the Institute for Forestry, Agriculture and Livestock Research (INIFAP), located at 32 masl, with a $BS_1(h')$ climate, considered as warm semi-dry, with an average temperature of 26 °C and mean annual rainfall of 750 mm.

Prior to harvest, two groups of three trees each were formed; gibberellic acid (GA_3) was applied to the first group when the fruits reached 30 ± 2 mm in diameter; applications were made to the second group on two occasions, when the fruits were 20 ± 2 mm and 30 ± 2 mm in diameter. A third group of six trees remained untreated. The GA_3 solution with a concentration of $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ was prepared with granulated ACTIVOL® 40 % GS; Penetrator® Plus at a ratio of $10 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ was used as surfactant. At 9:00 am the fruits were sprayed with 10 L of this solution per tree.

The harvest of the fruits, with and without GA_3 , was carried out when they reached 39 ± 2 mm in diameter (in accordance with paragraphs 4 and 5 of the Mexican Standard: NMX-FF-087-SCFI-2001, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2014). After 12 h they were transferred to the laboratory where they were conditioned for 12 h at room temperature, and subsequently selected on the basis of overall health.

la capacidad fotosintética, y del contenido de clorofila, pérdidas de vitamina C y cambios en la permeabilidad de membranas, las cuales favorecen la pérdida de agua en células y tejidos (Goldschmidt, 2000). Estos procesos representan los principales factores que afectan significativamente la calidad y reducen la vida en anaquel de los frutos de limón mexicano (Álvarez-Armenta et al., 2010). En este sentido, se han reportado pérdidas significativas en la calidad interna y externa en frutos de las variedades Colimex, Lise y Colimón sin ningún tratamiento, almacenadas a 22 ± 2 °C por seis días (Muñoz-Lazcano et al., 2011).

El uso de fitohormonas como: auxinas (Agustí et al., 2002), giberelinas (Jomori-Lye, Kluge, & Jacomino, 2003) y citocininas (Baéz-Sañudo, Tadeo, Primo-Millo, & Zacarías, 1993), se ha estudiado para evaluar su efecto en el retraso de los cambios relacionados con la senescencia en frutos cítricos. En estos frutos se han evaluado aplicaciones precosecha con ácido giberélico (AG_3) con el fin de retardar la senescencia, aumentar la firmeza del epicarpio, atrasar la cosecha y controlar desórdenes fisiológicos, todos con resultados contrastantes por efecto de la especie, variedad, dosis, forma de aplicación, entre otros (Ritenour, Burton, & McCollum, 2005). El objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto del tratamiento precosecha con AG_3 en el control del avance de la senescencia del fruto de tres variedades de limón mexicano, y su efecto en la calidad y vida en anaquel.

Materiales y métodos

El presente estudio utilizó frutos de limón mexicano de las variedades Colimex, Lise y Colimón, provenientes del Campo Experimental Tecomán, Colima, México, perteneciente al Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP); el cual se localiza en 32 msnm, con clima $BS_1(h')$, considerado como cálido semiseco, con temperatura promedio de 26 °C y precipitación media anual de 750 mm.

Previo a la cosecha, se conformaron dos grupos de tres árboles; al primero de ellos se aplicó ácido giberélico (AG_3) cuando los frutos alcanzaron 30 ± 2 mm de diámetro; al segundo grupo se le realizaron aplicaciones en dos oportunidades, cuando los frutos tuvieron 20 ± 2 mm y 30 ± 2 mm de diámetro. Un tercer grupo de seis árboles permaneció sin tratamiento. La solución de AG_3 con concentración de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ se preparó con ACTIVOL® GS granulado al 40 %; se usó como surfactante Penetrator® Plus a razón de $10 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$. A las 9:00 horas se asperjaron los frutos con 10 L de esta solución por árbol.

La cosecha de los frutos, con y sin AG_3 , se realizó cuando alcanzaron 39 ± 2 mm de diámetro (de acuerdo

Based on the above, the factors studied in this research were:

Number of pre-harvest GA_3 applications (zero, one or two). When two applications occurred, the fruits reached 20 ± 2 mm in diameter in the first, and 30 ± 2 mm in the second. In the case of one application, the fruits had 30 ± 2 mm in diameter.

Application of water-based wax in postharvest (with and without). This treatment consisted of immersing the fruits into the water-based wax (14 % Carnauba wax solids); then they were dried with airflow at room temperature.

From these levels, four treatments were generated (with a sample size of 60 fruits), which were: a pre-harvest GA_3 application and postharvest waxing (1- GA_3), two GA_3 applications and waxing (2- GA_3), postharvest waxing and without any treatment (control).

Subsequently, the fruits were stored for 10 days (22 ± 2 °C and 60 ± 5 % relative humidity), after which the following variables were determined:

Fruit weight loss (%). It was obtained with respect to initial fruit weight.

Color index (CI). This parameter was determined in whole fruit using the expression $CI = 1000a / bL$ (Jiménez, Cuquerella, & Martínez, 1981); parameters L, a, b were obtained with a HunterLab Model D25A optical sensor system, Reston, Virginia, USA.

Chlorophyll concentration ($mg \cdot 100 g^{-1}$). It was obtained from the epicarp by spectrometry, performing the extraction with acetone (AOAC, 1990).

Titrateable acidity (% with respect to citric acid).

Total soluble solids (TSS, in %). It was determined by the methods described by AOAC (1990).

Ascorbic acid concentration (mg ascorbic acid $\cdot 100 mL^{-1}$). It was determined by the 2,6-dichlorophenol-indophenol method (AOAC, 1980).

Determination of non-destructive variables, CI and weight loss, as well as destructive ones: chlorophyll, citric acid, TSS and ascorbic acid. It was performed on a sample composed of five replications of four fruits each. An analysis of variance based on a factorial treatment design in a completely randomized arrangement was performed, comparing the means of the treatments by the Tukey test ($P \leq 0.05$) using the Statistical Analysis System statistical package (SAS, 2002).

con los numerales 4 y 5 de la Norma mexicana: NMX-FF-087-SCFI-2001, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2014). Después de 12 h se trasladaron al laboratorio donde se acondicionaron por 12 h en temperatura ambiente, y posteriormente se seleccionaron por sanidad.

De acuerdo con lo anterior, los factores estudiados en la presente investigación fueron:

Número de aplicaciones (cero, una o dos) de AG_3 en precosecha. Cuando ocurrieron dos aplicaciones, los frutos alcanzaron 20 ± 2 mm, en la primera, y 30 ± 2 mm de diámetro, en la segunda. Si correspondió a una sola aplicación los frutos tuvieron 30 ± 2 mm de diámetro.

Aplicación de cera al agua en poscosecha (con y sin). Este tratamiento consistió en la inmersión en cera al agua (carnauba 14 % de sólidos) de los frutos; posteriormente fueron secados con flujo de aire a temperatura ambiente.

A partir de estos niveles se generaron cuatro tratamientos (con tamaño de muestra de 60 frutos), los cuales correspondieron con: una aplicación precosecha de AG_3 y encerados en poscosecha (1- AG_3), dos aplicaciones de AG_3 y encerados (2- AG_3), encerados en poscosecha (cera) y sin ningún tratamiento (testigo).

Posteriormente, los frutos se almacenaron por 10 días (22 ± 2 °C y 60 ± 5 % de humedad relativa), a los cuales se les determinó:

Pérdida de peso en fruto (%). Se obtuvo con respecto al peso inicial del fruto.

Índice de color (IC). Este parámetro se determinó en fruto entero mediante la expresión $IC = 1000a / bL$ (Jiménez, Cuquerella, & Martínez, 1981); los parámetros L, a, b se obtuvieron con colorímetro de reflexión HunterLab Modelo D25A, optical sensor, Reston, Virginia, USA.

Concentración de clorofila ($mg \cdot 100 g^{-1}$). Se obtuvo del epicarpio por espectrometría realizando la extracción con acetona (AOAC, 1990).

Ácido titulable (% con respecto al ácido cítrico).

Sólidos solubles totales (SST, en %). Determinados por los métodos descritos por la AOAC (1990).

Concentración de ácido ascórbico (mg ácido ascórbico $\cdot 100 mL^{-1}$). Empleando por el método del 2,6 diclorofenol-indofenol (AOAC, 1980).

La determinación de las variables no destructivas: IC y pérdida de peso, así como de las destructivas: clorofila,

Results and discussion

Significant differences in weight loss due to the treatment effect were observed (Table 1), being lower in fruits treated with one or two GA_3 applications compared to those treated with wax and those in the control. Several researchers (Báez-Sañudo et al., 1993; Tafolla-Arellano, González-León, Tiznado-Hernández, Zacarías-García, & Báez-Sañudo, 2013) have reported the cuticle's role in regulating water loss in fruits, as well as the effect, in Clementine mandarin (*Citrus reticulata* [Hort] Ex Tanaka, cv. Nules), of GA_3 treatments in maintaining the permeability of the flavedo cuticles by preventing their breaking due to changes in the lipid fraction related to senescence, which results in reducing water losses by transpiration; this allows GA_3 to take similar action in Mexican lime fruits.

Regarding the variety effect, Colimón fruits had the greatest weight loss (Table 2), a response suggested in the hypothesis concerning differences in changes related to the lipid fraction of cuticular waxes among the lime varieties studied. On the other hand, it has been reported that Mexican lime fruits with a weight loss of less than 6 - 7 % are suitable for marketing purposes (Muñoz-Lazcano et al., 2011), which allows establishing that only GA_3 -treated fruits had this condition after the established storage period and temperature. The variety \times treatment interaction (Table 3) indicated that the lower weight loss corresponded to the treatments with GA_3 , establishing that a single application was favorable for reducing this problem.

ácido cítrico, SST y ácido ascórbico, se realizó en una muestra conformada por cinco repeticiones de cuatro frutos cada una; se realizó un análisis de varianza de acuerdo con un diseño de tratamientos factorial en un arreglo completamente al azar, comparando las medias de los tratamientos mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), usando el paquete estadístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2002).

Resultados y discusión

Se observaron diferencias significativas en la pérdida de peso por efecto del tratamiento (Cuadro 1), resultando menor en los frutos tratados con una o dos aplicaciones de AG_3 , respecto de los tratados con cera y el testigo. Diversos investigadores (Báez-Sañudo et al., 1993; Tafolla-Arellano, González-León, Tiznado-Hernández, Zacarías-García, & Báez-Sañudo, 2013) han reportado el papel de la cutícula en la regulación de pérdida de agua en frutos; así como el efecto, en mandarina clementina (*Citrus reticulata* [Hort] Ex Tanaka, cv. Nules), de tratamientos con AG_3 en el mantenimiento de la permeabilidad de las cutículas del flavedo al evitar su rompimiento por cambios en la fracción lipídica relacionada con la senescencia, lo que se traduce en la reducción de las pérdidas de agua por transpiración; lo anterior permite asumir una acción similar del AG_3 en los frutos de limón mexicano.

En relación con el efecto variedad, los frutos de Colimón presentaron la mayor pérdida de peso (Cuadro 2); respuesta que plantea la hipótesis de diferencias

Table 1. Effect of pre-harvest treatment with GA_3 and waxing in postharvest on Mexican lime fruits stored at 22 ± 2 °C for 10 days.

Cuadro 1. Efecto del tratamiento precosecha con AG_3 y encerado en postcosecha en frutos de limón mexicano almacenados en 22 ± 2 °C durante 10 días.

Treatment/ Tratamiento	Weight loss (%)/ Pérdida de peso (%)	Color index/ Índice de color	TSS (%)/ SST (%)	Citric acid (%)/ Ácido cítrico (%)	Vitamin C (mg ascorbic acid-100 mL ⁻¹)/ Vitamina C (mg ácido ascórbico-100 mL ⁻¹)	Chlorophyll concentration (mg-100 g ⁻¹)/ Concentración de clorofila (mg-100 g ⁻¹)
Control/Testigo	9.28a*	-10.61a	7.22b	7.68a	35.41a	0.73b
Wax/Cera	8.90a	-11.78a	7.18b	7.26b	34.96a	0.74b
$AG_3(1)$ +Wax/ $AG_3(1)$ +Cera	6.99b	-15.92b	7.56a	7.69a	39.85a	0.85a
$AG_3(2)$ +Wax/ $AG_3(2)$ +Cera	6.64b	-16.05b	7.53a	7.78a	39.26a	0.87a
HSD/DMSH	1.04	1.64	0.14	0.36	7.02	0.10

*Means with the same letters in each column do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$).

HSD: honestly significant difference.

*Medias con letras iguales en cada columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$).

DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

Table 2. Effect of pre-harvest applications with GA₃ and waxing in postharvest on fruits of three Mexican lime varieties stored at 22 ± 2 °C for 10 days.

Cuadro 2. Efecto de aplicaciones precosecha con AG₃ y encerado en postcosecha en frutos de tres variedades limón mexicano almacenados en 22 ± 2 °C durante 10 días.

Variety/ Variedad	Weight loss (%)/ Pérdida de peso (%)	Color index/ Índice de color	TSS (%)/ SST (%)	Citric acid (%)/ Ácido cítrico (%)	Vitamin C (mg ascorbic acid·100 mL ⁻¹)/ Vitamina C (mg ácido ascórbico·100 mL ⁻¹)	Chlorophyll concentration (mg·100 g ⁻¹)/ Concentración de clorofila (mg·100 g ⁻¹)
Colimón	8.76a*	-11.09a	7.29b	7.43a	38.88a	0.69b
Colimex	7.85b	-14.80b	7.45a	7.66a	39.33a	0.85a
Lise	7.25b	-14.88b	7.36a	7.71a	33.89a	0.84a
HSD/DMSH	0.82	1.29	0.1	0.28	5.5	0.09

*Means with the same letters in each column are statistically equal (Tukey, $P \leq 0.05$).

HSD: honestly significant difference.

*Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

The CI results revealed significant differences due to the effect of the treatments, with the fruits treated with one or two GA₃ applications being those that after 10 days of storage at 22 ± 2 °C had values corresponding to a greener tone, which was confirmed when the treatments showed a higher chlorophyll concentration in the epicarp compared to those that were only waxed and the control (Table 1). This allows assuming that the pre-harvest application of GA₃, at the dose and fruit growth stages established, is effective in slowing the degradation of chlorophyll due to the effect of the progress of senescence in postharvest, thus prolonging shelf life.

Increases in chlorophyll content and delay of senescence due to GA₃ applications in citrus as have been reported by several researchers studying ways to delay the harvest (García-Luís, Herrero-Villén, & Guardiola, 1992; McDonald, Greany, Shaw, & Mccollum, 1997; Porat et al., 2001). On the other hand, the fruits of the Colimex and Lise varieties presented, significantly, CI values corresponding to a greener tone, compared to the Colimón variety. This suggests that the latter has greater metabolic activity in postharvest, resulting in a faster degradation of chlorophyll; the lowest concentration of this pigment quantified in this variety confirms this response (Table 2). The results of the variety × treatment interaction (Table 3) confirm the positive effect of GA₃ applications in slowing the loss of the epicarp's green color, with only one application being effective.

The statistical analysis showed that, in treatments with GA₃, TSS increased significantly compared to the waxed fruit and the control (Tables 1 and 3). For its part, the percentage of TSS was higher in the Colimex and Lise varieties than in Colimón (Tables 2 and 3). As in other

en los cambios relacionados con la fracción lipídica de ceras cuticulares entre las variedades de limón estudiadas. Por otro lado, se ha reportado que frutos de limón mexicano con pérdida de peso menor que 6 - 7 % resultan aceptables con fines de comercialización (Muñoz-Lazcano et al., 2011); lo que permite establecer que sólo los frutos tratados con AG₃ presentaron esta condición después del periodo y temperatura de almacenamiento establecidos. La interacción variedad × tratamiento (Cuadro 3) indicó que la menor pérdida de peso correspondió a los tratamientos con AG₃, lo que permite establecer que una sola aplicación resulta favorable para reducir este problema.

Los resultados del IC revelaron diferencias significativas por efecto de los tratamientos, siendo los frutos tratados con una o dos aplicaciones de AG₃ los que después de 10 días de almacenamiento en 22 ± 2 °C, presentaron valores correspondientes a una tonalidad más verde; lo cual se confirmó cuando los tratamientos mostraron mayor concentración de clorofila en el epicarpio, respecto de los que únicamente se enceraron y el testigo (Cuadro 1). Lo anterior permite asumir que la aplicación precosecha de AG₃, en la dosis y en los estados de crecimiento de fruto establecidos, resulta efectiva para retardar la degradación de clorofila por efecto del avance de la senescencia en postcosecha, permitiendo con esto una mayor vida en anaquel.

Incrementos en el contenido de clorofila y retardo de la senescencia por aplicaciones de AG₃ en cítricos han sido reportados por diversos investigadores con el objetivo de demorar la cosecha (García-Luís, Herrero-Villén, & Guardiola, 1992; McDonald, Greany, Shaw, & Mccollum, 1997; Porat et al., 2001). Por otro lado, los frutos de las variedades Colimex y Lise presentaron, significativamente, valores de IC correspondientes a

citruses, sugar accumulation in Mexican lime fruits occurs during growth and maturation, by the source-demand mechanism (Iglesias et al., 2007). Postharvest, the sugar content tends to decrease with advancing senescence, due to the interconversion of sugars to other compounds (Yun et al, 2013.), which explains the higher TSS concentration in GA_3 -treated fruits due to presenting less progress of this physiological event.

tonalidad más verde, en comparación con la variedad Colimón. Lo anterior sugiere que esta última presenta mayor actividad metabólica en postcosecha, que se traduce en una degradación de clorofila más acelerada; la menor concentración de este pigmento cuantificada en esta variedad confirma esta respuesta (Cuadro 2). Los resultados de la interacción variedad \times tratamiento (Cuadro 3) confirman el efecto positivo de las

Table 3. Effect of Variety \times Treatment interaction on Mexican lime fruits with and without GA_3 application and stored at $22 \pm 2^\circ\text{C}$ for 10 days.

Cuadro 3. Efecto de la interacción Variedad \times Tratamiento en frutos de limón mexicano con y sin aplicación de AG_3 almacenados en $22 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 10 días.

Variety \times Treatment / Variedad \times Tratamiento		Weight loss (%) / Pérdida de peso (%)	Color index / Índice de color	TSS (%) / SST (%)	Citric acid (%) / Ácido cítrico (%)	Vitamin C (mg ascorbic acid $\cdot 100\text{ mL}^{-1}$) / Vitamina C (mg ácido ascórbico $\cdot 100\text{ mL}^{-1}$)	Chlorophyll concentration ($\text{mg} \cdot 100\text{ g}^{-1}$) / Concentración de clorofila ($\text{mg} \cdot 100\text{ g}^{-1}$)
Colimex	$AG_3(1)+W /$ $AG_3(1)+C$	5.96g*	-16.35ef	7.66 ^{ab}	7.86 a	40.5d	0.90a
Colimex	$AG_3(2)+W /$ $AG_3(2)+C$	6.06g	-17.30f	7.63a	7.56a	42.7c	0.87a
Colimex	Wax / Cera	9.10c	-14.42de	7.26ab	7.36a	36.9f	0.83a
Colimex	Control / Testigo	10.29a	-11.14bc	7.23bc	7.83a	37.3e	0.83a
Colimón	$AG_3(1)+W /$ $AG_3(1)+C$	8.37d	-14.14de	7.46ab	7.43a	43.6b	0.77ab
Colimón	$AG_3(2)+W /$ $AG_3(2)+C$	7.33e	-14.22de	7.40ab	7.76a	44.4a	1.03a
Colimón	Wax / Cera	9.38c	-9.27ab	7.13c	7.16a	34.7h	0.5bc
Colimón	Control / Testigo	9.97b	-6.71a	7.23c	7.36a	32.9j	0.47c
LISE	$AG_3(1)+W /$ $AG_3(1)+C$	6.65f	-17.26f	7.53ab	7.76a	34.7h	0.87ab
LISE	$AG_3(2)+W /$ $AG_3(2)+C$	6.54f	-16.61ef	7.56ab	8.0a	36.0g	0.7ab
LISE	Wax / Cera	8.22d	-13.99bc	7.13c	7.23a	33.3i	0.90a
LISE	Control / Testigo	7.57e	-11.66bc	7.2c	7.83a	31.6k	0.90a
HSD / DMSH		2.94	1.89	0.41	0.89	0.05	0.32

*Means with the same letters in each column are statistically equal (Tukey, $P \leq 0.05$).

HSD: honestly significant difference.

*Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$).

DMSH: diferencia mínima significativa honesta.

In relation to citric acid, treatments with GA_3 and waxing had, after 10 days at 22 ± 2 °C, a significantly higher concentration compared to the control (Table 1). It has been reported (El-Otmani & Coggins, 1991) that, in citrus, treatment with GA_3 applied pre-harvest decreases the postharvest loss of citric acid; this same behavior has been observed in Mexican lime fruits with GA_3 applications and stored after harvest, without waxing, at 9 ± 1 °C for 35 days (Álvarez et al., 2010). It should be noted that no significant differences among varieties were observed (Table 2); the same occurred with the variety \times treatment interaction (Table 3), so it is assumed that the treatment did not affect the concentration of this compound.

As for the ascorbic acid concentration, although no significant differences between the treatment and variety factors were observed (Tables 1 and 2), the variety \times treatment interaction (Table 3) showed that the fruits with GA_3 applications significantly increased their concentration of this vitamin, particularly with two applications; moreover, this response was more evident in the Colimex and Lise varieties. It has been noted that, in postharvest, the decrease in ascorbic acid occurs due to, among other factors, conditions that favor water loss (Lee & Kader, 2000), a response that was evidenced by the fruits of the Colimex and Lise varieties, which had less weight loss.

Conclusions

Pre-harvest treatments with GA_3 , at a concentration of $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, in fruits of Mexican lime varieties Colimex, Colimón and Lise, with one (20 ± 2 mm in diameter) or two applications (20 ± 2 and 30 ± 2 mm in diameter), waxed postharvest (14 % Carnauba) and stored at 20 ± 2 °C for 10 days, slow the progress of senescence by presenting less physiological weight loss, an epicarp with a higher chlorophyll concentration and greener tone, and a higher concentration of citric acid and TSS in juice. For cost reasons, a single application is recommended. The treatment with two applications has a higher concentration of ascorbic acid, which increases the nutritional quality. Delay of senescence, as a function of the above-mentioned parameters, is more effective in the Colimex and Lise varieties, keeping, therefore, their quality longer, resulting in a longer shelf life compared to the Colimón variety.

aplicaciones de AG_3 para retardar la pérdida de color verde del epicarpio, siendo efectiva una sola aplicación.

El análisis estadístico mostró que, en los tratamientos con AG_3 , los SST se incrementaron de manera significativa, en comparación con los frutos encerados y el testigo (Cuadros 1 y 3). Por su parte, el porcentaje de SST fue mayor en las variedades Colimex y Lise, en relación con Colimón (Cuadros 2 y 3). Al igual que en otros cítricos, la acumulación de azúcares en los frutos de limón mexicano se presenta durante el crecimiento y maduración, por el mecanismo fuente-demanda (Iglesias et al., 2007). En postcosecha, el contenido de azúcares tiende a disminuir al avanzar la senescencia, debido a su interconversión a otros compuestos (Yun et al., 2013); lo cual explica la mayor concentración de SST de los frutos tratados con AG_3 al presentar menor avance de dicho evento fisiológico.

En relación con el ácido cítrico, los tratamientos con AG_3 y encerados presentaron, después de 10 días en 22 ± 2 °C, significativamente mayor concentración con respecto al testigo (Cuadro 1). Se ha reportado (El-Otmani & Coggins, 1991) que, en cítricos, el tratamiento con AG_3 aplicado en precosecha disminuye la pérdida de ácido cítrico en postcosecha; este mismo comportamiento se ha observado en frutos de limón mexicano con aplicaciones de AG_3 y tras la cosecha almacenados, sin encerar, en 9 ± 1 °C por 35 días (Álvarez et al., 2010). Es de señalar que entre variedades no se observaron diferencias significativas (Cuadro 2); lo mismo ocurrió con la interacción variedad \times tratamiento (Cuadro 3), por lo que se asume que el tratamiento no afectó la concentración de este compuesto.

En cuanto a la concentración de ácido ascórbico, si bien no se observaron diferencias significativas entre los factores tratamiento y variedad (Cuadros 1 y 2), la interacción variedad \times tratamiento (Cuadro 3) mostró que los frutos con las aplicaciones de AG_3 incrementaron significativamente la concentración de esta vitamina, principalmente con dos aplicaciones; además, esta respuesta fue más evidente en las variedades Colimex y Lise. Se ha señalado que, en postcosecha, el descenso de ácido ascórbico ocurre, entre otros factores, por condiciones que favorecen la pérdida de agua; respuesta que quedó evidenciada al obtener los frutos de las variedades Colimex y Lise (Lee & Kader, 2000), los cuales presentaron la menor baja de peso.

Conclusiones

Los tratamientos precosecha con AG_3 en concentración de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, en frutos de limón mexicano variedades Colimex, Colimón y Lise, con una (20 ± 2 mm de diámetro) o dos aplicaciones (20 ± 2 y 30 ± 2 mm de diámetro), encerados en postcosecha (Carnauba

End of English version

References / Referencias

- Agustí, M., Zaragoza, S., Iglesias, D. J., Almela, V., Primo-Millo, E., & Talón, M. (2002). The synthetic auxin 3,5,6-TPA stimulates carbohydrate accumulation and growth in citrus fruit. *Plant Growth Regulation*, 36(2), 141-147. doi: 10.1023/A:1015077508675
- Álvarez-Armenta, R., Saucedo-Veloz, C., Chávez-Franco, S., Medina-Urrutia, V., Colinas-León, M. T., & Báez-Sañudo, R. (2010). Aplicación de ácido giberélico en precosecha y cera en postcosecha a frutos de limón mexicano. *Revista Mexicana en Ciencias Agrícolas*, 1(1), 95-100. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342010000100010&script=sci_arttext
- AOAC (1980). *Official Methods of Analysis of AOAC*. 13th, Horwitz, W. (Ed). Washington D. C. USA. 746 p.
- AOAC (1990). *Official Methods of Analysis of AOAC*. 15th, Sidney W. (Ed). Washington, D. C. USA. 1094 p.
- Báez-Sañudo, R., Tadeo, F. R., Primo-Millo, E., & Zacarías, L. (1993). Physiological and ultrastructural changes during the ripening and senescence of Clementine mandarin. *Acta Horticulturae*, 343, 18-24. doi: 10.17660/ActaHortic.1993.343.4
- El-Otmani, M. & Coggins, C. W. (1991). Growth regulator effects on retention of quality of stored citrus fruits. *Scientia Horticulturae*, 45(3-4), 261-272. doi: 10.1016/0304-4238(91)90072-7
- García-Luís, A., Herrero-Villén, A., & Guardiola, J. L. (1992). Effects of applications of gibberellic acid on late growth, maturation and pigmentation of the Clementine mandarin. *Scientia Horticulturae*, 49(1-2), 71-81. doi: 10.1016/0304-4238(92)90144-2
- Goldschmidt, E. E. (2000). Maturation of citrus fruit: Hormonal and molecular regulation of chlorophyll breakdown and other processes. *Proceedings International Society of Citriculture*, 1, 364-366. Recuperado de http://internationalsocietyofcitriculture.org/congressproceedings/florida2000/2000_0364.pdf
- Iglesias, D. J., Cercós, M., Colmenero-Flore, J. M., Naranjo, M. A., Ríos, G., Carrera, E., Ruiz-Rivero, O., Lliso, I., Morillon, R., Tadeo, F. R., & Talon, M. (2007). Physiology of citrus fruiting. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(4), 333-362. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/bjpp/v19n4/a06v19n4>
- Jacob, R., Hasegawa, S., & Manners, G. (2000). The potential of Citrus Limonoids as Anticancer Agents. *Perishables Handling Quarterly*, 102, 6-8. Recuperado de <http://ucanr.edu/datastoreFiles/234-200.pdf>
- Jiménez-Cuesta, M., Cuquerella, J., & Martínez-Javaga, J. M. (1982). Determination of color index for fruit degreening. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 2, 750-753. Recuperado de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302640817>
- Jomori-Lye, M. L., Kluge, A. R., & Jacomino, A. P. (2003). Cold storage of 'Tahiti' lime treated with 14 %) y almacenados a 20 ± 2 °C por 10 días, retardan el avance de la senescencia al presentar menor pérdida fisiológicas de peso, epicarpio con mayor concentración de clorofila y tonalidad más verde, así como mayor concentración de ácido cítrico y de SST en jugo. Con fines de costos es recomendada una sola aplicación. El tratamiento con dos aplicaciones presenta mayor concentración de ácido ascórbico, con lo cual se incrementa la calidad nutricional. El retardo de la senescencia, en función de los parámetros mencionados, es más efectivo en las variedades Colimex y Lise, manteniendo, por lo tanto, mayor tiempo su calidad, lo que se traduce en una vida en anaquel más prolongada respecto de la variedad Colimón.
- Fin de la versión en español*
- 1-Methylcyclopropene. *Scientia Agrícola*, 60(4), 785-788. doi: 10.1590/S0103-90162003000400027
- Kader, A. A. (2000). Quality of horticultural products. *Acta Horticulturae*, 517, 17-18. Recuperado de <http://ucanr.edu/datastoreFiles/234-168.pdf>
- Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20(3), 207-220. doi: 10.1016/S0925-5214(00)00133-2
- Liu, Y., Heying, E., & Tanumihardjo, S. A. (2012). History, global distribution and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(6), 530-545. doi: 10.1111/j.1541-4337.2012.00201.x
- Mcdonald, R. E., Greany, P. D., Shaw, P. E., & Mccollum, T. G. (1997). Preharvest applications of gibberellic acid delay senescence of Florida grapefruit. *Journal. Horticultural Science*, 72(3), 461-468. doi: 10.1080/14620316.1997.11515534
- Muñoz-Lazcano, A. A., Saucedo-Veloz, C., García-Orsorio, C., & Robles-González, M. (2011). Evaluación de la calidad y tiempo de almacenamiento del fruto de tres variedades de limón mexicano. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 12(2), 156-163. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/813/813209000006.pdf>
- Plattner, K. (2014). Fresh market limes. Fruits and tree nuts outlook: economic insight. *Economic Research Service*, USDA, 9p. Recuperado de <http://www.ers.usda.gov/media/1679187/fresh-market-limes-special-article.pdf>
- Porat, R., Feng, X., Huberman, M., Galili, D., Goren, R., & Goldschmidt, E. E. (2001). Gibberellic acid slows postharvest degreening of 'oroblanco' citrus fruits. *HortScience*, 36(5), 937-940. Recuperado de <http://hortsci.ashspublications.org/content/36/5/937.full.pdf+html>
- Ritenour, M. A., Burton, M. S., & McCollum, G. (2005). Effects of pre or postharvest gibberellic acid application on quality of Florida 'Fallglo' tangerines and 'Ruby' red

- grapefruit. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 118, 385-388. Recuperado de <http://fshs.org/proceedings-o/2005-vol-118/118/385-388.pdf>.
- Robles-González, M. M., Carrillo-Medrano, S. H., Manzanilla-Ramírez, M. A., Velázquez-Monreal, J., & Medina-Urrutia, V. M. (2010). Mejoramiento Genético de limón mexicano: Avances y perspectivas. *VI Simposium Internacional Citrícola*, Tecomán, Colima, México, 93-110. Recuperado de <http://www.colimaproduce.net/SIMPOSIO/archivos/DIAPOSITIVA11.pdf>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2014). NMX-FF-087 SCFI-2001. *Productos alimenticios no industrializados para el consumo humano-fruta fresca-limón mexicano (citrus aurantifolia Swingle)*. Consultado 30-11-2014 en http://2006-2012.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Lists/Instrumentos%20Tcnicos%20Normalizacin%20y%20Marcas%20Colecti/Attachments/94/NMX_LIMON_MEXICANO.pdf
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2014). Consultado el 30-11-2014 en <http://www.siap.gob.mx>
- Statistical Analysis System (SAS Institute). (2002). *SAS/STAT. 9.0, user's guide*. Cary, NC, USA: Author
- Tafolla-Arellano, J. C., González-León, A., Tiznado-Hernández, M. E., Zacarías-García, L., & Báez-Sañudo, R. (2013). Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1), 3-12. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-73802013000100001&script=sci_arttext
- Yun, Z., Gao, H., Liu, P., Liu, S., Luo, T., Jin, S., Xu, Q., Xu, J., Cheng, Y., & Deng, X. (2013). Comparative proteomic and metabolic profiling of citrus fruit with enhancement of disease resistance by postharvest heat treatment. *BMC Plant Biology*, 13, 44. doi: 10.1186/1471-2229-13-44