# Influencia del material vegetal y del riego por aspersión en la coloración de variedades rojas de manzana (Malus domestica Borkh)

Ignasi Iglesias Castellarnau

I S B N: 84-89727-64-3 Depósito Legal: S. 54-98

Servei de Publicacions Universitat de Lleida

TESITEX, S.L. c/. Melchor Cano, 15
Télf. 923 - 25 51 15
Fax 923 - 25 87 03
37007 SALAMANCA

## ÍNDICE GENERAL

**ABREVIATURAS** 

**RESUMEN** 

INTRODUCCIÓN

- 1.- SITUACIÓN Y PERSPECTIVAS DEL SECTOR DE LA FRUTA DULCE
- 2.- PRODUCCIÓN DE LAS PRINCIPALES VARIEDADES DE MANZANA
- 3.- EL COLOR DE LAS MANZANAS
  - 3.1.- El color como factor de calidad: importancia económica
  - 3.2.- Formación del color
    - 3.2.1.- Principales pigmentos presentes en la piel de las manzanas
    - 3.2.2.- Vías de síntesis de los flavonoides. La enzima fenilalanina amonioliasa (PAL)
    - 3.2.3.- Desarrollo del fruto y relación con la síntesis de antocianos
    - 3.2.4.- Regulación de la formación y represión de antocianos
      - 3.2.4.1.- Factores de control endógeno en la biosíntesis de antocianos
      - 3.2.4.2.- Factores de control externo en la biosíntesis de antocianos
  - 3.3.- Influencia de la temperatura en la síntesis de antocianos
    - 3.3.1.- Efectos de los cambios de temperatura
    - 3.3.2.- Influencia del riego refrescante en el desarrollo del fruto y en la coloración de las variedades rojas de manzana
  - 3.4.- Material vegetal
    - *3.4.1.- Patrones*
    - 3.4.2.- Variedades
      - 3.4.2.1.- Distribución de antocianos en la piel de la manzanaKS
      - 3.4.2.2.- Coloración de las variedades del grupo 'Red Delicious'
  - 3.5.- El color y su medida
    - 3.5.1.- Espacio físico de colores definido por la Commissión Internationale de <u>l'Eclairage (C.I.E.)</u>
    - 3.5.2.- Medida del color en las manzanas

#### **OBJETIVOS**

## CAPÍTULO I:INFLUENCIA DEL RIEGO POR ASPERSIÓN EN LA COLORACIÓN DE

VARIEDADES ROJAS DE MANZANA (Malus Domestica Borkh.)

I.- INTRODUCCIÓN

II. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 1.-MATERIAL

- 1.1.- Variedades
- 1.2.- Patrones
- 1.3.- Características de las fincas

1.3.1- Situación

1.3.2- Suelo

- 1.4.- Características climáticas
  - 1.4.1.- Temperatura
  - 1.4.2.- Pluviometría e higrometría
  - 1.4.3- Seguimiento de las temperaturas y de la humedad relativa ambiental
- 1.5.- Características de las plantaciones
- 1.6.- Técnicas culturales

- 1.6.1.- Riego y riego refrescante
- 1.6.2.- Características del riego y material utilizado
- 1.6.3.- Fertilización y mantenimiento del suelo
- 1.6.4.- Tratamientos fitosanitarios y hormonales

#### 2.- MÉTODOS

- 2.1.- Metodología de trabajo
  - 2.1.1.- Plan de trabajo
  - 2.1.2.- Recogida de muestras
- 2.2.- Medida del color de las manzanas
- 2.3.- Determinación del contenido de antociano
- 2.4.- Análisis de la actividad enzimática de la fenilalanina amonioliasa (PAL)
  - 2.4.1.- Condiciones y preparación de las muestras
  - 2.4.2.- Determinación de la actividad enzimática de la PAL
- 2.5.- Determinación de parámetros de madurez y calidad en frutos
- 2.6.- Estimación de la fecha de recolección
- 2.7.- Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos
  - 2.7.1.- Diseño experimental
  - 2.7.2.- Tratamiento estadístico

## III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- 1.-VARIEDADES 'EARLY RED ONE' Y 'OREGÓN SPUR': AÑOS 1992, 1993 Y 1994
  - 1.1.- Análisis de las condiciones climáticas de los años 1992, 1993 y 1994
  - 1.2.- Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura y en la humedad relativa ambiental
  - 1.3.- Efecto del riego por aspersión en la evolución de los parámetros colorimétricos del fruto
  - 1.4.- Efecto del riego por aspersión en el contenido de antocianos del fruto
  - 1.5.- Significación de factores principales y de sus interacciones
  - 1.6.- Análisis conjunto años 1992, 1993 y 1994. Influencia de los factores riego, año y variedad
    - 1.6.1.- Parámetros colorimétricos
    - 1.6.2.- Contenido de antocianos
  - 1.7.- Evolución de la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL)
  - 1.8.- Relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos del fruto
  - 1.9.- Influencia del riego refrescante en los parámetros de calidad del fruto
  - 1.10.- Conclusiones
- 2.- VARIEDAD 'TOPRED DELICIOUS': AÑOS 1993 Y 1994
  - 2.1.- Análisis de las condiciones climáticas de los años 1993 y 1994
  - 2.2.- Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura y en la humedad relativa ambiental
  - 2.3.- Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura interna de los frutos
  - <u>2.4.-</u> Efecto del riego por aspersión en la evolución de los parámetros colorimétricos del fruto
  - 2.5.- Efecto del riego por aspersión en el contenido de antocianos del fruto
  - 2.6.- Significación de factores principales y de sus interacciones
  - 2.7.- Análisis conjunto años 1993 y 1994. Influencia de los factores riego y

<u>año</u>

#### 2.7.1.- Parámetros colorimétricos

- 2.7.2.- Contenido de antocianos
- 2.8.-Efecto del riego refrescante en los porcentages de cosecha
- 2.9.- Relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos del fruto
- 2.10.- Influencia del riego refrescante en los parámetros de calidad del fruto
- 2.11.- Conclusiones

## 3.- VARIEDAD 'MONDIAL GALA': AÑOS 1993 Y 1994

- 3.1.- Análisis de las condiciones climáticas de los años 1993 y 1994
- 3.2.- Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura y en la humedad ambiental
- 3.3.- Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura interna de los frutos
- 3.4.- Efecto del riego por aspersión en la evolución de los parámetros colorimétricos del fruto
- 3.5.- Efecto del riego por aspersión en el contenido de antocianos del fruto
- 3.6.- Significación de factores principales y de sus interacciones
- 3.7.- Análisis conjunto años 1993 y 1994. Influencia de los factores riego y año
  - 3.7.1.- Parámetros colorimétricos
  - 3.7.2.- Contenido de antocianos
- 3.8.- Efecto del riego refrescante en los porcentages acumulados de cosecha
- 3.9.- Efecto de las condiciones ambientales en la síntesis de antocianos
- 3.10.- Relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos del fruto
- 3.11.- Influencia del riego refrescante en los parámetros de calidad del fruto
- 3.12.- Conclusiones

## 4.- VARIEDAD 'STARKING DELICIOUS': AÑOS 1993 Y 1994

- 4.1.- Análisis de las condiciones climáticas de los años 1993 y 1994
- 4.2.- Efecto del riego por aspersión en la temperatura y en la humedad relativa ambiental
- <u>4.3.-</u> Efecto del riego por aspersión en la evolución de los parámetros colorimétricos del fruto
- 4.4.- Efecto del riego por aspersión en el contenido de antocianos del fruto
- 4.5.- Significación de factores principales y de sus interacciones
- 4.6.- Análisis conjunto años 1993 y 1994. Influencia de los factores riego y año
  - 4.6.1.- Parámetros colorimétricos
  - 4.6.2.- Contenido de antocianos
- 4.7.- Relación entre las condiciones ambientales y la síntesis de antocianos
- 4.8.- Evolución de la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL)
- 4.9.- Relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos del fruto
- <u>4.10.- Influencia del riego por aspersión en los parámetros de calidad del fruto</u> 4.11.- Conclusiones
- CAPÍTULO II: INFLUENCIA DEL MATERIAL VEGETAL EN LA COLORACIÓN DE VARIEDADES ROJAS DE MANZANA (Malus Domestica Borkh.)

## I.- INTRODUCCIÓN

#### II. MATERIAL Y MÉTODOS

- 1.- MATERIAL
  - 1.1.- Variedades
  - 1.2.- Patrones
  - 1.3.- Características de la finca experimental
    - 1.3.1.- Situación
    - 1.3.2.- Suelo
  - 1.4.- Características climáticas
  - 1.5.- Características de la plantación
  - 1.6.- Técnicas culturales

#### 2.- MÉTODOS

- 2.1.- Metodología de trabajo
  - 2.1.1.- Plan de trabajo
  - 2.1.2.- Recogida de muestras
- 2.2.- Medida del color de las manzanas
- 2.3.- Determinación del contenido de antocianos
- 2.4.- Determinación de los parámetros de madurez y calidad en frutos
- 2.5.- Estimación de la fecha de recolección
- 2.6.- Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos
  - 2.6.1.- Diseño experimental
  - 2.6.2.- Tratamiento estadístico

#### III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- 1.- FECHAS DE FLORACIÓN EN LOS AÑOS 1992, 1993, 1994
- 2.- ANÁLISIS DE LAS CONDICIONES CLIMÁTICAS DE LOS AÑOS 1992, 1993 Y 1994
- 3.- EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS COLORIMÉTRICOS DEL FRUTO
- 4.- EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO DE ANTOCIANOS
- 5.- SIGNIFICACIÓN DE FACTORES PRINCIPALES Y DE SUS INTERACCIONES
- 6.- ANÁLISIS CONJUNTO DE LOS AÑOS 1992, 1993 Y 1994
  - 6.1.- Parámetros colorimétricos
  - 6.2.- Contenido de antocianos
- 7.- RELACIÓN ENTRE LOS VALORES DE CROMATICIDAD Y EL
- CONTENIDO DE ANTOCIANOS DEL FRUTO
- 8.-PARÁMETROS DE CALIDAD DEL FRUTO
- 9.- VIGOR Y PRODUCTIVIDAD
- 10.- CONCLUSIONES

**CONCLUSIONES GENERALES** 

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOTECA VIRTUAL

Als meus pares, a la meva dona, al David i a la Mònica (els meus fills)

BIBLIOTECA VIRTUAL



#### **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas y instituciones que han hecho posible que la presente Tesis viera la luz, en especial dejar constancia de:

En primer lugar al Dr. Jordi Graell Sarle, por ofrecerse a dirigir y tutorar la Tesis. Sus ideas y sugerimientos permitieron el planteamiento de las primeras experiencias, mientras que sin su esmerado empeño en la redacción final y sus sabios consejos este trabajo nunca se hubiera realizado.

La Dra. Inmaculada Recasens Ginjuan, ampliamente conocedora del tema, quién proporcionó sugerencias muy importantes para el planteamiento de las experiencias y presentación de los resultados.

El Sr. Jordi Voltas Velasco, que con tanta clarividencia supo abordar los innumerables problemas estadísticos y solucionar pacientemente las múltiples dudas planteadas en la presente Tesis.

El Dr. Ignacio Romagosa Clariana, por la inestimable ayuda en el planteamiento y resolución de los modelos estadísticos de las diferentes experiencias, incluso en aquellas donde el elevado numero de factores en las interacciones, sobrepasaba la capacidad del entendimiento.

Los señores Josep Reñe Torres, Manel Cervera Latorre, Robert Simó Altisent, Ramón Melis Guasch, por poner a disposición las parcelas donde se realizaron las experiencias.

El Area de Postcollita del Centro UdL-IRTA donde se realizaron las determinaciones del color y los análisis de calidad de los frutos; así como a su personal de laboratorio, especialmente a Angels Asensio Fontova.

A l'Estació Experimental de Lleida y a su Director Ricard Dalmau Barbaroja, por dar soporte temporal, para la realización de la Tesis.

A aquellos estudiantes de la ETSIA de Lleida, que colaboraron en la realización de parte de las experiencias de la presente Tesis.

A ellos y a muchas más personas, mi agradecimiento.

BIBLIOTECA VIRTUAL



a = Coordenada de color. Sistema Hunter.

a\*= Coordenada de color. Sistema CIELAB.

a\*<sub>0</sub>= Coordenada de color inicial. Sistema CIELAB.

ABA = Acido abscísico.

Abs= Absorbancia.

Arctan = Arco tangente.

b = Coordenada de color. Sistema Hunter.

b\* = Coordenada de color. Sistema CIELAB.

b\*<sub>0</sub>= Coordenada de color inicial. Sistema CIELAB.

BV = Azul violeta.

°C = Grado Celsius.

cm<sup>2</sup>= Centímetro cuadrado.

CoA = Coenzima A.

DARP = Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca.

DE\* = Vector especial de cromaticidad. Sistema CIELAB.

EE.UU. = Estados Unidos de América.

AE\* = Incremento o diferencia de color entre la muestra y el punto de referencia. Sistema CIELAB.

FR = Rojo lejano.

GA<sub>3</sub>= Acido giberélico.

g = Gramo.

h = Hora.

HIR= Respuesta de alta energía.

kg = Kilogramo.

1 = Litro.

L = Luminosidad. Sistema Hunter.

L\*= Luminosidad. Sistema CIELAB.

L\*<sub>0</sub>= Luminosidad inicial. Sistema CIELAB.

MAPA = Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

MDS = Mínima Diferencia Significativa.

ml = Milílitro.

mm = Milímetro.

nkat = Enzima necesario para la formación de 1 nmol

de producto/segundo.

nmol = Nanomol.

PAL = Fenilalanina amonioliasa.

PAL-IS = Sistema de Inactivación de la PAL.

ppm = Partes por millón.

RNA = Acido ribonucleico.

rpm = Revoluciones por minuto.

s = Segundo.

UE = Unión Europea.

UV = Ultra violeta.

x = Coordenada tricromática del color. Sistema CIE.

X = Valor triestímulo del color. Sistema CIE.

 $X_0$ = Valor triestímulo del color correspondiente al estímulo de referencia blanco. Sistema CIE.

y = Coordenada tricromática del color. Sistema CIE.

Y = Valor triestímulo del color. Sistema CIE.

 $Y_0$ = Valor triestímulo del color correspondiente al estímulo de referencia blanco. Sistema CIE.

z = Coordenada tricromática del color. Sistema CIE.

Z = Valor triestímulo del color. Sistema CIE.

 $Z_0$ = Valor triestímulo del color correspondiente al estímulo de referencia blanco. Sistema CIE.



BIBLIOTECA VIRTUAL



Se ha profundizado en el estudio de los principales mecanismos bioquímicos que intervienen en la coloración de variedades rojas de manzana, y de la influencia que en los mismos ejercen los factores ambientales, especialmente la temperatura y el material vegetal. Así, se ha estudiado el efecto que tiene en la coloración la modificación de las condiciones ambientales mediante el riego por aspersión; por otra parte se ha evaluado el comportamiento agronómico de nuevas variedades, en lo que se refiere fundamentalmente a la mejora del color, con respecto a otras tradicionalmente cultivadas.

La primera alternativa objeto de estudio ha consistido en **la aplicación del riego por aspersión** en variedades del grupo 'Red Delicious' y en 'Mondial Gala', durante los años 1992, 1993 y 1994, exponiéndose los resultados en el Capítulo I. Así, en las variedades del grupo 'Red Delicious': 'Early Red One' y 'Oregón Spur', se aplicó el riego refrescante por aspersión, durante los tres años mencionados, en dos momentos del día y durante dos horas diarias: anochecer (21-23 h) y mediodía (15-17 h). El riego se inició entre 4 y 6 semanas antes de la recolección. En las variedades 'Topred Delicious' y 'Mondial Gala', las experiencias se realizaron durante los años 1993 y 1994, evaluándose las mismas estrategias de riego expuestas anteriormente, a excepción de 'Topred Delicious' que, en 1994, se añadió una nueva estrategia: riego al amanecer (6-8 h). Finalmente, con la variedad 'Starking Delicious' se procedió durante los años 1993 y 1994, a estudiar el efecto de dos sistemas de riego: a manta y por aspersión, en la coloración y en la calidad del fruto.

Para cada uno de los ensayos de riego expuestos, se determinó la evolución del contenido de antocianos de los frutos y de sus correspondientes parámetros colorimétricos (L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, DE\*, Tono y Saturación), determinados con un colorímetro, desde el inicio de la aplicación de las diferentes estrategias de riego, hasta la recolección. Para las variedades 'Starking Delicious' (en 1993 y 1994) y 'Early Red One' (en 1993), se determinó para dicho período la evolución de la actividad enzimática de la fenilalanina amonioliasa (PAL). Un mayor contenido de antocianos, estuvo siempre asociado a una mayor actividad de la PAL, la cual se vió estimulada por el riego por aspersión; mostrando siempre un máximo antes de la recolección. La colocación de termohigrógrafos en las zonas correspondientes a los diferentes tratamientos, permitió conocer las modificaciones de la temperatura y de la humedad relativa ambiental provocadas por el riego por aspersión.

Igualmente se determinaron en el momento de la recolección: el calibre, el peso y diversos parámetros de calidad del fruto, para las diferentes alternativas de riego evaluadas. Mediante el análisis de regresión, se determinaron las relaciones entre el contenido de antocianos y los parámetros colorimétricos, obteniéndose valores del coeficiente de determinación, en general, superiores a 0,50; observándose variaciones importantes en función del año, de la variedad y del parámetro analizado.

De las diferentes estrategias de riego estudiadas, el riego aplicado al anochecer proporcionó, en las variedades 'Mondial Gala', 'Topred Delicious' y 'Oregon Spur' una mejora significativa del color, mientras que en 'Early Red One', al poseer una buena coloración intrínseca a la variedad, se incrementó el color por el riego al anochecer, aunque incluso en el testigo fué satisfactorio. En 'Topred Delicious' el riego al amanecer, presentó una coloración próxima al riego al anochecer y superior al testigo y al riego de mediodía.

En 'Starking Delicious' el sistema de riego por aspersión, en los dos años estudiados (1993 y 1994), fué el que proporcionó una mejor coloración y una mayor firmeza de los frutos, comparado con el riego a manta.

En todas las experiencias realizadas, tanto el contenido de antocianos como los valores de colorimetría, presentaron importantes diferencias entre años, viéndose afectada la

respuesta al riego por los factores año, fecha y variedad; siendo 1993 el año de mayor coloración para todas las variedades, enmascarándose parcialmente el efecto del riego en el color de los frutos. Fué en los años de más difícil coloración, como 1994, cuando se obtuvo una mayor respuesta al riego refrescante con respecto al incremento del color.

La segunda alternativa objeto de estudio: la evaluación agronómica de 8 variedades de manzana del grupo 'Red Delicious', se expone en el Capítulo II. En este apartado, se recogen los resultados de las experiencias llevadas a cabo durante los años 1992, 1993 y 1994, sobre el comportamiento de las siguientes variedades: 'Topred Delicious', 'Early RedOne', 'Sharpred', 'Hy Early', 'Oregon Spur', 'Elite', 'Red Chief' y 'Red Miracle'. En los mismos, se determinó la evolución del contenido de antocianos, así como los correspondientes valores colorimétricos: L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, DE\*, Tono y Saturación, durante las 4-7 semanas previas a la recolección. Una vez realizada la recolección, se determinaron los parámetros de calidad, así como el peso y el calibre de los frutos. Cada año se controlaron las producciones obtenidas y el vigor de los árboles; al finalizar el ensayo se calcularon los Indices de Productividad de las diferentes variedades.

Se han establecido relaciones entre los valores calorimétricos y el contenido de antocianos en el momento de la recolección, obteniéndose valores de los coeficientes de determinación superiores a 0,69. Los valores tanto del contenido de antocianos como de colorimetría, manifestaron importantes diferencias entre años y entre variedades, siendo 1993 el año de mayor coloración para todas las variedades. 'Red Miracle' fué la variedad que presentó la coloración más precoz, seguida por 'Early Red One' y 'Red Chief'.

En el momento de la recolección, fueron también los frutos de estas tres variedades las que presentaron una mayor coloración, mientras que 'Topred Delicious' y 'Hy Early' fueron las menos coloreadas. Los parámetros de calidad del fruto presentaron diferencias entre variedades; mientras que las mejores producciones acumuladas y los mejores Indices de Productividad correspondieron a 'Early Red One' y 'Sharpred'.

BIBLIOTECA VIRTUAL



## 1.- SITUACIÓN Y PERSPECTIVAS DEL SECTOR DE LA FRUTA DULCE

La entrada en vigor del Acta Única en 1992, y la posterior ratificación del Tratado de Maastricht, condujo al Tratado de la Unión Europea, que entró en vigor en noviembre de 1993. La plena integración de España en la Unión Europea (UE) supone un fuerte impulso liberalizador para los intercambios comerciales con el resto de países miembros, con la consecuente supresión de fronteras y la libre circulación de mercancías. Este aspecto es de especial interés para nuestro sector hortofrutícola, dado que se encontrará expuesto a la competencia de otros países, que gozan de una mayor disciplina de mercado y de una mejor organización de la oferta.

A este hecho, hay que añadir, que en el actual contexto mundial de intercambios comerciales de los diferentes productos de consumo, y concretamente de los hortofrutícolas, se está asistiendo a una liberalización progresiva de los mismos, o lo que es lo mismo, a una mundialización de los intercambios económicos. Esta liberalización, impuesta por el acuerdo alcanzado en 1993 en la VII Ronda de Uruguay del GATT, significa un nuevo esfuerzo para reducir las barreras al comercio internacional y supone el primer gran intento de introducir en la disciplina liberalizadora sectores como el de la agricultura que, hasta ahora habían mantenido sus propios sistemas y mecanismos de protección y regulación de la interdependencia global. De ello surge un renovado impulso antiproteccionista, como lo ha sido la aprobación del tratado por el que se creó el NAFTA. El acuerdo del GATT ha supuesto desde el 1 de enero de 1995 y supondrá hasta el 2005, una apertura de mercados con el consecuente desarme arancelario en los intercambios comerciales entre los 117 países integrantes.

Para paliar los inconvenientes que se derivan de dicha liberalización, se ha efectuado una reforma de la OCM del sector de frutas y hortalizas, para adaptarla a la nueva situación. Mediante esta reforma, se promueven las Organizaciones de Productores de Frutas y Hortalizas (O.P.F.H.), las cuales dispondrán de un "Fondo Operativo" cofinanciado entre los socios comunitarios y los fondos públicos, cuya principal finalidad es conseguir los objetivos que debe cumplir la O.P.F.H. (llamados "Programas Operativos"). Se establecen compensaciones comunitarias por las retiradas y se prevé una fuerte reducción de los precios. También se propone un control de los precios de entrada, con especial atención a la clausula de salvaguardia. Con respecto a las exigencias impuestas en el marco del GATT, por el que se regulan las operaciones y intercambios, la O.C.M. prevée una disminución de los precios de entrada y un aumento de los contingentes a importar, por lo que la preferencia comunitaria pierde peso.

Todo ello nos lleva a la conclusión, de que habrá que hacer frente a la competencia de otros países intra y extra comunitarios, como los países terceros, cuyas exportaciones hacia la UE se estan incrementando progresivamente, debido a tres ventajas importantes: bajo coste de producción, complementariedad estacional de las producciones y buena calidad de la fruta. Este aspecto es aún más relevante en un contexto de superproducción, dado que determinadas áreas de producción en países como Chile, Argentina y Brasil, cuentan con condiciones climatológicas muy favorables para la producción de manzana de alta calidad, si se tiene en cuenta especialmente la excelente coloración y dureza de los frutos.

Ante estas perspectivas, el sector productor de variedades rojas o bicolores de manzana es consciente de la importancia que tiene la mejora del color y la reducción de costes para incrementar su competitividad y rentabilidad. En nuestras zonas frutícolas, con temperaturas estivales elevadas en el período previo a la recolección, la falta de color de los frutos ha ido

tradicionalmente asociada a variedades ampliamente cultivadas y de gran importancia económica como 'Starking Delicious'.

Las variedades 'Red Delicious', constituyen el segundo grupo en importancia por su aportación a la producción de manzana de Lleida, Cataluña, España y la UE, después de la 'Golden Delicious'. Dentro de este grupo, 'Starking Delicious' ha sido la variedad más cultivada en nuestro país, en especial por su buena calidad gustativa y por su característica coloración roja-estriada, asociada por el consumidor a las manzanas rojas. Sin embargo, la coloración obtenida sigue siendo, la mayoría de los años, insuficiente para alcanzar un adecuado valor comercial, más aún si se compara con variedades rojas procedentes de países terceros o de la UE. Con el objeto de intentar mejorar el color se ha retrasado la recolección, para de esta manera aprovechar las mayores oscilaciones térmicas y las noches más frescas, lo que ha ocasionado frecuentemente la recolección de los frutos con textura inadecuada, debido a un estado de maduración avanzado, lo que ha predispuesto a la harinosidad de los mismos y consecuentemente a su rechazo por el consumidor. En otras variedades bicolores, como las del grupo 'Gala', la falta de color constituye un problema importante dado que ocasiona una perdida muy importante del valor comercial.

Otra alternativa para la mejora del color ha sido la aplicación de reguladores de crecimiento como la daminocida (ALAR). Su aplicación incrementa la dureza y el color del fruto, permitiendo retrasar la recolección (Chiriac, 1983; Maeyer De, 1984; Rooijen Van., 1984; Graell, 1991). Sin embargo, en nuestro país no está autorizada su aplicación en manzano como mejorante del color desde 1989, entre otros motivos, por los de seguridad para la salud humana (Willet, 1989). Es por ello que se ha descartado esta altenativa, así como otras que puedan basarse en reguladores de crecimiento. Este hecho es aún más patente si se tiene en cuenta la cada vez mayor importancia de la producción integrada, especialmente en países con una fruticultura competitiva, dado que permite una reducción de costes, una disminución de residuos en el fruto y un mayor respeto por el medio ambiente. En este tipo de producción no está permitida la utilización de fitoreguladores para la mejora del color. Más concretamente y en el caso de Cataluña, la Norma Técnica para la Denominación Genérica Producción Integrada de manzanas, establece en su artículo 2.4.3. que "no se admiten productos de síntesis mejoradores del color o agentes de maduración...,." (DOGC núm.2068 del 28/6/1995).

Actualmente, una de las alternativas de mayor interés para obtener una adecuada coloración consiste en la introducción de variedades mejoradas tanto desde el punto de vista de la coloración como de la producción (Lord et al., 1980; Fisher, 1981; Crassweller et al., 1985; Crassweller et al., 1989; Graell et al., 1993; Warner, 1995b). Es por ello que en la planificación de nuevas plantaciones, la elección de las variedades mejor adaptadas al medio es un aspecto de vital importancia para la obtención de producciones de calidad. En la última década la variedad 'Starking Delicious' se ha ido sustituyendo progresivamente en las nuevas plantaciones por otras de mejor coloración, como 'Topred Delicious'. Ya en los últimos años la introducción de nuevas variedades de obtención más reciente, de elevada coloración, como 'Red Chief' o 'Early Red One', ha supuesto una mejora sustancial ya que incluso en nuestras condiciones climáticas aportan una adecuada coloración para una óptima comercialización de los frutos (Iglesias,1989a,b;1990;1991;1994; Graell et al., 1993; Trillot et al., 1993). Lo mismo puede decirse de otras variedades bicolores de notable interés, introducidas últimamente a escala comercial como las del grupo 'Gala', donde la obtención de mutantes más coloreados como 'Mondial Gala' ha propiciado su introducción en sustitución de otras introducidas inicialmente como 'Royal Gala'. Otros mutantes de obtención más reciente como 'Galaxy', 'Scarlet Gala', 'Obrogala', 'Delaf', etc., pueden aportar, en un futuro próximo, una mejora adicional del color en nuestras zonas de cultivo.

Finalmente, dado que la renovación de plantaciones es un proceso continuo y largo en el tiempo, todavía se cultivan importantes superficies de variedades que requieren una sustitución progresiva. En estas plantaciones es preciso buscar la aplicación de determinadas técnicas que mejoren el color de los frutos. De entre éstas, cabe mencionar: la aplicación de pulverizaciones de calcio, hierro y cobre (Warner, 1995e), la mejora de la poda invernal y la poda en verde, ambas para facilitar la penetración de la luz solar en el interior de la copa (Heinecke, 1975; Barden et al., 1984; Morgan et al., 1984; Warrington et al., 1984; Eijden et al., 1990), y el riego refrescante por aspersión. Esta última técnica es una de las más efectivas y ha sido ampliamente utilizada en estados productores de manzana roja de los Estados Unidos (Washington, Carolina del Norte, Columbia, etc.). Para que su aplicación sea efectiva se requiere el conocimiento de la fecha y de la hora del inicio del riego, así como la duración del mismo, la calidad del agua utilizada, la dosis de agua a aportar y realizar una adecuada protección fitosanitaria. Dicha técnica permite combatir el efecto negativo de las elevadas temperaturas en la coloración de los frutos (Lombard et al., 1966; Unrath, 1972a,b; Lowel, 1981; Recasens et al., 1981; 1984; 1988; Recasens, 1982; Willet, 1989; Williams et al., 1989; Acuff, 1993; Salmon, 1993; Andrews, 1995; Warner, 1995a,c,d).

## 2.- PRODUCCIÓN DE LAS PRINCIPALES VARIEDADES DE MANZANA

En la última década el manzano es la especie que, después del melocotonero, presenta el mayor número de nuevas variedades, por lo que la situación varietal esta experimentando cambios sustanciales, tanto a nivel nacional como de la Unión Europea (UE) y mundial. Conocer la situación de las principales variedades producidas y su evolución, consituye una referencia importante para la planificación de nuevas plantaciones, siempre y cuando la elección varietal vaya acompañada de una experimentación previa.

Las variedades del grupo 'Red Delicious' aportaron el 37% a la producción mundial de manzana y el 12% a la producción de la UE en el período 1990-1995. Considerando las 'Red Delicious' y las bicolores de los grupos 'Gala', 'Jonagold' y 'Elstar', la aportación, en el mencionado período, fué el 25,3% de la manzana producida en la UE. En el Cuadro 1 (tabla 1-1) puede observarse que constituyen el grupo de mayor importancia después de la 'Golden Delicious', que aporta el 38,7%.

La evolución durante la última década (1985-1995) de las principales variedades en la UE, pone de manifiesto una progresiva disminución de 'Golden Delicious'. Esta disminución es más acentuada en las variedades 'Red Delicious'. Contrariamente 'Jonagold' es la que ha presentado un incremento más espectacular en el citado período (910 %), mientras que 'Elstar' y 'Gala' han visto incrementar también fuertemente las producciones. Por tanto, se está produciendo un cambio progresivo en el panorama varietal debido a la introducción de nuevas variedades, especialmente bicolores, que aportan unas características organolépticas diferentes a las variedades tradicionales 'Golden Delicious', 'Red Delicious' y 'Granny Smith'. Estas nuevas variedades, a las que últimamente se han añadido 'Fuji' y 'Braeburn', están teniendo una excelente aceptación por el consumidor europeo.

Variedad	Producción media (t) Período 1990-1995	% sobre el total	Tendencia
Red Delicious	891.000	12%	<b></b>
Granny Smith	362.000	5%	<b>1</b>
Gala	116.000	1,5%	<b>↑</b>
Jonagold	605.000	8,2%	<b>↑</b>
Bstar	264.000	3,6%	1
Otras	2.369.000	31 %	$\downarrow$
Golden Delicious	2.779.000	38,7%	$\downarrow$
TOTAL	7.386.000	100%	1

*Cuadro 1:* Producción media de las principales variedades de manzana en la Unión Europea, durante el período 1990-1995.

Fuente: Elaboración propia a partir de estadísticas de 'Prognosfruit-1995'

En **España**, la producción media de manzana en el período 1984-1993 fué de 861.000 t en una superficie de 57.200 ha, lo que la convierte en la especie más importante dentro de las especies de fruta dulce, según los Anuarios de Estadística Agrária del MAPA. De la producción total de manzana en el citado período, se produjeron en Cataluña 421.734 t en una superficie de 17.652 ha (DARP, Seccions Territorials de Programes i Estadística 1986-1993), lo que representa el 49% de la producción y el 30% de la superficie nacional.

En el ámbito de Cataluña, Lleida es la provincia productora por excelencia, ya que reune la mayor concentración frutícola de Cataluña y de España. En el <u>Cuadro 2</u> (ver tabla 1-2) se comparan las superficies y producciones de las principales especies de frutales producidas en Lleida y en Cataluña en el año 1993. Lleida aporta el 76% de la superficie y el 81% de la producción frutícola de Cataluña, mientras que para el manzano dichos porcentages son el 83% y el 79% de la superficie y de la producción, respectivamente.

Especie	Superficie (ha)		Producciones (x 1000t)	
	Cataluña	Lleida	Cataluña	Lleida
Manzano	18.754	15.585 (831%)	379	299(791%)
Peral	15.635	16.175	191	180
Melocotonero	17.568	7.440	206	146
TOTAL	51.957	39.200 (76%)	776	626(81%)

*Cuadro 2:* Superficies y producciones de las principales especies de frutales en Cataluña y Lleida, año 1993 (DARP, 1995b)

Dentro de la especie manzano, la distribución de la superficie por variedades, en España, Cataluña y Lleida, se ha representado en la *Figura 1-1*. En los tres ámbitos territoriales, la variedad 'Golden Delicious' es la más importante, ocupando un segundo lugar las variedades del grupo 'Red Delicious', situándose en tercer y cuarto lugar las del grupo 'Gala' y la 'Granny Smith', respectivamente. Para las diferentes variedades, Cataluña aporta aproximadamente la mitad de la superficie nacional, siendo Lleida la provincia productora por excelencia.

## Figura 1-1

En la zona frutícola de Lleida, la variedad 'Golden Delicious', aporta el 69% de la superficie (10.713 ha), seguida por las variedades del grupo 'Red Delicious' con el 18% (2.837 ha), y las del grupo 'Gala' con el 3% (517 ha). Dentro del grupo 'Red Delicious', la variedad más importante sigue siendo 'Starking Delicious' que en 1993 ocupaba el 60% de la superficie, seguida por 'Topred Delicious', 'Red Chief' y 'Early Red One'(Figura 1-2). Sin embargo, este grupo de variedades ha experimentado un importante cambio en los últimos años que se pone de manifiesto en la misma figura, donde se comparan las superficies de dichas variedades en 1985 y en 1993. Así mientras en 1985 'Starking Delicious' aportaba el 91% de la superficie, en 1993 dicho porcentage se redujo hasta el 60%.

#### Figura 1-2

Es de destacar el incremento de la variedad 'Topred Delicious' que inicialmente sustituyó a 'Starking Delicious', y de'Red Chief' y 'Early Red One', introducidas más recientemente. De entre las nuevas variedades, 'Red Chief' ha sido, y sigue siendo, la que ha conocido un mayor incremento de las superficies.

La principal causa del declive de la variedad 'Starking Delicious' es la falta de color de los frutos, a lo que habría que unir la baja productividad de la mayoría de plantaciones por el efecto de las heladas primaverales, y el elevado coste de producción, al tratarse en general de plantaciones con patrones vigorosos y sistemas de formación de gran desarrollo. Dichas razones justifican plenamente la reconversión hacia sistemas más intensivos con variedades de mejor coloración. Si bien 'Topred Delicious' fué la variedad introducida inicialmente en sustitución de 'Starking Delicious', a partir de 1985 se inicia la introducción de otras variedades: 'Red Chief', 'Early Red One' y, en menor medida, 'Oregón Spur', las cuales, incluso en climas calurosos como los de la zona frutícola de Lleida han presentado una buena coloración (Iglesias et al., 1989b; Iglesias, 1990;1991c;1994a Graell et al., 1993).

La evolución de la producción de la variedad 'Starking Delicious' ha sido similar a la de su superficie, experimentándose una constante disminución, pasando de 4.075 ha en 1985 a 1.716 en 1993 (Figura 1-3). En 1985 había poca superficie de 'Topred Delicious', 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Gala' (195 ha), mientras que en 1993 estas 4 variedades aportaban una superficie conjunta de 1.454 ha. Otro hecho destacable es el fuerte incremento experimentado

por las variedades del grupo 'Gala', desconocidas en 1979 y que en la actualidad se aproximan a las 600 ha.

Figura 1-3

## 3.- EL COLOR DE LAS MANZANAS

#### 3.1.- El color como factor de calidad: importancia económica

En las manzanas rojas, ya sean del grupo 'Red Delicious' o bicolores, el color de la epidermis es un atributo importante, ya que determina de forma directa su aceptación por el consumidor y consecuentemente su valor comercial (Smith et al., 1964; Crassweller et al., 1989; Graell et al., 1993). Una coloración insuficiente puede depreciar el valor comercial de los frutos, pudiéndose afirmar que el precio depende en gran medida del color. Por otra parte las normas de calidad vigentes en los principales países productores de fruta, establecen que los frutos de categorías extra o primera deberán poseer el color característico de la variedad. De hecho no se trata solamente de un mayor atractivo del fruto, sino que el consumidor sabe que una mayor coloración va asocida, en general, a una mayor calidad gustativa del fruto, mayor dureza, contenido en azucares más elevado y mejor sabor. Diversas investigaciones han confirmado la existencia de tales relaciones (Godrie, 1982; Schumacer et al., 1985). Una baja coloración es la principal causa de depreciación de las variedades rojas (Mayles, 1989; Baugher et al., 1990a,b), y constituye uno de los principales problemas del sector productor en áreas de producción con climas secos y calurosos.

Como ejemplo citar la variedad 'Jonagold', que en nuestras condiciones climáticas presenta una escasa coloración (Iglesias et al., 1989), lo que ocasiona su depreciación comercial. En la variedad 'Starking Delicious', la falta de color conlleva frecuentemente un retraso de la recolección con la consiguiente disminución de dureza y perdida de calidad; mientras que en otras variedades, como las del grupo 'Gala', ocasiona la perdida parcial o total de su valor comercial, y el retraso de la recolección provoca con frecuencia "craking" en la cubeta peduncular con la consiguiente depreciación del fruto.

En la actualidad la valoración de las variedades rojas y bicolores por su adecuada coloración, es un hecho que adquiere una especial importancia en un contexto de liberalización progresiva de los intercambios y generalmente de superproducción. La entrada en nuestros mercados de fruta de alta coloración y dureza, procedente de terceros países ha inducido al consumidor a asociar ambas características; por lo que cada vez más los operadores comerciales exigen frutos con una adecuada coloración, tanto en beneficio propio como del consumidor. Por otra parte, numerosos estudios de mercado realizados recientemente, ponen de manifiesto que el consumidor está dispuesto a pagar precios más elevados por dichas manzanas.

En base a lo que se acaba de exponer, se deduce que la competitividad del sector productor de manzana roja, pasa por obtener producciones óptimas tanto cuantitativa como cualitativamente. La calidad dependerá fundamentalmente del calibre, del color y de la firmeza, lo cual obliga a realizar la recolección en un estado óptimo de madurez del fruto. A pesar de ello, hay que ser consciente que las áreas frutícolas cálidas del Valle del Ebro, no son climáticamente las más propicias para producir variedades rojas o bicolores de alta calidad. Sin embargo, en nuestro país su consumo ha sido y sigue siendo importante.

Con el objeto de ilustrar la importancia del color en el precio de las variedades 'Starking Delicious', 'Topred Delicious' y similares y 'Royal Gala', se presentan, para las

campañas 1992-93, 1993-94 y 1994-95 (años en los que se realizaron las experiencias) sus cotizaciones medias en la Lonja de Mercolleida (*Cuadro 3*), ver tabla siguiente:

Año	Starking (> 75 mm)		Topred y similares (> 75 mm)		Royal Gala (>7° mm)	
	<65 %color	>65% color	<70 %color	>70% color	< 70 % color	> 70 % color
1992-93	-	27	20	35	37	50
1993-94	40	55	48	63	50	64
1994-95	35	53	50	68	45	73
Media	-	45	39	55	44	62

Cuadro 3: Cotizaciones medias más orientativas de las variedades 'Starking Delicious', 'Tropred Delicious' y similares, y 'Royal Gala' en las campañas 1992-1993, 1993-1994, 1994-1995, para diferentes porcentages de color en los frutos. Precios en pta/kg, sin envase, a granel y sin manipular. En central y A.C., excepto variedades de verano.

Fuente: Elaboración propia a partir del Boletín Informativo Agropecuario de Mercolleida.

Los requerimientos de color para alcanzar las mejores cotizaciones son variables y dependen de las cantidades ofertadas y del color de los frutos en cada campaña (determinado por las condiciones climáticas). Los porcentages expuestos en el <u>Cuadro 3</u> (tabla 1-3) corresponden a la media de los años analizados. Para la campaña 1993-94 (buena coloración) y para la variedad 'Topred Delicious', el porcentage de color para las mejores cotizaciones se fijó en el 85%, mientras que para las campañas 1992-93 y 1994-95 este porcentage fué del 70 y del 60%, respectivamente. Dichos porcentages fueron para 'Starking Delicious' 70% (1993-94) y 60% (1992-93, 1994-95). Para esta variedad el porcentage mínimo de color exigido fué del 30% en la campaña 1994-95 (mala coloración). Para 'Royal Gala' se exigió siempre más del 70% de color para obtener los mejores precios.

Los datos expuestos, ponen en evidencia que para alcanzar las mejores cotizaciones se requiere, cada vez más, una mayor coloración. La diferencia de precio entre frutos que alcanzan o superan los porcentages mínimos establecidos y aquellos con una coloración insuficiente han oscilado entre 15 y 28 pta/kg según variedades, lo que supone disminuciones de precio de alrededor del 30%. Este porcentage puede alcanzar valores del 70% en campañas con superproducción y con condiciones climáticas adversas a la coloración como las que tuvieron lugar los años 1992 y 1994. En 1992, la superproducción y la falta de color depreciaron totalmente la variedad 'Starking Delicious' llegando a no cotizarse (Cuadro 3, tabla 1-3). Análogamente puede ocurrir en el futuro con la variedad 'Topred Delicious', si se compara con variedades de mejor coloración como 'Red Chief' y 'Early Red One'. En variedades de verano como 'Royal Gala', el progresivo aumento de las plantaciones durante los últimos años, originará un incremento de la oferta, lo que llevará implicito que solamente los frutos con una adecuada coloración, sean los que alcanzen precios satisfactorios.

La producción media de las dos principales variedades del grupo 'Red Delicious': 'Starking Delicious' y 'Topred Delicious', fué en el año 1994 de 34.900 t (DARP, 1995b). Considerando un precio medio de venta de 55 pta/kg y una perdida por falta de color de un 20% de dicho precio (Cuadro 3 de la tabla 1-3) en el 60% de la producción, se produjeron unas perdidas aproximadas en la zona frutícola de Lleida de 230 millones de pesetas por una coloración deficiente.

Los resultados expuestos evidencian la repercusión económica que supone el color para el sector productor de variedades rojas de manzana. Ello justifica, en plantaciones ya establecidas, las numerosas técnicas culturales tradicionalmente utilizadas para su mejora, como la aplicación de reguladores de crecimiento, podas en verde, riego refrescante por

aspersión, aplicación de productos nutricionales, embolsado de frutos, etc.; técnicas también aplicadas en otros países productores de manzana roja como los Estados Unidos, Israel, Japón, Nueva Zelanda, Italia, Francia, etc. Sin embargo, en la actualidad es evidente que en todas las circunstancias la mejor alternativa la constituye la elección adecuada de aquellas variedades que aporten una mejor coloración.

#### 3.2.- Formación del color

La biosíntesis de los antocianos (principales pigmentos responsables de la coloración roja), y los mecanismos que regulan la formación del color en variedades rojas de manzano, han sido ampliamente estudiados. Recientemente se han realizado extensas revisiones bibliográficas sobre el control externo de la formación de antocianos (Saure, 1990) y sobre la regulación del color de la piel en manzanas (Lancaster, 1992).

La formación del color en las manzanas es un proceso complejo al estar regulado tanto por factores externos como internos, sobre el cual se ha intervenido frecuentemente con la aplicación de determinadas prácticas culturales que permitieran una mejora en la coloración de los frutos. Sin embargo, para la obtención de resultados satisfactorios se requieren unos conocimientos que permitan explicar las lineas fundamentales de síntesis y regulación de los antocianos.

## 3.2.1.- Principales pigmentos presentes en la piel de las manzanas

La aparición del color esta asociado con la maduración del fruto. El cambio de color se debe por una parte a la degradación de la clorofila con el consiguiente desenmascaramiento de otros pigmentos y, por otra parte, a la síntesis *de novo* de pigmentos. El color de la piel de las manzanas es el resultado de una mezcla de cantidades variables de diferentes pigmentos (Lancaster, 1992). El color verde/amarillo es debido a pigmentos de tipo fotosintético como la clorofila y los carotenoides; mientras que el color rojo es producido por pigmentos de tipo flavonoide ubicados en la vacuola (Timberlake, 1981).

Así pues, los pigmentos responsables del color son de dos tipos:

1. <u>Pigmentos cloroplásticos</u>. Entre ellos se encuentran las clorofilas a y b, responsables del color verde, los carotenos de color rojo y las xantofilas de color amarillo. La <u>clorofila</u> es el único pigmento presente en la piel de los frutos jóvenes, desapareciendo en la mayoría de variedades al alcanzarse la maduración; el mecanismo exacto de su degradación no se conoce, pero involucra reacciones químicas y enzimáticas. La clorofila se encuentra firmemente encerrada dentro de las membranas tilacoides del cloroplasto; el primer paso en la degradación de la clorofila parece que es su solubilización hacia el estroma, que tiene lugar por enzimas capaces de atacar las membranas tilacoides o directamente a la clorofila, pero el mecanismo de actuación es todavía desconocido.

En muchos frutos la perdida de clorofila esta acompañada por la biosíntesis de uno o más pigmentos, normalmente antocianos o carotenoides. Los pigmentos <u>carotenoides</u> también están localizados dentro del cloroplasto, el cual es entonces llamado cromoplasto. La conversión del cloroplasto en cromoplasto se produce durante la maduración de los frutos, y va acompañada de la síntesis de una o varias clases de pigmentos, normalmente antocianos o carotenoides, con el consiguiente cambio de color. Es también durante la maduración, cuando se produce el desmantelamiento del aparato fotosintético localizado en el cloroplasto. Los carotenoides se sintetizan normalmente en tejidos verdes; sin embargo, en muchos frutos, durante la maduración, se sintetiza -caroteno adicional y licopeno. La vía para la biosíntesis

de los carotenoides muestra como el licopeno es el precursor del -caroteno y su acumulación durante la maduración puede, por otra parte, actuar, ya sea en la inhibición del paso final en la producción del -caroteno, o en la iniciación de una nueva ruta fotosintética para el licopeno (Goodwin, 1980).

2. <u>Pigmentos vacuolares</u>. Se encuentran disueltos en el jugo vacuolar y son de tipo flavonoide. Dentro de éstos, los más abundantes en los frutos son los <u>antocianos</u> que determinan las diferentes gamas de rojo. Los antocianos son los pigmentos más importantes en las variedades rojas de manzana, dado que son los responsables de su coloración.

De entre los pigmentos de tipo <u>flavonoide</u>, destacan: <u>los antocianos</u>, <u>los flavonoles</u>, <u>los flavonoles</u>, <u>los flavonos</u> y <u>las proantocianidinas</u> (Lancaster, 1992); siendo los mas importantes los antocianos, pudiendose encontrar varios en un mismo fruto. La biosíntesis de los flavonoides es una de las rutas bioquímicas más estudiada en plantas, pero hasta recientemente, existen pocos estudios de las enzimas que intervienen en dicha biosíntesis.

Los flavonoides son pigmentos fenólicos que frecuentemente se encuentran confinados en células epidérmicas (Harborne, 1967; 1986), compuestos por moléculas de 15 carbonos, siendo importantes por su función como pigmentos y algunos de ellos también por su actividad fisiológica. El esqueleto básico es la unidad flavona  $C_6$   $C_3$   $C_6$ , el cual se modifica de tal forma que cada vez tiene más dobles enlaces conjugados, lo que permite la absorción en la zona del visible y, por tanto, proporciona más color. Los antocianos se derivan a partir de los flavonoides (compuestos flavónicos), los cuales són derivados del ácido cinámico. El ácido cinámico procede de la desamimación del compuesto aromático de la fenilalanina, reacción catalizada por la fenilalanina amonioliasa (PAL). La estructura química básica de los flavonoides, se deriva a partir de metabolitos secundarios de los fenilpropanoides, que poseeen dos anillos en su estructura, denominados A y B (*Figura 1-4*).

Los <u>antocianos</u> estructuralmente se presentan bajo la forma de heterósidos, conociéndose a la fracción no glucídica (aglicón), con el nombre de antocianidina. Cuando ésta, en las posiciones R<sub>3'</sub> y R<sub>5'</sub> presenta los grupos (OH) y (H) respectivamente, se denomina cianidina, de la cual derivan todos los antocianos de la manzana. En la *Figura 1-4* se muestra la estructura general, así como los radicales propios de las principales antocianidinas y de sus derivados glicosidos, los antocianos, los cuales son responsables de colores como el violeta, púrpura o rojo y están presentes en la mayoría de órganos de las angiospermas.

#### Figura 1-4

La cianidina y sus compuestos derivados, poseen en las posiciones R<sub>3'</sub> y R<sub>4'</sub> del anillo B dos grupos hidroxilo. La condensación en el grupo hidroxilo de la posición R<sub>3</sub> a la galactosa (fracción glucídica o glicón), da lugar a la síntesis del <u>cianidín 3-galactósido</u> o idaeina (*Figura 1-5*) que es el principal cianidín glicósido que se encuentra en la piel de las manzanas y es en gran medida responsable del color (Sun et al., 1967; Timberlake, 1981; Faragher et al., 1984; Azcón-Bieto et al., 1993; Seymour et al., 1993). Sus concentraciones pueden variar entre 100 y 8.000 mg/g de peso fresco (Lancaster, 1992). En la variedad '*Starking Delicious'* se identificó y cuantificó como el más abundante (Recasens, 1982); a pesar de que otros antocianos como: cianidín 3-glucósido, cianidín 5-glucósido, cianidín 7-arabinósido o el cianidín 3 xilósido, han sido identificados en la piel de la manzana (Harborne, 1967; Sun et al., 1967; Timberlake et al., 1971; Chalmers, 1973).

## Figura 1-5

Además del cianidín 3-galactósido, en la piel de la manzana se han detectado otros flavonoides como el cianidín-3-arabinósido, 3-glucósido y 3-xilósido, y la catequina, que están presentes en menores cantidades en algunas variedades rojas (*Cuadro 4*, *ver tabla 1-4*). La aciclación de antocianos a residuos de azucar ocurre frecuentemente en flores, pero no se

ha detectado de antocianos de frutos.

En la piel de las manzanas también se encuentran elevadas concentraciones de <u>flavonoles</u> (quercitín glicósidos), habiéndose identificado 6, todos ellos incluyen los mismos azucares que los encontrados en los cianidín glicósidos, siendo tambié el quercitín 3-galactósido el más importante. El quercitín glicosido se ha encontrado presente en elevadas concentraciones en la cara expuesta al sol de la variedad '*Golden Delicious*'. Este flavonol parece ser que precede al cianidín 3-galactósido en su vía fotosintética (Harborne, 1967). Otros compuestos que se encuentran en cantidades importantes son las proantocianidinas, tales como la catequina (Prabha et al., 1985; Oleszek et al., 1989; MacRae et al., 1990).

Compuesto	Nombre común	Concentración (mg/gpf*)
Cianidín 3-galactósido	Idaeina	100-8000
Cianidín 3-arabinósido		
Cianidín 7-arabinósido		
Cianidín 3-glucósido		
Cianidín 3-xilósido		
Quercitín	Hiperina	554-924
3-0-galactósido		
Quercitín 3-0-glucósido	Isoquercitina	A 1/ 1 B 7 11
Quercitín 3-0-xilósido	Reinoutrina	119-297
Quercitín	Avicularina	546-801
3-0-arabinósido	O PRINT	seed to seed
Quercitín	Quercitina	71-661
3-0-rainnósido		
Quercitín	Rutina	57-185
3-0-ramnoglucósido	The state of the s	
Floretín glucósido	Florizina o	87-331
	Floridizina	
Floretín glucósido		
Ácido clorogénico	- 2011	20-149
Catequina	- 3111737	455-1431
Epicatequina	MAN A	980-1590
Gaflocatequina		20-180

*Cuadro 4:* Flavonoides aislados en la piel de manzana y sus correspondientes cantidades (Lancaster, 1992).

Los <u>flavonoles</u> y los <u>flavones</u> se diferencian de los antocianos en el átomo de oxígeno del anillo central del pirano, siendo la coloración de éstos incolora o amarilla, dependiendo de la concentración y estructura del flavonol (Primo, 1979); mientras que los antocianos presentan una coloración rojiza. A pesar de que los flavonoles y los flavones no contribuyen significativamente a la coloración (al igual que las proantocianidinas), son importantes dado que suelen asociarse a los antocianos en los fenómenos de copigmentación, realzando su color. Por consiguiente la coloración final vendrá determinada por el antociano o antocianos presentes, el pH vacuolar y la presencia y concentración de flavonoles u otros pigmentos (Asen et al., 1971; Lancaster, 1992; Lancaster et al., 1994). La relación entre flavonoles y la pigmentación de antocianos en manzanas, fué encontrada por Lespinasse et al. (1985), a pesar de que para otras especies era ya conocida (Van Buren, 1970; Braun, 1976).

La coloración de los antocianos mediante la copigmentación sería el origen de la gran

<sup>(\*)</sup> gpf: gramos de peso fresco.

cantidad de los colores rojo, rosa, malva y azul encontrados en plantas superiores. El mismo modo de actuación cabe esperar en las manzanas, en las cuales los flavonoles, los flavones y las protoantocianidinas (como la epicatequina y la catequina) no contribuyen significativamente a la plena coloración, pero son importantes como copigmentos. Las variedades de manzana exiben una amplia gama de colores rojos, desde el púrpura-rojo ('Jonathan', 'Red Delicious'), pasando por el rojo-naranja ('Cox Orange Pippin', 'Royal Gala'), hasta el rosa-rojo brillante ('Alajah'), a pesar de que solamente se producen cianidín glicósidos. Ello hace suponer, que otros factores intervienen para la formación de los diferentes colores, siendo factible que la copigmentación sea un factor que origine las múltiples tonalidades de color, dado que se conocen pocos antocianos para producir la amplia gama de colores existentes en manzanas.

La concentración de antocianos en la piel y el color resultante a partir de la pigmentación de la clorofila y los carotenoides, parecen ser importantes en la determinación del color final (Lancaster, 1992). En el caso de la manzana se han realizado pocos estudios sobre la copigmentación (Lancaster et al., 1994), pero ensayos realizados *in vitro* sobre la copigmentación del cianidín-3-5 diglicósido muestran que los glicósidos de quercitina son muy efectivos incrementando la longitud de onda en la que se produce la máxima absorción, siendo los más efectivos de entre los flavonoles (Asen et al., 1972; Chen et al., 1981). Otros compuestos encontrados en la piel de la manzana (floritín, catequina, etc.), pueden también actuar como copigmentos de los cianidín glicósidos, a pesar de ser estos menos efectivos como copigmentos que los glicósidos de quercitina (Chen et al., 1981). Falta conocer aún, si las diferentes tonalidades del color rojo en manzanas, son el resultado de la naturaleza y magnitud de la copigmentación.

Los <u>flavonoles</u> carecen de color por si mismos, o pueden ser ligeramente amarillos, dependiendo de la concentración y estructura de los mismos. En copigmentación los flavonoles se agregan alrededor de los antocianos y los protegen de la hidratación, manteniedolos de esta forma como cationes flavónicos coloreados estables (Brouillard et al., 1989). La copigmentación, también produce un cambio en el máximo de absorción de longitud de onda, proporcionando una apariencia azulada a los antocianos. El grado de copigmentación es determinado por la cantidad y el tipo de antocianos, la relación molar flavonoles/antocianos y la naturaleza química de los flavonoles (Asen et al., 1972; Chen et al., 1981; Eugster et al., 1991; Goto et al., 1991; Lancaster et al., 1994). De esta manera el fenotipo de la pigmentación final viene determinado por:

- \* El antociano en cuestión.
- \* El pH vacuolar (la vacuola es el lugar de acumulación de los pigmentos).
- \* La presencia y concentración de flavonoles y otros copigmentos.

En experiencias realizadas recientemente por Lancaster et al. (1994), se determinó la proporción de celulas rojas en la piel de 5 genotipos de manzana. El cambio de las diferentes coloraciones (rojo, rojo-naranja, rojo-púrpura), se atribuyó a la mezcla de colores a partir de la clorofila, de los carotenoides y de los antocianos, más que debido a diferencias en la copigmentación. La relativa uniformidad de las absorbancias máximas de las células de la piel de los 5 genotipos estudiados, permite argumentar que las diferencias de pH pueden constituir también un factor importante en la formación de los diferentes colores.

#### 3.2.2.- Vías de síntesis de los flavonoides. La enzima fenilalanina amonioliasa (PAL)

El cianidín 3-galactósido (idaeina) se sintetiza y se almacena en las células epidérmicas y hipodérmicas de la piel del fruto. Dos pasos se requieren para la biosíntesis de la idaeina: la

inducción y la producción; la <u>fase de inducción</u> requiere como punto de partida la luz ultravioleta; la síntesis o su posterior <u>producción</u> depende de la disponibilidad de productos carbonatados (azúcares que se asocian a la cianidina para fornar la idaeina), principalmente carbohidratos formados durante la fotosíntesis en el metabolismo de la glucosa. Los carbohidratos se sintetizan en las hojas y posteriormente se transportan hacia el fruto, transformandose algunos de los mismos en pigmentos mediante complejas reacciones bioquímicas.

A pesar de la importancia de los antocianos en el color de las manzanas, la mayor parte de la información disponible acerca de su biosíntesis hace referencia a flores. Heller y Forkman (1988) describieron detalladamente los pasos conocidos de su biosíntesis. Se caracterizaron 11 enzimas que intervienen en dicha biosíntesis (*Cuadro 5* de la tabla 1-5).

(*)	Enzima	Genes clonados
1	Fenilalanina amoniofiasa (PAL)	+
2	Cinnamato 4-hidroAasa	+
3	4-Cumarato: CoA ligasa	+
4	Calcona sintetasa	+
5	Calcona isomerasa	A VHIR
6	(2S)-Flavanona 3'-hidroxilasa	
7	Flavonoide 3'-hidroxilasa	
8	Flavonol sintetasa	
9	Dihidroflavonol 4-reductasa	H 11+1
10	Flavan-3, 4-cis-diol 4-reductasa	A
11	Anthocianidína flavonol	+/
7	3-0-glucosiltransferasa	

*Cuadro 5:* Enzimas implicados en la biosíntesis de artocianos y aquellas cuyos genes han sido clonados (Lancaster, 1992).

(\*) Ver correspondencia de los números con la Figura 1-6.

De las 11 enzimas, solamente 3 han sido descritas y estudiadas en manzanas; de éstas, dos son clave en la vía biosíntetica de los antocianos: la **PAL** y la flavonol sintetasa. Ambas se sintetizan *de novo* en los tejidos de muchas plantas, como respuesta a la luz UV o a daños mecánicos; sin embargo, su regulación a lo largo del desarrollo del fruto no es conocida. Es posible que la síntesis o activación de estas enzimas dentro de la vía sintética, pueda responder a la acción de reguladores de crecimiento como el etileno, dado que controla otros aspectos de las maduración de los frutos.

A pesar de que solamente 3 enzimas se han descrito y estudiado en la piel de la manzana, la vía de biosíntesis de los antocianos puede ser inferida desde la reciente identificación de trazas de intermediarios biosintéticos como el kaempferol glicósido y la conjunción de varios flavonoles como productos finales. Una posible vía de biosíntesis de los antocianos, procianidinas y flavonoles se indica en la *Figura 1-6*.

Se cree que la síntesis sigue una vía común a partir del metabolito precursor primario L-fenilalanina, siendo la PAL un enzima clave en la biosíntesis de los fenoles, y consecuentemente de los cianidín glicósidos, dado que cataliza la desaminación de la L-fenilalanina por eliminación del protón pro-S del C-3 y por la liberación del NH<sub>2</sub> del C-2, formandose el ácido transcinámico o el cinamato (en función del pH), reacción que constituye el primer eslabón en la biosíntesis de los flavonoides. Posteriormente el ácido

transcinámico por la acción del enzima cinnamato 4-hidroxilasa se transforma en ácido 4-cumárico (o 4-cumarato), el cual es convertido en 4-cumaril-CoA por la enzima 4-cumarato: CoA ligasa.

#### Figura 1-6

La estructura del primer flavonoide específico surge por la condensación de una molécula de 4-cumaroil-CoA con 3 moléculas de malonil-CoA, reacción catalizada por la enzima calcona sintetasa (CHS); el producto de esta reacción, la calcona, es posteriormente convertido en flavonona por la enzima calcona isomerasa (CHI). Posteriores pasos enzimáticos producen sustituciones en los tres anillos flavónicos, proporcionando los diferentes antocianos coloreados. En base a lo expuesto, se deduce que la <u>L-fenilalanina</u> es el compuesto de mayor interés, dado que es el precusor común de los flavonoides.

La PAL es la primera enzima que actúa en la vía sintética; tiene un papel fundamental direccionando la síntesis hacia metabolitos secundarios del tipo fenilpropanoides, los cuales posteriormente se modifican y transforman en compuestos fenólicos para dar lugar finalmente a los cianidín glicósidos; por lo que ha sido la enzima más estudiada. Su actividad, al igual que otras enzimas implicadas en la síntesis de antocianos esta regulada por la luz, la temperatura, los reguladores de crecimiento, inhibidores de la síntesis de proteinas y del RNA (Amrhein et al., 1971; Creasy et al., 1974; Blankenship et al., 1988; Farangher et al., 1984), y la nutrición mineral (Krause et al., 1976). Su peso molecular medio es de 330.000 Daltons, con un pH óptimo de 8,8 y no requiere cofactor. Se ha localizado en los cloropastos, mitocondrias y microcuerpos (glioxisomas y peroxisomas), así como en la fracción microsomal. Muestra una elevada especifidad al sustrato, aunque en algunas preparaciones (especialmente de cultivos herbáceos), existe actividad hacia la tirosina (Bell et al., 1980).

Varios autores han investigado la importancia de enzimas en la síntesis de antocianos, detectando la actividad de la PAL solo en las partes rojas de la piel de la manzana, concluyendo que la actividad de la PAL esta estrechamente relacionada con la producción y acumulación de antocianos (Faragher et al., 1977a,b; Blankenship et al., 1988; Cheng et al., 1991); sin embargo su síntesis continuaba incrementándose durante el proceso de maduración, después de que la actividad de la PAL hubiese ya alcanzado un máximo (Hyodo, 1971; Tan, 1979; Arakawa, 1986; Blankenship et al., 1988; Cheng et al., 1991). La misma observación ha sido descrita por otros autores con la variedad 'Starking Delicious' (Larrigaudiere, 1995; Larrigaudiere et al., 1995). Kubo et al. (1988) observaron, en algunas variedades, un incremento de la actividad de la PAL con el inicio de la coloración y de la producción de etileno, posteriormente se produjo una disminución rápida a partir de final de junio. Faragher et al. (1977b), no encontraron una relación directa entre la síntesis de pigmentos y la actividad de la PAL.

Aún y sabiendo que la producción de antocianos esta asociada a un incremento en la actividad de la PAL, existen numerosos casos de actividad de la misma sin producción de antocianos; en otras experiencias (Loscheke et al., 1981; Faragher et al., 1984), se ha considerado a este enzima como limitante de la acumulación de antocianos. En la variedad 'Starking Delicious', tratamientos que estimulaban la síntesis de antocianos -aplicación de reguladores de crecimiento, riego refrescante, etc.- incrementaron los niveles de PAL (Larrigaudiere, 1995; Larrigaudiere et al., 1995). En manzanas enteras, no existe actividad de la PAL ni síntesis de antocianos sin luz, y con poca luz los niveles de PAL disminuyen (Faragher, 1983), lo que indica que su síntesis es fotodependiente; sin embargo, en discos de piel de manzana la PAL se incrementa incluso en la oscuridad, sin detectarse una correspondiente síntesis de antocianos.

Faragher et al. (1977a) evidenciaron que el etileno, al menos a bajos niveles, puede

promover la formación de antocianos incrementando los niveles de PAL, para lo cual se requiere también la presencia de luz. Análogamente, Faragher et al. (1984) sugerieron que la rápida acumulación de antocianos durante la maduración de las manzanas era originado por el etileno, al incrementar el nivel de PAL en la piel; dado que la actividad de la PAL incrementa incluso en variedades no rojas como 'Golden Delicious', concluyeron que un nivel alto de PAL en la piel de la manzana durante la recolección, no siempre implica un buen desarrollo del color, pero ello es imprescindible para el desarrollo de los antocianos (Blankenship et al., 1988; Lancaster, 1992).

Las bajas temperaturas (6° C) a luz constante estimulan la acumulación de la PAL y de los antocianos en la piel de manzana. Así pues, factores externos pueden controlar la síntesis de la PAL y/o su actividad y, de esta forma, la formación de antocianos, no directamente, pero sí indirectamente, regulando el nivel del sistema de inactivación de la PAL (PAL-IS: sistema de inactivación de la PAL) (Tan, 1980). Faragher (1983) confirmó que los niveles de actividad de la PAL eran más altos a bajas que a elevadas temperaturas, las cuales inhibían su actividad; sin embargo, la estimulación de su actividad era mayor por el efecto de la luz y de la maduración, que por la acción directa de las bajas temperaturas. Blankenship et al. (1988) concluyeron que el PAL-IS no estaba estrechamente implicado en la regulación de la síntesis de antocianos en manzanas, dado que los niveles de PAL-IS durante la maduración eran comparables entre las variedades 'Red Delicious' y 'Golden Delicious'.

Existen además otras vías en la síntesis de los antocianos involucrados en la coloración de las manzanas (Blankenship et al., 1988). Para evaluar el papel de la PAL como una enzima clave en la formación de antocianos, es preciso conocer más detalles sobre la actuación de otras enzimas en su síntesis. Se ha detectado un sistema de enzimas capaz de degradar los antocianos; la actividad de estos enzimas es menor en variedades muy coloreadas como 'Jonathan', en comparación con 'Golden Delicious' o 'Cox´s Orange Pippin'. Giwen et al. (1988) observaron que la acumulación de antocianos estaba acompañada por incrementos de la actividad de la PAL y del flavonol O³ -glucosil-transferasa. Más información sobre el control enzimático de la formación de antocianos, podría obtenerse comparando el sistema enzimático de variedades rojas y sus mutantes, pero escasos trabajos se han realizado en este campo.

En la *Figura 1-7* se ha representado esquemáticamente la vía biosintética de la antocianidina así como las principales enzimas que intervienen. A partir de la antocianidina correspondiente (cianidina en el caso de los antocianos de la manzana) y por adición de residuos de glalactosa (GI-), se derivan los antocianos (<u>Figura 1-6</u>).

#### Figura 1-7

La biosíntesis de los flavonoides es compleja (*Figuras 1-6* y *1-7*), siendo los aspectos más relevantes de dicha síntesis los siguientes:

#### a) Hidroxilación del anillo B

Los antocianos, flavonoles y procianidinas, están todos hidroxilados en las posiciones 3' y 4' del anillo B (Ver Figuras 1-4 y 1-5). La hidroxilación del anillo 3' B puede también formarse por la condensación del malonil-CoA con ácido cafeico y producir un 3, 4, 2', 4', 6' pentahidróxido de calcona, o posteriormente por la 3' hidroxilación de un intermediario tal como la naringenina o el kaempferol. Heller y Forkmann (1988) sugirieron que el 4-cumarato es el principal o incluso exclusivo precursor para los flavonoles en la mayoría de las plantas. Contrariamente a lo que ocurre en un gran número de tejidos de flores, en las manzanas se han aislado muy pocos intermediarios de los flavonoles, ver Cuadro 4 (tabla 1-4), por lo que es difícil inferir en que estado ocurre la hidroxilación del carbono 3'.

## b) Formación de los derivados del cianidín

Es de destacar la <u>penúltima reacción de la biosíntesis de los cianidín glicósidos</u>, en la cual la leucocianidina (intermediario demasiado inestable para ser aislado) se transforma en cianidín (<u>Figura 1-6</u>), posteriormente el cianidín es glicosilado obteniéndose los cianidín glicósidos. Los pasos de la reacción entre la leucocianidina y la antocianidina son todavía desconocidos.

#### c) Formación de las proantocianidinas.

Las leucocianidinas, formadas a partir del dihidrokaempferol (flavonol), constituyen una parte en la biosíntesis de flavonoles y dan lugar a los antocianos y a la catequina (<u>Figura 1-6</u>). Las reducciones enzimáticas que originan la catequina han sido revisadas recientemente (Mosel et al., 1974a; Porter, 1989; Stafford, 1990). Las proantocianidinas están formadas por cadenas de unidades de flaván-3-ol, siendo las más comunes las procianidinas que estan formadas por cadenas de catequina y/o epicatequina. <u>La presencia de catequinas en la piel de manzanas rojas y verdes, indica que la regulación de las enzimas involucrados en la síntesis de cianidín glicósido, debe producirse posteriormente a la síntesis del leucocianidin.</u>

Consecuentemente, la regulación del eslabón entre el leucocianidín y el cianidín, es un factor clave en el control del color rojo de la piel de las manzanas (Lancaster, 1992).

#### d) Las enzimas glicosiltransferasas

Los flavonoles presentes en elevadas cantidades en la piel de la manzana son glicósidos de la cianidina, quercitina y floretina. Para los dos primeros es la galactosa la que esta presente en elevadas cantidades con menores cantidades de arabinósido de quercitina, ramnosa, xilosa, glucosa y el disacarido ramnoglucosa. Las enzimas glicosiltransferasa flavonoles han sido mencionados en numerosas especies y difieren en la especificidad del sustrato, siendo la flavona aceptor y el azucar dador.

## 3.2.3.- Desarrollo del fruto y relación con la síntesis de antocianos

La coloración de los frutos en variedades rojas de manzana está intimamente ligada al proceso de formación y desarrollo del fruto. En la vida del fruto de la manzana pueden distinguirse las siguientes fases:

- 1. Formación del fruto: La formación de los tejidos del ovario se inicia durante el proceso de la morfogénesis floral, etapa que está bajo control hormonal. En el momento de la antesis el crecimiento del ovario se detiene y no se reanuda a menos que tenga lugar la polinización o que la flor reciba un estímulo equivalente; si esto no ocurre la flor cae por la formación de una zona de abcisión. El estímulo positivo para la reanudación del crecimiento es generado usualmente por el polen durante la penetración del tubo polínico y la fusión de uno de los núcleos masculinos con la ovocélula y con los 2 núcleos polares, lo que tiene también un efecto estimulador del crecimiento del ovario. Depués de la polinización el control del desarrollo del fruto lo asumen las semillas; estas influyen en el desarrollo de los téjidos del fruto y regulan su crecimiento hormonalmente, siendo el endospermo la principal fuente de hormonas.
- 2. Crecimiento del fruto: El crecimiento del fruto implica el desarrollo de un gran número de tejidos y se manifiesta, en general, como un aumento irreversible de la masa del fruto. Puede darse crecimiento sin que aumente el tamaño del fruto, pero sí aumenta el número de sus células. Durante el crecimiento los tejidos que rodean al ovario (receptáculo), junto con éste, se vuelven carnosos y representan una parte muy importante del peso final del fruto. Es difícil definir el momento en que finaliza el crecimiento y empieza la maduración, dado que los cambios se suceden de manera progresiva. El intérvalo entre la antesis y la madurez puede oscilar entre 12 y 24 semanas, según variedades. En la manzana hay

aproximadamente dos millones de células en el momento de la antesis y cuarenta millones en el momento de la recolección (Hulme, 1970). Para conseguir este número de células son necesarias 21 duplicaciones antes de la antesis y solo 4,5 después. El crecimiento posterior del fruto es debido fundamentalmente a un incremento del volumen de las células.

- 3. <u>Maduración</u>: La literatura inglesa distingue entre "maturation" y "ripening" correspondiendo ambos términos a "maduración fisiológica", en el sentido de un órgano que completa su crecimiento, y "maduración plena o organoléptica o de consumo" cuando se refiere a los cambios cualitativos globales que conducen a la obtención de un fruto con cualidades organolépticas deseables para su consumo, inmediatamente antes de su senescencia (Dilley, 1969). La maduración del fruto puede definirse exteriormente como la secuencia de cambios de color, sabor y textura, que hacen que el fruto sea comestible. Los cambios de coloración (debidos a la degradación de las clorofilas y a la síntesis de nuevos pigmentos), la alteración del sabor (incluyendo cambios en la acidez, astringencia y dulzura), los cambios de textura, y la abcisión del fruto del árbol, marcan las pautas de la maduración de los frutos. Además de los cambios visibles, se producen en el fruto una série de cambios básicos en su composición y metabolismo, como son los cambios hormonales y de la actividad respiratoria, y la producción de etileno.
- 4. <u>Senescencia</u>: Se define como una fase en la que los procesos bioquímicos anabólicos (sintéticos), dan paso a los catabólicos /degradativos) conduciendo al envejecimiento y, finalmente, a la muerte tisular (Wills et al., 1984).

En la *Figura 1-8* se han representado las diferentes fases que tienen lugar en el proceso de desarrollo del fruto, así como la evolución de la intensidad respiratoria y de la producción de etileno durante la maduración del fruto. En trazo discontinuo se indica la capacidad de formación de antocianos en manzanas rojas.

#### Figura 1-8

A lo largo de las diferentes fases, se producen cambios en los niveles y en las concentraciones de flavonoles y antocianos que estan intimamente relacionados con el desarrollo del fruto. Desde el punto de vista de la coloración el aspecto más destacable es la existencia de dos máximos en la formación de antocianos en manzanas (*Figura 1-9*).

#### Figura 1-9

- (1) <u>Un primer máximo</u>, durante la fase de intensa división celular, que ha sido en general poco estudiado, debido a que es poco importante desde el punto de vista económico. Los jóvenes frutos (< 2cm de diámetro) de todas las variedades de manzana (incluso en variedades que durante la maduración son poco propensas a la formación de antocianos como 'Golden Delicious') adquieren temporalmente una coloración bronceada marrón-rojiza; dicho color se observa ya desde la caída de pétalos. El pigmento rojo es el cianidín 3-galactósido, y parece ser el mismo que en frutos maduros (Lancaster, 1992). A medida que las manzanas crecen el color rojizo desaparece. La relación entre la formación de antocianos en jóvenes frutos de manzana o en frutos completamente desarrollados no está clara; la pulpa del joven fruto contiene elevados niveles de catequinas, pero se desconocen los niveles y la naturaleza de los flavonoides en manzanas muy jóvenes (Mosel et al., 1974a; Burda et al., 1990). Es probable que la vía biosintética de los glicósidos de quercitina se encuentre activa, al igual que ocurre con la vía de los antocianos y proantocianidinas. Altos niveles de flavonoles y antocianos pueden actuar como protectores de UV al filtrar la luz ultravioleta durante la división celular y prevenir la aberración nuclear.
- (2) <u>Un segundo máximo</u>, coincidiendo con la maduración de las variedades rojas. Los cambios de antocianos durante la maduración han sido estudiados en la variedad '*Cox's Orange Pippin'* (Knee, 1972), sus niveles se incrementaban tres veces (de 4 a 12 mg/cm<sup>2</sup>)

durante dicho período; a lo largo del cual, la concentración de clorofila disminuyó 4 veces mientras que los carotenoides se incrementaron 4 veces. Los trabajos de Workman (1963) y Gorski et al. (1977) ponen de manifiesto un incremento en el contenido de carotenoides durante la recolección; sin embargo, Zelles (1967) indicó que el contenido de carotenoides es relativamente constante a lo largo de la recolección.

Los antocianos se degradan en la piel de los frutos inmaduros tan rapidamente como son formados, proporcionando un nivel de equilibrio que es función de la intensidad de la luz; cuando ésta se reduce (en las zonas de sombreo), los niveles de antocianos disminuían en la piel de frutos inmaduros, mientras que continuan incrementándose en la piel de frutos maduros. La transición desde estadios inmaduros a estadios maduros, con respecto a la acumulación de antocianos, ocurre rápidamente y precede en 2 o 3 semanas a la recolección, lo que sugiere que este atributo podría usarse en la predicción de la madurez en variedades rojas de manzano (Chalmers et al., 1973). En la variedad 'Starking Delicious', en las condiciones climáticas de la zona de Lleida, también se puso de manifiesto que la síntesis de antocianos tenía lugar en las últimas fases de crecimiento del fruto, es decir, a partir de 135 días después de la plena floración (Recasens, 1982), o lo que es lo mismo 20-25 días antes de la recolección; en este período, tuvo lugar una síntesis rápida de antocianos hasta la recolección, incrementándose el contenido inicial en 6 veces.

Ambos máximos ocurren bajo una gran diversidad de condiciones ambientales, desde temperaturas frías hasta climas tropicales, lo que hace suponer un control endógeno del color. Por otra parte, la coloración depende también del tamaño y del estado de madurez del fruto. Chalmers et al. (1973) señalaron que el incremento de la capacidad de las manzanas para acumular antocianos, cuando se aproxima la recolección, no depende de variaciones en los factores ambientales, sino que es función de la maduración. El potencial de producción de antocianos en frutos jóvenes y en frutos próximos a la recolección es análogo, diferenciándose ambos estadios por el potencial para degradar antocianos. De esta manera, en frutos inmaduros los antocianos son degradados tan rápidamente como se forman, mientras que en frutos próximos a la recolección el grado de degradación es menor que el de síntesis.

Sin embargo, no se ha identificado el factor responsable de la predominancia de la degradación sobre la síntesis, que pueda explicar la represión entre los dos máximos de la formación de antocianos en variedades rojas.

Arakawa (1988b) puso de manifiesto que la capacidad del fruto para producir antocianos durante la recolección difiere entre variedades; variedades poco coloreadas como 'Fuji', 'Jonagold' o 'Rall's Janet' alcanzan un máximo coincidiendo con el incremento de etileno en los tejidos corticales y posteriormente disminuye, mientras que en variedades como 'Starking Delicious' o 'Jonathan' continua incrementándose después del inicio de la maduración. Los cambios de acumulación de antocianos pueden ser útiles para predecir la madurez en variedades como 'Jonathan', o en otras variedades rojas precoces o de media estación. Mientras el nivel de antocianos en un estadio concreto de madurez puede estar relacionado con factores ambientales, la capacidad de acumulación de antocianos es función del estado de madurez y es independiente de la influencia medioambiental (Chalmers et al., 1973; Singha et al., 1994).

#### 3.2.4.- Regulación de la formación y represión de antocianos

La **formación de los antocianos** está determinada genéticamente, pero puede verse influenciada por determinados factores externos como la luz y la temperatura (Walter, 1967; Blankenship, 1987; Saure, 1990; Lancaster, 1992). La manipulación genética del color en

flores está bien establecida (Mol et al., 1988; Forkmann, 1991), mientras que en manzanas, a pesar de existir numerosas publicaciones sobre la influencia de la regulación ambiental, se dispone de escasa información sobre la genética molecular del color.

Determinados factores externos pueden influir en el sustrato disponible -especialmente azucares- para procesos metabólicos que se encuentran bajo control endógeno, o bien interferir con el mismo. Los mecanismos de control endógeno no son necesariamente identicos en frutos jovenes y en frutos recolectados; si la formación de antocianos en manzanas maduras depende de la actividad fotosintética, debido a su bajo contenido en fitocromos, se puede especular que la formación de antocianos en frutos jovenes no depende de la actividad fotosintética, afirmación basada en los siguientes razonamientos:

- \* Las manzanas jóvenes muestran una elevada actividad meristemática en la pulpa del fruto durante varias semanas después de la floración.
  - \* Los tejidos meristemáticos tienden a ser ricos en fitocromo.
- \* Las manzanas jovenes también son ricas en fitocromo, independientemente de la variedad.

Consecuentemente, se ha observado una rápida formación de antocianos en pequeños frutos de todas las variedades de manzana (aunque de intensidad diferente), si reciben la suficiente luz pierden esta capacidad, por razones todavía desconocidas. Esto a menudo es considerado como un resultado de noches frescas; sin embargo, es más probable que la dependencia de la luz en la formación de antocianos en manzanas jovenes sea completamente endógena, dado que dicha formación puede observarse incluso en los trópicos con elevadas temperaturas.

Otros factores externos actuan esencialmente reduciendo la represión de la formación de antocianos, modificando de esta manera la respuesta o sensibilidad de la luz. Diferentes factores relacionados con el suelo o el árbol pueden limitar el suministro y la transferencia de giberelinas desde las raíces a los frutos, como por ejemplo la limitación del nitrógeno, portainjertos enanizantes y la poda de raíces.

El modo de actuación de diversos factores en la formación de antocianos, es todavía discutida, y la información disponible es a menudo contradictoria; de hecho, es dificil entender por qué algunas variedades de gran importancia económica como 'McIntosh' en Estados Unidos, 'Fuji' en Japón, y 'Jonagold' en Europa se ven afectadas por una escasa coloración determinados años y en determinadas regiones; por qué, aplicaciones de reguladores de crecimiento tales como la daminozida, promueven la formación de color en algunos casos pero no en otros; por qué frutos, de árboles vecinos, o incluso muy próximos dentro de un mismo árbol, difieren en su coloración, en función de los años; y por qué el efecto de los cambios de temperatura varia a lo largo del proceso de desarrollo y maduración del fruto.

Como norma general, la acumulación de antocianos disminuye en todas las variedades de manzano, después de un máximo inicial en el período de división celular. En variedades rojas, la acumulación de antocianos se inicia cuando se aproxima la maduración, Ver Figuras 1-8 y 1-9. Inicialmente se postuló, que la baja síntesis de antocianos en frutos inmaduros era debida a un conjunto de factores requeridos para dicho proceso tales como la síntesis del ácido sicímico. Posteriormente, Chalmers et al. (1973) sugerieron que era la dominancia de la degradación sobre la síntesis más que una reducida síntesis de antocianos, lo que impedía su acumulación en la piel de frutos inmaduros, especialmente en condiciones de baja intensidad de luz. También está generalmente aceptado que existe una proporcionalidad entre la intensidad de la luz y la síntesis de antocianos; altas intensidades de luz son requeridas para obtener al menos algo de coloración en frutos inmaduros, lo que indicaría una rápida

degradación de antocianos en dicho estado de desarrollo.

El mecanismo de **degradación** que origina la inhibición de la acumulación de antocianos en frutos inmaduros no está todavía claro. Sin embargo, existen varias indicaciones que las giberelinas están involucradas, las cuales son conocidas por su potencial en reducir o retrasar la formación del color. Es conocido que la GA<sub>3</sub> retarda la perdida de clorofila, incrementa el contenido en carotenoides, disminuye la dureza, así como otros síntomas de madurez en frutos de determinadas especies.

En manzanas, la actividad de la PAL se ha encontrado solamente en aquellas partes de la piel de manzana que estaban expuestos al sol. La GA<sub>3</sub> puede suprimir la actividad de la PAL; sin embargo, actualmente no se dispone de información que explique por que la actividad de las giberelinas es diferente en las dos caras opuestas de frutos maduros; podría especularse que se dá la siguiente secuencia: más luz implica una menor actividad de la las giberelinas, lo que provoca una mayor actividad de la PAL y ésta como consecuencia induce una mayor formación de antocianos.

Si la hipótesis que las giberelinas inducen una represión en la formación de antocianos en manzanas inmaduras es válida, el etileno debería tener un efecto opuesto debido a su antagonismo con las mismas: tratamiento con etileno pueden originar una disminución en los niveles endógenos de las giberelinas, así como una disminución de su actividad (McGlasson et al., 1978); por otra parte se conoce que el etileno promueve la formación de antocianos. Parece que esta promoción debe ser interpretada como un efecto indirecto del etileno antagonizando con las giberelinas, más que como efecto directo. Otro de los efectos del etileno es incrementar los niveles de ácido abscísico (ABA), el cual es también antagonista de las giberelinas y, contrariamente a la GA<sub>3</sub>, puede promover el desarrollo y la disminución de la PAL.

El incremento en la formación de antocianos se ha considerado habitualmente como el resultado del mayor contenido en azúcares y/o la disminución del contenido de clorofila. Asumiendo el efecto de represión de las giberelinas, parece que dichos sucesos no estan casualmente relacionados y que su coincidencia indica una disminución de la actividad de las giberelinas, debido a que éstas además de inhibir la formación de antocianos, reducen la concentración de azucares previniendo su degradación. Sin embargo, podría también existir una promoción directa de la formación de antocianos por los azucares, como indicó Jones (1973), según el cual <u>una conjunción de las giberelinas con el azucar podría ser importante secuestrando las giberelinas y de ésta forma disminuyendo su efecto represor en la formación de antocianos.</u>

Incluso la promoción de la formación de antocianos por la luz UV, puede entenderse mejor si se asume la represión de la síntesis de los antocianos por las giberelinas. La radiación UV-B incrementa la actividad del fitocromo; este incremento ha sido atribuido a la existencia de un fotoreceptor de UV diferente que el fitocromo. Sin embargo, diferentes experiencias indican que la radiación UV-B puede interferir con la acción de las giberelinas: radiaciones de corta longitud de onda durante la luz del día afectan negativamente al desarrollo del fruto (Klein, 1978; Caldwell, 1981; Wellman,1983). A pesar de ésto, la radiación UV origina un incremento del contenido de PAL y otras enzimas (Tobin et al., 1985).

Sin embargo, elevados niveles de giberelinas no son probablemente la causa del retraso de la maduración y de la reducción en la formación de antocianos, como lo evidencia el elevado contenido de clorofila por unidad de piel en manzanas escasamente coloreadas del interior de la copa del árbol, o la lenta degradación de los altos contenidos de clorofila observados en frutos pequeños y con poco color de árboles viejos. En todos estos casos, la

falta de sustratos necesarios retrasa la maduración, la cual solamente puede iniciarse una vez que han tenido lugar todos los pasos previos para el desarrollo del fruto. Si la recolección se retarda, menos etileno y menos ABA estarán disponibles para contrarestar la escasa actividad de las giberelinas; por tanto, la degradación de la clorofila será pospuesta y la maduración y la formación del color se verán retrasados.

En base a lo expuesto anteriormente se puede deducir que la formación de antocianos en manzanas depende del balance entre:

- a) La capacidad endógena de formación de antocianos, basada primariamente en el nivel de actividad del fitocromo, y probablemente también de la actividad fotosintética para la expresión de la respuesta.
- b) La represión endógena de la formación de antocianos, la cual parece estar controlada por el balance entre la actividad de las giberelinas y la actividad del etileno y/o del ABA.

#### 3.2.4.1.-Factores de control endógeno en la biosíntesis de antocianos

A pesar de que existe evidencias de que la vía de biosíntesis de los antocianos es similar en flores y en frutos, la regulación de dicha vía por factores internos y ambientales difiere entre flores y frutos de manzana (Saure, 1990). Sin embargo, se dispone de muy poca información de como los factores externos - expuestos en el apartado siguiente - ejercen su influencia sobre los mecanismos de control endógeno con los cuales interfieren. A continuación se exponen los principales factores de control endógeno en la biosíntesis de antocianos.

## \*AZUCARES

Dado que los antocianos son compuestos glicosados de la cianidina, la presencia de los azucares para la formación de antocianos es imprescindible; sin embargo, cabe diferenciar cuando una sustancia actua como sustrato para un proceso fisiológico (caso de los antocianos), o cuando ésta controla el proceso. Se ha observado, que los frutos mejor expuestos a la luz pero con bajo contenido en azucares no colorean bien, lo que indica que un factor importante para la coloración de las manzanas es su composición química, más que las condiciones climáticas o la iluminación (Jones, 1973). El incremento de la síntesis de antocianos va asociado a una disminución de clorofilas y a un aumento de la cantidad de azucares, siendo los más efectivos para la formación del color la galactosa y la glucosa, mientras que otros tienen poco efecto o incluso reducen su formación.

Recasens (1982) observó, en la variedad 'Starking Delicious', un máximo en el contenido de almidón en la pulpa de la manzana a los 111 días después de la plena floración, descendiendo este fuertemente al aproximarse la recolección (a partir de los 135 días). Se observó una coincidencia entre la degradación del almidón y el incremento de azucares y la acumulación de antocianos.

Chalmers et al. (1973) postularon que no era incrementando la síntesis de antocianos, sino disminuyendo su degradación lo que favorecía su acumulación. En frutos inmaduros, en los cuales los productos de fotosíntesis son rápidamente convertidos en almidón, una escasez de galactosa permitiría una rápida degradación de las antocianidinas. Con el proceso de maduración, el almidón es transformado en azucares, produciéndose un incremento de galactosa antes de la recolección (Recasens, 1982), lo que podría permitir la acumulación de antocianidinas formando el antocianidín glicósido, el cual puede ser exportado hacia las vacuolas sin su previa destrucción. Schmid (1967), observó que la galactosa pero no la glucosa, inhibían la destrucción enzimática de los antocianos en la piel de la manzana. Por

otra parte, la conjunción de las giberelinas con la galactosa tendría un efecto secuestrante de las mismas, por lo que disminuiría el efecto represor de ésta en la formación de antocianos.

Contrariamente a lo que cabría esperar no se encontraron diferencias significativas en los contenidos de glucosa, galactosa y fructosa, entre variedades y sus respectivos mutantes más coloreados (Seipp et al., 1984); el incremento de dichos azucares en la piel de manzana, durante la recolección, no fué diferente entre variedades rojas y amarillas (Noro et al., 1988). También se observó que los frutos inmaduros contienen solo pequeñas cantidades de azucares (Beruter, 1984) a pesar de su intensa aunque temporal coloración roja.

## \*FITOCROMO

La estimulación de la síntesis de la PAL por la luz es vehiculada por la vía del sistema del fitocromo. El fitocromo es un pigmento fotosensible que actua como fotoreceptor en la síntesis de antocianos; se encuentra bajo dos formas: la forma Pr, fisiológicamente inactiva para la absorción roja, y la forma Pfr, fisiológicamente activa para la absorción del rojo lejano (FR). La luz roja convierte el Pr en Pfr y, consecuentemente el Pfr es convertido en Pr, ambos por el FR y en la oscuridad. Las plantas etioladas pueden contener hasta 100 veces más de fitocromo que las verdes creciendo bajo la luz. Las mayores cantidades de fitocromo han sido encontradas en tejidos jovenes meristemáticos, que no poseen aún la capacidad de destruir el fitocromo, el cual está sujeto a la destrucción por la luz, siendo altamente susceptible a la proteolisis. Ambas, la proporción de destrucción y de reversión, disminuyen sustancialmente con temperaturas decrecientes.

Arakawa (1988a) observó que el rojo lejano no influía de forma desfavorable en el efecto de una irradiación previa con UV (ultra-violeta) -B (azul) y concluyó que el efecto de la radiación UV-B en la formación de antocianos en discos de piel de manzana era independiente del fitocromo. En realidad, varios autores han sugerido la existencia de un fotoreceptor de UV, que actua independientemente del fitocromo. Yatsuhashi et al. (1985) señalaron que el fotoreceptor de UV y el fitocromo pueden potenciar su acción sinérgicamente incrementando la síntesis de antocianos; considerándose también que dicha síntesis es *per se* el resultado, exclusivamente, de la activación de los genes que regulan el Pfr.

#### \*ETILENO

En manzana productos liberadores de etileno, como el etefón, promueven a menudo la formación del color, dependiendo de la variedad. Varios autores sostienen que éste es un efecto directo del etileno (Swindeman et al., 1988), mientras que otros consideran que la síntesis de antocianos es un efecto indirecto del proceso de maduración.

Chalmers et al. (1977a,b) observaron que varios factores que promueven la síntesis de antocianos (maduración, luz UV, etc.), incrementaban los niveles de etileno en los tejidos y, de esta manera, los cambios observados con relación a la producción de etileno preceden la actividad de la PAL y la acumulación de antocianos. Faragher et al. (1977a) concluyeron que el etileno, al menos a bajos niveles, puede promover la formación de antocianos incrementando los niveles de PAL, para lo cual se requiere también la presencia de luz. En manzanas inmaduras separadas del árbol, la aplicación exógena de etileno incrementa la síntesis de antocianos y los niveles de PAL, y también previene la perdida de actividad de la PAL, al contrario de lo que ocurre en manzanas no tratadas; en manzanas maduras, el etileno incrementó la concentración final de antocianos pero no significativamente la proporción de su acumulación. En manzanas no recolectadas, el incremento de antocianos, asociado a la madurez, parece estar más extrechamente relacionado con el incremento de etileno que con la

disminución de temperaturas (Faragher et al., 1984).

Tanto la producción de etileno como la madurez pueden actuar, conjuntamente o sinérgicamente, con los efectos de la temperatura en la regulación de los niveles de PAL y en la acumulación de antocianos (Dilley, 1979; Faragher, 1983). Blankenship (1987) no encontró diferencias importantes en el inicio de la producción de etileno cuando se compararon los efectos de temperaturas nocturnas altas y bajas a pesar de una mejor formación de antocianos con temperaturas nocturnas bajas.

### \*GIBERELINAS

La aplicación de ácido giberélico puede reducir o retardar la formación de antocianos en manzana y otras especies (Hegazi et al., 1980; Hansen et al., 1988), inactivando la PAL (Heinzmann et al., 1977; Fry, 1979). Los efectos del GA<sub>3</sub> han sido parcialmente atribuidos al retraso de maduración, un fenómeno también observado en naranjas y otros frutos que no exiben una formación sustancial de antocianos.

### \*CLOROFILA

El inicio de la intensa coloración de las manzanas previo a la recolección viene normalmente asociada a la degradación del color de fondo proporcionado por la clorofila. Schulz (1986) dedujo que la formación intensa de antocianos, solamente es posible cuando se inicia la degradación de las clorofilas. La elevada fertilización en nitrógeno incrementa el contenido de clorofila pero inhibe la formación de antocianos. Las manzanas que tienen una menor capacidad para la formación de antocianos son aquellas más pequeñas y situadas en la parte basal del interior de la copa de los árboles; dichas manzanas desarrollan considerablemente más clorofila por unidad de área de piel, que los frutos grandes situados en las partes altas de la copa (Tustin et al., 1988). A medida que avanza la edad del árbol, los frutos son más verdes y más pequeños, poseyendo una menor capacidad para la formación de antocianos. La degradación de clorofilas tiene lugar muy lentamente después de la recolección y el almacenamiento, debido a la baja actividad metabólica del fruto. En años con baja insolación y mucha lluvia, las manzanas contienen relativamente poca clorofila, pero su actividad es también baja y la recolección se retrasa (Schulz, 1969).

Reger (1944) confirmó una relación inversa entre la presencia de clorofila y el contenido de antocianos en células epidérmicas y hipodérmicas de manzana. La formación de antocianos se inicia en la epidermis y prosigue gradualmente hacia el interior a medida que el fruto madura. Varias observaciones realizadas en partes verdes de otras especies confirman que la clorofila puede también absorber gran parte de la luz roja, reduciendo de esta forma su eficiencia en el control del fitocromo y es por ello que en tejidos verdes se requiere mucha más irradiación en comparación con tejidos etiolados (Mancinelli, 1985; Karazinova et al., 1985). Condiciones de escasa iluminación incrementan la sensibilidad a los rayos UV (Caldwell, 1981), y es este incremento de sensibilidad a la radiación UV y no un elevado porcentage de rayos UV y de luz solar, lo que origina una rápida coloración de las manzanas después de un período de tiempo lluvioso. El incremento de sensibilidad, es debido a la disminución del efecto de selección por la clorofila y a la escasa destrucción del fitocromo bajo condiciones de poca luz, lo que origina elevados contenidos de fitocromo. Sin embargo, si los niveles de fitocromo son bajos, su mayor efectividad puede originar solamente un pequeño incremento en la formación de antocianos. Tanto el embolsado de frutos como el tratamiento de radiación UV-B, incrementan la formación de antocianos así como el contenido y la efectividad del fitocromo.

La clorofila en las manzanas se localiza en las células que se encuentran debajo de las

capas de células donde tiene lugar la pigmentación y puede estar presente incluso después de la aparición de antocianos. En la epidermis se encuentran una gran proporción de células pigmentadas, a pesar de que existen importantes diferencias entre variedades, y de esta manera, de 3 a 8 capas de células subyacentes a la cutícula pueden estar involucradas en la formación de antocianos. La temperatura influye significativamente en el incremento de la acumulación de antocianos, pero no en la disminución progresiva de clorofilas a lo largo de la estación, no existiendo una relación directa entre la disminución del contenido de clorofilas y el desarrollo del color rojo (Watanabe et al., 1983). Roemer (1984), no encontró diferencias en el contenido de clorofilas de diversas variedades de manzana y el de sus respectivos mutantes rojos.

### 3.2.4.2. -Factores de control externo en la biosíntesis de antocianos

La promoción de la formación de antocianos puede conseguirse por la acción de factores externos que interfieren con el control endógeno, ya sea incrementando la capacidad de la formación de antocianos o bien reduciendo la represión para su formación. Dado que todos los factores pueden interaccionar entre ellos, cabe esperar una amplia variedad de posibles respuestas a cada uno de ellos.

Diferentes factores externos tienen un efecto directo o indirecto sobre la formación de antocianos en manzanas; sin embargo, se tienen pocos conocimientos de como ejercen su influencia en los mecanismos del control endógeno con los cuales interfieren. A pesar de ello, una insuficiente coloración ha sido generalmente atribuida a una falta de prerequisitos necesarios para la formación del color, ya sea dentro o fuera del fruto. A continuación, se describen detalladamente los mecanismos de actuación y de control de los factores externos.

### \*LUZ

La biosíntesis de antocianos en los tejidos de plantas requiere luz y se intensifica por ésta; en manzanas la formación de antocianos es un proceso absolutamente dependiente de la luz; manzanas mantenidas en la oscuridad o con poca luz no coloreaban (Mancinelli, 1985). La luz es necesaria para la fotosíntesis, la cual proporciona, entre otros, compuestos carbonatados que son imprescindibles para la síntesis de la idaeina. Dicho pigmento antociánico se forma en la epidermis del fruto gracias a una serie de reacciones químicas sucesivas, algunas de las cuales requieren de la presencia de la luz. Siegelman y Hendricks (1985) observaron que la piel verde de diferentes variedades extraidas del árbol maduras, requerían un período de irradiación próximo a las 20 horas antes del inicio de la formación de antocianos. Después de un período de inducción de entre 12 y 15 horas, los antocianos se incrementaban linealmente con el tiempo bajo una radiación continua. En manzanas embolsadas en el árbol para la protección de la luz, Proctor y Lougheed (1976) observaron una estimulación de la síntesis de antocianos después de un día de haber eliminado las bolsas.

<u>La luz</u> actua en dos sentidos: incrementa la capacidad de formación de antocianos, promoviendo la síntesis o la activación de enzimas por la vía del sistema fitocromo (activándolo) y del aparato fotosintético; y por la provisión de sustratos vía fotosíntesis, lo que reduce la represión de la formación de antocianos al limitar la actividad de las giberelinas.

Los requerimientos en luz para la biosíntesis de antocianos oscilan entre el 70 al 80% de la plena luz del sol. Un adecuado color no puede desarrollarse en condiciones limitantes de la luz, tales como en el interior de la copa del árbol. Dicho de otra forma, del 30 al 50% de la plena luz solar no es adecuada para obtener una coloración total, requerida por las categorías

extra de manzanas rojas 'Red Delicious'. A pesar de esto, existen importantes diferencias entre variedades, especialmente en las de obtención más reciente, por su capacidad de desarrollo del color incluso en zonas sombreadas (Ketchie, 1988; Baugher et al., 1990a; Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991a,b; 1994; Warner, 1995c). En contraste con lo expuesto, la fotosíntesis puede producirse efectivamente con solo el 30-40% de plena luz solar. La falta de luz reduce el desarrollo del color del fruto; de hecho, el sombreo con una hoja puede reducir la intensidad de la luz en un 90% y al actividad fotosintética en un 28%, con respecto a hojas bien expuestas a la luz; reduciendo la cantidad de carbohidratos exportados hacia el fruto y hacia las yemas, provocando en la zona de sombreo del fruto una carencia de color. El efecto del sombreo puede observarse facilmente en un fruto con la presencia de una hoja adyacente al mismo, el área cubierta por la hoja permanece de color verde mientras el resto adquiere coloración.

El porcentage de coloración depende de la exposición a la luz, observándose en muchas variedades que frutos situados en zonas de sombra (o bien la cara sombreada del fruto), presentan una escasa o nula coloración. Es por ello que puede conseguirse una mejora del color proporcionando una mayor porosidad del árbol a la penetración de los rayos solares, de donde se deduce el efecto beneficioso que tiene en el color la poda en verde. Otras prácticas culturales como la eliminación de ramas superpuestas, un buen aclareo, la eliminación de frutos situados en zonas de sombra, la limitación de los abonados nitrogenados para limitar el crecimiento vegetativo y el consecuente sombreo, tienen un claro efecto beneficioso sobre la mejora del color.

### ⇒Energía de la luz

En porciones de piel de manzana Siegelman y Hendricks (1958) encontraron un incremento lineal de la acumulación de antocianos con la intensidad de la luz, hasta alcanzar un determinado nivel. También se confirmó la necesidad de un tiempo largo de irradiación a elevadas intensidades para una apreciable síntesis de antocianos (Downs et al., 1965). De forma similar Proctor y Creasy (1971), encontraron una estrecha relación entre la distancia del fruto a lamparas fluorescentes y la cantidad de antocianos producidos, cuando la luz natural dentro de la copa del árbol era suplementada con 48 horas de radiación continua, proporcionando un mínimo requerido para que la iniciación de antocianos fuera alcanzada. Una proporcionalidad entre la intensidad de la luz y la producción de antocianos, fué confirmada por Bishop y Klein (1975), y Klein (1978), en manzanas separadas del árbol.

### ⇒Calidad de la luz

Diversos experimentos (Clerinx, 1983), muestran que no solo la intensidad sino también la calidad de la luz influye en la formación de antocianos, siendo la luz <u>azul-violeta</u> (BV) y la ultravioleta (UV) las más efectivas y el rojo lejano (FR) el menos efectivo o incluso inhibitorio. De acuerdo con ello, la frecuente y más intensa coloración observada en manzanas producidas en zonas elevadas, y la tendencia de estas a colorear rápidamente después de un período de tiempo lluvioso, han sido atribuidos a <u>un mayor porcentage de radiación UV</u> bajo dichas condiciones (Downs et al., 1965; Proctor et al., 1971; Proctor, 1974; Smith, 1982), las cuales son capaces de promover la formación de antocianos incluso en el interior de la copa del árbol.

### ⇒Efectividad de la luz

El efecto de determinadas intensidades de luz puede variar considerablemente en el transcurso del desarrollo del fruto. Chalmers et al. (1973) observaron que, en frutos

inmaduros, la reducción de la intensidad de luz causaba un decremento en el contenido de antocianos, mientras que la acumulación continuaba en frutos maduros. Los mismos autores observaron que en frutos inmaduros separados del árbol, la acumulación de antocianos se detenía más temprano, mientras que ésta continuaba en frutos maduros separados del árbol (Chalmers et al., 1977a).

La eficiencia de la luz es variable también según variedades. La formación del color en variedades de recolección temprana se ve, en general, más afectada adversamente por la reducción de luz que en variedades tardías, pero las diferencias también varían entre grupos de variedades dentro de una misma época de recolección. Los mutantes de variedades como 'Cox's Orange Pippin', difieren no solo en la intensidad del color y en el porcentage del fruto coloreado, sino también en su capacidad de desarrollar al menos algo de color en los frutos situados dentro de la copa del árbol (Lowel et al., 1964). De forma similar, Proctor (1974) estableció que los requerimientos mínimos en luz eran variables entre variedades, mientras que la longitud del período de inducción de la síntesis de antocianos fué aproximadamente la misma en las diferentes variedades estudiadas (Siegelman et al., 1958).

Arakawa et al.(1986) y Arakawa (1988b) señalaron que las variedades diferían no solo en su respuesta a la luz blanca, sino también en su dependencia de determinadas calidades de luz para la formación de antocianos. En variedades de más fácil coloración, como 'Starking Delicious' o 'Jonathan', la máxima síntesis de antocianos se da con un bajo flujo energético compuesto por luz blanca y UV-B. En 'Fuji', la cantidad total de antocianos fué menor, requiriéndose alta intensidad de luz y fué más dependiente de la radiación UV-B. En 'Mutsu' y 'Golden Delicious' no hubo formación de antocianos incluso con alta intensidad de luz blanca, pero al menos una pequeña coloración se dió cuando se añadió radiación UV-B.

### \*HUMEDAD/ALTITUD

Una baja humedad relativa ha sido correlacionada con un incremento de color rojo, una disminución en la formación de lenticelas y un mayor atractivo del fruto (Lancaster, 1992). La altitud afecta especialmente la forma del fruto, produciendo frutos mas alargados y con lobulos más prominentes, especialmente en variedades del grupo 'Red Delicious'. La altura también afecta la percepción de la luz UV, por lo que a mayor altura existe una mayor radiación UV, que junto a temperaturas nocturnas más bajas favorecen la síntesis de antocianos en zonas de montaña.

### \*SUELO

### ⇒Nutrientes

De los diferentes factores del suelo, la disponibilidad de nitrógeno es el parámetro más importante para la formación de antocianos. En general, una sobrefertilización nitrogenada se asocia con una reducción del porcentage de frutos bien coloreados en el momento de la recolección, debido al efecto directo de una mayor densidad de follaje y a un efecto indirecto no explicado (Beattie,1954). Es por ello, que el nitrógeno puede utilizarse para la supresión de la formación de antocianos en manzanas verdes como 'Granny Smith', en la cual el color rosado no es deseable (Ruiz et al., 1986). Por otra parte, altos niveles de nitrógeno mantenidos al final del crecimiento, son más perjudiciales para el color que los aplicados tempranamente (Keather, 1965; Lüdders et al.,1969). Otros nutrientes como el potasio favorecen el desarrollo del color en algunas variedades (Walter, 1967); por lo que altos niveles de este elemento, complementan el efecto positivo de bajos niveles de nitrogeno en la formación de antocianos, probablemente también de forma indirecta, pero generalmente promoviendo el desarrollo normal del fruto.

### ⇒Humedad del suelo

Es difícil establecer un efecto directo entre la humedad del suelo y la formación de antocianos; sin embargo, parece que la humedad del suelo promueve su formación, especialmente en períodos o climas secos durante el desarrollo del fruto (Walter, 1967). Contrariamente, si se produce estrés hídrico la formación de antocianos se detiene, aunque también la humedad excesiva va en detrimento de la biosíntesis de estos pigmentos (Walter, 1967; Clerinx, 1987).

### \*FACTOR ÁRBOL

El desarrollo del fruto se realiza en el árbol. Numerosas referencias evidencian una mayor formación de antocianos en frutos separados del árbol comparado con frutos en el árbol: manzanas expuestas a la luz después de la recolección, a menudo se enrojecen más rapidamente que las bien iluminadas que permanecen todavía en el árbol, lo que ha sido largamente utilizado como una práctica para mejora del color (Saure, 1990). Uota (1952) observó, que el efecto negativo de las altas temperaturas de la formación del color en manzanas 'McIntosh' era más manifiesto en frutos en el árbol, por lo que concluyó que los factores necesarios para la formación del color rojo en manzanas no eran los mismos para manzanas en el árbol que en manzanas separadas del árbol, a pesar de ocupar la mísma posición.

La naturaleza y el origen del factor árbol es todavía discutido. Las observaciones sobre el incremento del color concuerdan con las referentes a una aceleración de la maduración en frutos recolectados, en comparación con los que permanecen en el árbol (Stafakiotakis et al., 1973; Lau et al., 1986; Yang et al., 1986).

Aparte de la influencia del factor árbol, su edad también influye en la coloración de los frutos. A medida que avanza la edad del árbol el color disminuye, debido a que aparecen más zonas de sombreo, y por tanto la iluminación de los frutos es menos uniforme (Chalmers et al., 1973; Proctor, 1974; Williams, 1989; Williams et al., 1989). Por otra parte, la falta de estabilidad de muchas variedades se manifiesta por la aparición de reversiones, más frecuentes en árboles en plena producción (Clenrix, 1983; Fisher et al., 1989).

### \*HOJAS

El número de hojas es importante para el desarrollo del color. Con solo 10-20 hojas/fruto el desarrollo del color fué insuficiente en muchas variedades, a pesar de una perfecta exposición de los frutos a la luz; en variedades 'Delicious', se considera que se requieren al menos 40 hojas para la producción de frutos de tamaño medio-grande y bien coloreados, y de 20 a 25 hojas/fruto en 'Jonathan'. En esta variedad, la formación del color se veía reducida en árboles viejos, dado que su vigor, tamaño y número de hojas por fruto disminuía; sin embargo, cuanto más grande era el área foliar más intenso era el color y mayor fué el porcentage de fruto coloreado (Jansen,1986; Clerinx, 1987). Con árboles de 'Jonathan', 100 hojas/fruto proporcionaron una mejor coloración que 50 hojas/fruto; así mismo, en diversos mutantes coloreados de la variedad 'Jonagold', la mejor coloración correspondió a los frutos con una mayor área foliar y se observó que la presencia de virosis disminuía el crecimiento y también la relación hojas/fruto, que juega un papel muy importante en la coloración de los frutos (Goddrie, 1990).

De lo anteriormente expuesto, se deduce que el aclareo, al incrementar la relación hojas/fruto, mejora el desarrollo y la coloración de los frutos. Todas estas aportaciones dan soporte a lo sugerido por Heineche (1966), en el sentido de que las hojas que se encuentran

bien expuestas a la luz, promueven inicialmente las características del fruto tales como tamaño, maduración y sólidos solubles, mientras que el desarrollo del color puede ser inicialmente un efecto directo de la luz que realmente alcanza al fruto.

### \*PRÁCTICAS CULTURALES

Las prácticas culturales pueden influenciar indirectamente la formación de antocianos, ya sea acentuando o inhibiendo los efectos de factores externos al fruto, y también pueden influenciar directamente el desarrollo del fruto.

### ⇒<u>Poda</u>

La poda puede reducir la producción del árbol y de esta forma incrementar la disponibilidad de nutrientes de los frutos restantes. Sin embargo, la alteración del ratio raíz/tallos, puede promover el crecimiento de brotes a expensas del desarrollo del fruto provocando alteraciones de los mecanismos internos del control del árbol (Saure, 1981). Por lo tanto, existe una gran diversidad de respuestas a la poda en lo que se refiere a la formación de antocianos.

Severas podas invernales, generalmente, reducen el color de los frutos al favorecer la actividad vegetativa y consecuentemente aumentar las zonas de sombreo. La poda de verano provoca, en mayor o menor grado, un incremento de la síntesis de antocianos, debido a la mejora de la exposición de los frutos a la luz, aunque no siempre es efectiva. En climas calurosos puede ocasionar, golpes de sol en frutos, si no se realiza en el momento adecuado. En variedades de recolección tardía como 'Fuji' la poda en verde realizada a final de agosto mejora notablemente la coloración de los frutos (Blanchet et al., 1995).

### ⇒Embolsado

El embolsado de frutos es un práctica efectiva para inducir la formación del color; se realiza un més después de la plena floración, cubriendo los frutos con bolsas de papel o de otros materiales; transcurridos algunos meses los frutos desarrollan rapidamente color rojo y algunos días después su color es superior, en la mayoría de las variedades, al de los frutos no embolsado (Kikuchi, 1964). Tanto el embolsado de frutos, como los tratamientos con UV, devuelven e incrementan la capacidad de formación de antocianos en variedades rojas, debido a que el embolsado probablemente incrementa el contenido de fitocromo, ya que es conocido que los tejidos etiolados poseen varias veces más fitocromo que los tejidos verdes y que la luz causa su destrucción.

### ⇒Aplicación de productos químicos

La aplicación de productos químicos para estimular la formación de antocianos tiene una larga historia. Hasta hace poco tiempo, dos eran generalmente recomendados para la mejora del color: el etefón y la daminozida.

\* El etefón actua liberando etileno y acelerando así el proceso de maduración, con lo que el fruto adquiere la coloración própia de estadios de desarrollo más avanzados (Larrigaudiere et al., 1995). Es incapaz de inducir el color rojo sin la suficiente luz o en variedades verdes como la 'Golden Delicious'; sin embargo, puede promover la formación del color, sin adelantar sustancialmente el proceso de maduración, si se aplica en combinación con una aplicación previa de daminozida (Blanpied et al 1975). En variedades rojas suele aplicarse dos semanas antes de la recolección normal para favorecer la formación de antocianos, siendo la respuesta es variable en función de la variedad y el año en cuestión. Todo ello plantea un problema, y es que los frutos climatéricos son más sensibles con

respecto a los cambios de maduración provocados por el etileno, que con respecto a la síntesis de antocianos, por lo que el efecto de este producto no siempre ha proporcionado los resultados deseables, lo que ha limitado en gran medida su posible interés. Los tratamientos de etefón pueden reducir la formación y la actividad de la giberelina endógena, contribuyendo probablemente de esta forma indirecta a mejorar la formación de antocianos.

\* La daminozida es un retardante de crecimiento que promueve la síntesis de antocianos y consecuentemente mejora el color en algunas variedades rojas de manzanas (Chiriac, 1983; Maeyer De, 1984; Rooijen Van, WJ., 1984; Graell, 1991), al provocar un retraso en la recolección, permitiendo que los frutos puedan permanecer más tiempo en el árbol, quedando así expuestos más tiempo a las temperaturas más frescas de final de verano.

La acción de la daminozida no esta clara; diversas referencias indican que interfiere con las giberelinas endógenas (Kuo et al., 1975; Bakken et al., 1982). Sin embargo, el efecto inconsistente de su acción se debe a que la daminozida se desplaza preferencialmente a los frutos, donde permanece en concentraciones relativamente altas (Samaraweera et al., 1980) limitando su desarrollo, como lo indica la inhibición de la evolución del etileno (McGlasson et al., 1978). Esto explicaría los efectos beneficiosos de los tratamientos combinados de etefón y daminozida, que provocan una disminución efectiva pero de corta duración de la actividad de las giberelinas en tejidos vasculares de manzanas (Karaszewska et al., 1986).

Las aplicaciones únicas de damionizida tienen efectos inconsistentes; tampoco induce el color en variedades no rojas (Castro et al., 1984a,b; Schumacher et al., 1986) y tiene solamente un efecto limitado en variedades como 'Jonagold' (Wijsmuller, 1988). Al aplicarse en discos de piel inhibe la formación del color o resulta inefectivo (Gianfagma, 1986). Link (1985) concluyó, que la daminozida puede promover la formación del color solo en condiciones favorables y Graf (1986a) no recomendaba su aplicación como una práctica cultural, ya que después de 20 años de experiencia se obtuvieron resultados contradictorios, dependiendo de la variedad, de la fisiología del árbol y del momento de aplicación, yendo acompañado de efectos negativos como la rugosidad y la reducción del tamaño del fruto, etc.

A pesar de lo expuesto y de su coste, la daminozida ha sido un producto ampliamente utilizado en nuestro país en variedades de difícil coloración como 'Starking Delicious', sobre todo en años poco favorables climatológicamente al desarrollo del color. Actualmente su utilización como mejorante del color en manzano no está autorizada desde 1989, entre otros motivos, por posibles efectos tóxicos sobre la salud humana, debidos a los residuos de dicho producto en manzanas para consumo en fresco o destinadas a la elaboración de cremogenados y otros derivados (Willet, 1989).

Finalmente, dos factores son primordial importancia en la síntesis de antocianos: la temperatura (externo) y el material vegetal (endógeno). La temperatura es susceptible de ser modificada en el seno de la plantación por el riego refrescante por aspersión, mientras que el progreso realizado los últimos años en mejora vegetal, permite disponer en la actualidad de variedades rojas altamente mejoradas desde el punto de vista de la coloración. Debido a que la influencia de ambos factores en el color son objeto de la presente Tesis, se exponen detalladamente en los apartados siguientes

### 3.3.- Influencia de la temperatura en la síntesis de antocianos

Desde 1920 existen numerosas referencias bibliográficas que evidencian que la temperatura juega un papel muy importante en la biosíntesis de antocianos. Es por ello que se ha considerado la temperatura y la luz, como los dos factores externos de mayor importancia en la síntesis de antocianos (Clerinx, 1983). La función que ejerce la temperatura en la

síntesis de antocianos es ambivalente: bajas temperaturas contribuyen a la formación del color al reducir de forma directa la actividad de las giberelinas, pero por otra parte las altas temperaturas, pero no excesivas, se requieren para una adecuada tasa fotosintética, un adecuado desarrollo del fruto y una maduración correcta, siendo el prerequisito para el incremento de la actividad del etileno y del ácido abscísico (ABA).

Tan (1980) observó que bajas temperaturas reducen el nivel del sistema inactivador de la PAL. Así como las giberelinas tiene un potencial para inactivar la PAL, puede postularse que las bajas temperaturas pueden promover la formación de antocianos en manzanas inmaduras inactivando las giberelinas. También existe mecanismo de conversión de las giberelinas libres en giberelinas, dependiente de la temperatura, que sería más efectivo en frutos inmaduros con elevada actividad de las giberelinas, que en frutos ya recolectados, en los cuales desaparece la represión endógena para la formación de antocianos.

Temperaturas decrecientes coinciden, generalmente, con una fase de intensa formación de antocianos; es por ello que se ha considerado que en otoño, ya sea durante el día y/o durante la noche, las bajas temperaturas promueven y las altas temperaturas inhiben la síntesis de antocianos. En zonas de frutícolas de llanura, suelen darse con frecuencia temperaturas (durante el día y durante la noche) demasiado elevadas y por tanto poco favorables para el óptimo desarrollo del color. Sin embargo, diversos autores (Faragher, 1983; Faragher et al., 1984) indicaron que el incremento de antocianos en dicha estación esta estrechamente relacionado con la recolección, como lo indica el incremento de etileno (Figura 1-8), más que con la disminución de temperaturas, dado que en la misma plantación y recolectando los frutos en las mismas condiciones de disminución de temperaturas, la recolección del fruto se iniciaba más tarde y la formación de antocianos se posponía en árboles en plena producción, comparado con árboles con menor producción.

Trabajos realizados por Recasens (1982) con la variedad 'Starking Delicious', ponen de manifiesto que las temperaturas bajas inciden en la fecha del comienzo de la síntesis de antocianos y en el grado de intensidad de coloración; se encontró una buena correlación entre el número de horas acumuladas con temperaturas menores de 18°C (a partir de los 135 días después de la plena floración y hasta la recolección) y la cantidad total de antocianos acumulados en la piel de la manzana. También se observó que la síntesis y acumulación de antocianos tenía lugar mayoritariamente durante los 20 a 25 días previos a la recolección que es cuando se produce la transición de estadios inmaduros a estadios maduros desde el punto de vista de la acumulación de antocianos (Chalmers et al., 1973; Arakawa,1988b; Singha et al.,1994). Consecuentamente es en dicho período, cuando la modificación de temperaturas (riego refrescante, etc.) tiene un mayor efecto en la coloración de los frutos.

Uota (1952) observó que, en manzanas 'McIntosh', un elevado porcentage de superficie coloreada (en septiembre), estaba estrechamente correlacionada con bajas temperaturas medias nocturnas, pero menos correlacionado con las temperaturas medias diarias, con las temperaturas medias en horas de luz o con la diferencia de temperaturas día-noche. El comienzo de la síntesis de antocianos se encuentra estrechamente relacionado con la temperatura ambiental; la promoción de la formación del color por tratamientos de baja temperatura resultó visible a partir del segundo día, pero prácticamente no se formaron pigmentos cuando la temperatura media nocturna estuvo por encima de los 21°C. De forma similar Blankenship (1987) observó que manzanas 'Red Chief' expuestas, en el período de maduración, a 26 °C durante el día, mostraban una mayor coloración cuando se exponían por la noche a 11°C en lugar de a 22°C. Creasy (1966) dedujo que las bajas temperaturas promueven la síntesis de antocianos, si éstas se dan en períodos de luz y de oscuridad; así, mismo observó un cese de la síntesis de antocianos durante períodos de tiempo caluroso y

encontró que la cantidad de pigmentos en la variedad de manzana 'McIntosh' a inicios de septiembre, estaba inversamente relacionada con la temperatura media que precedió a este período.

### 3.3.1.- Efectos de los cambios de temperatura

Numerosos trabajos ponen de manifiesto que las <u>variaciones diarias de las temperaturas</u>, especialmente en el período que precede a la maduración; tienen un claro efecto en la síntesis de antocianos y en la coloración de los frutos (Arakawa, 1988b; Singha et al., 1994). Las oscilaciones de temperatura entre el día y la noche, acompañadas de temperaturas nocturnas frescas (10-15°C), en el período previo a la recolección, son las condiciones óptimas para una buena coloración, dado que incrementa la síntesis de antocianos (Tan, 1979). En días soleados de intensa radiación y sin excesivo calor (20° - 25°C) la fotosíntesis se incrementa, mientras que las noches frías tienen un efecto beneficioso indirecto, como consecuencia de la reducción de la cantidad de hidratos de carbono consumidos durante la respiración. Días calurosos con altas temperaturas (>32°C) y noches cálidas (>25°C), proporcionaron frutos escasamente coloreados en variedades '*Red Delicious*' (Unrath, 1972a;1975; Mayles, 1989; Williams, 1989).

Con tiempo caluroso, la actividad fotosintética de las hojas durante el día disminuye bruscamente, durante la noche los carbohidratos son utilizados rápidamente para la respiración, que es más intensa cuanto mayor sea la temperatura, quedando muy poca o ninguna disponibilidad de los mismos para la síntesis de pigmentos. Días calurosos (>32°C) y noches frescas, a pesar de ser mejores, tampoco son los más favorables para el desarrollo del color. Bajo estas condiciones, la fotosíntesis durante el día disminuye considerablemente, por lo que si esto ocurre se produce una falta de carbohidratos necesarios para la síntesis de pigmentos, a pesar que durante la noche la actividad respiratoria sea más baja.

Según otros autores, las <u>temperaturas mínimas tendrían un mayor efecto en la coloración que las oscilaciones de las mismas</u> (Uota, 1952; Diener, 1977; Wiliams, 1989; Williams et al., 1989), y serían las causantes de las <u>variaciones del color entre años</u>; según (Clerinx, 1983; Crassweller et al., 1989) son principalmente las temperaturas nocturnas bajas, entre 3 y 11°C, las más eficaces para la coloración. Debido al efecto del factor año en las temperaturas mínimas, las experiencias sobre mejora del color deben referirse a años concretos, al observarse interacciones significativas entre la formación del color y el año. Análogamente ocurre con el <u>factor localidad</u>; su influencia en el color se debe, principalmente, a las variaciones de temperatura registradas entre parcelas ubicadas en altitudes distintas (Unrah, 1972a; Clerinx, 1983; Williams, 1989; 1993; Crassweller et al., 1991). La modificación de las <u>temperaturas que provoque una mayor alternancia de las mismas</u>, puede ser útil para la formación de antocianos, pero muchas veces no es factible por razones económicas.

Proctor (1974) obtuvo, con elevadas temperaturas diurnas y nocturnas (media próxima a los 18°C), el cese de la formación de antocianos en algunas variedades como 'McInstosh', y 'Cortland', pero no en otras ('Delicious', 'Idared'). En los experimentos de Tan (1979; 1980), el nivel de antocianos en la piel de manzanas de 'Red Spy', con luz constante, fué muy superior con alternancia 6°C y 18°C (para 12 horas en ca da temperatura), que a una temperatura constante de 18°C. Bomeke (1959a) también sugirió que la intensa coloración de las manzanas de árboles jóvenes era originada por noches frías, y la perdida de color en verano sería una consecuencia de climas calurosos. Uota concluyó en 1952, que a elevadas temperaturas se requiere una mayor cantidad de energía para sintetizar el pigmento, debido a

que la menor eficiencia de la luz a elevadas temperaturas debe ser sustituida por más luz para obtener comparables resultados. Creasy (1968) sugirió que las bajas temperaturas incrementan la eficiencia de la síntesis de antocianos en frutos expuestos a bajos niveles de luz; sin embargo, ésto no reduce los necesarios requerimientos de luz.

Naumann (1964) señaló que el efecto de la temperatura difería entre variedades y dependía del estadio de desarrollo del fruto; así, en experimentos poscosecha, mientras 'Jonathan' requería temperaturas nocturnas de 10°C y temperaturas diurnas elevadas para una máxima coloración, la variedad 'Ontario' coloreó menos durante días muy calurosos. Las manzanas recolectadas tempranamente tuvieron el máximo de formación del color a 4°C de temperatura nocturna, mientras que para las recolectadas más tarde la temperatura nocturna óptima fué de 8 a 10°C. Diener et al. (1981) obtuvieron la máxima acumulación de antocianos en manzanas, tanto del árbol como separadas del árbol, con una exposición durante cortos períodos diarios a bajas temperaturas nocturnas. Sin embargo, durante la maduración ocurre un cambio en la promoción-inhibición de la formación de antocianos a bajas temperaturas, por lo que los mismos autores concluyeron que cada estado de maduración posee su régimen de temperatura óptima para la formación del color, y las diferencias observadas entre 'Ontario' y 'Jonathan' no dependían de la variedad, sino de su estado de madurez.

Es conveniente también considerar el modo de acción de las bajas temperaturas separadamente de su punto de acción; numerosos estudios realizados acerca de la función de los azucares (carbohidratos) en la formación de antocianos, ponen de manifiesto su influencia en dicha síntesis. Así mismo, el metabolismo de los carbohidratos juega un papel importante en la síntesis de los flavonoides; por lo que Creasy (1968) sugirió que la estimulación de la formación de antocianos en la piel de manzana por las bajas temperaturas, podía ser explicada en base a las transformaciones de los carbohidratos en la piel del fruto. Para ello es preciso asumir lo siguiente:

- \* La piel de la manzana está compuesta de epidermis y varias capas de células hipodérmicas de paredes gruesas, sin una asociación vascular directa con el resto del árbol, por lo que la síntesis de antocianos, es en gran medida dependiente de las células subyacentes para la disposición de carbohidratos.
- \* La clorofila de la piel del fruto es capaz de realizar la fotosíntesis a un nivel suficiente para asimilar el CO<sub>2</sub> requerido para la síntesis de carbohidratos.

Las bajas temperaturas influyen reduciendo la perdida de azucares durante la noche a través de la respiración, por lo que se produciría, gracias a este mecanismo, un ahorro de los mismos y un incremento en la síntesis de antocianos, formados por la condensación de la cianidina a la galactosa (Saure, 1990). Determinaciones realizadas sobre el contenido de azucares en el fruto, muestran pocas diferencias entre la cara coloreada y la menos coloreada; sin embargo, el azúcar debería medirse en la epidermis, dado que es el principal tejido donde se sintetizan y acumulan los antocianos.

La localización del punto de acción de las bajas temperaturas en la síntesis de antocianos es de interés, dado que puede aportar información sobre su mecanismo de acción (Creasy, 1968). Si la temperatura influyera en la formación de antocianos en estadios tardíos de su biosíntesis, solamente se vería afectada la síntesis de flavonoles (Figura 1-6); en cambio, si el efecto se manifestara en el inicio de la secuencia de biosíntesis o en una vía paralela (Faust, 1965), la síntesis de todos los flavonoides se vería igualmente afectada por una exposición a bajas temperaturas. Sin embargo, parece que no se produce un incremento de flavonoles durante el período de formación de antocianos y que las leucoantocianidinas no son probablemente productos finales, sino que participan en la síntesis de más complejos flavónicos (Goldstein et al., 1963).

En consonancia con lo expuesto anteriormente, el riego por aspersión puede promover la formación de antocianos en climas cálidos (Anderson et al., 1973; Unrath, 1972a,b;1975; Lowel, 1981; Recasens et al., 1981; Recasens, 1982; Willet, 1981; Williams et al., 1989; Acuff, 1993; Salmon, 1993; Andrews, 1995), debido al enfriamiento del fruto, lo que reduce el efecto negativo del calor en el momento en que se aplica, tal y como se expone a continuación.

# 3.3.2.- <u>Influencia del riego refrescante en el desarrollo del fruto y en la coloración de las</u> variedades rojas de manzana

En zonas frutícolas con temperaturas estivales elevadas, como es el caso de Lleida, donde se han realizado los ensayos, el excesivo calor durante algunos días de verano provoca un aumento importante de la transpiración del árbol y consecuentemente un retardo del crecimiento de los frutos, un menor calibre final y una deficiente coloración. Diversas experiencias demuestran que el incremento de volumen del fruto durante la noche es 25 veces mayor que el observado a las 4 de mediodía. Los cambios de crecimiento del fruto están asociados con cambios en la capacidad evaporativa de la atmósfera; bajas tasas de crecimiento se dan generalmente con elevadas temperaturas (Hulme, 1970), cuando la capacidad evaporativa de la atmósfera y la transpiración son elevadas. En condiciones de estrés hídrico y elevada transpiración, el movimiento de agua hacia el fruto es muy reducido o incluso se invierte, actuando los frutos como reservorios de humedad, de los cuales pueden extraer agua las hojas cuando la necesiten.

Una forma de evitar el estrés hídrico y los paros en el crecimiento del fruto, cuando se dan elevadas temperaturas, es mantener el árbol con un potencial hídrico elevado las 24 horas del día. Esto puede hacerse manteniendo el suelo próximo a la capacidad de campo, con lo que el agua puede ser tomada fácilmente a través de las raíces, o bien aumentando el valor del potencial hídrico atmosférico, disminuyendo así la transpiración de los árboles. En este segundo caso, el aumento del potencial hídrico de la atmósfera se consigue, habitualmente, con la aplicación del riego por aspersión.

La aplicación del riego refrescante en manzano, en las horas de máxima temperatura, produce una modificación de las condiciones ambientales, especialmente de la humedad (incrementándola) y de la temperatura (disminuyéndola), favoreciendo el crecimiento y desarrollo del fruto y mejorando su coloración; debido a la reducción del estrés provocado por el excesivo calor, disminuyendo la tasa de transpiración y la temperatura; y permitiendo un crecimiento celular óptimo, que será en última instancia el determinante principal del crecimiento del fruto (Kramer, 1963; Recasens, 1982; Recasens et al., 1984; Recasens et al., 1988). La disminución de la temperatura, además de influir en el desarrollo del fruto, afecta a la síntesis de los antocianos, debido a que la actividad fotosintética se activa, produciéndose una mayor cantidad de carbohidratos, que se utilizaran para la síntesis de los antocianos. Numerosas investigaciones han demostrado el efecto beneficioso del refrescamiento por evaporación mediante el riego por aspersión, para combatir los efectos negativos de las elevadas temperaturas en el escaso desarrollo del color (Recasens, 1982; Williams et al., 1989; Evans, 1993a,b; Williams, 1993; Warner, 1995; Andrews, 1995).

El riego provoca el enfriamiento en el ambiente que rodea al fruto y en el mismo fruto, por el agua evaporada en su superficie y por convección del aire enfriado. El sistema de riego utilizado es por aspersión o microaspersión, que aplican agua en forma de gotas pequeñas y con baja pluviometría (3-4 l/m²-h), lo que maximiza la evaporación, por lo que una gran parte del agua aplicada se evapora antes de alcanzar el fruto o el suelo, siendo su eficacia baja,

desde el punto de vista de aporte a las necesidades hídricas del cultivo. El hecho de aplicar el riego refrescante supone un incremento en las dotaciones de agua de entre el 25 y 40 %. El marco de los aspersores debe ser el adecuado para proporcionar una aplicación uniforme del agua (coeficiente de uniformidad mayor al 80 %).

Generalmente, dichos sistemas se aplican continuamente durante varias horas, o de forma cíclica (a pulsos), lo que aconseja su automatización; el dispositivo de arranque-paro y el diseño de la instalación son los mismos que los utilizados en la protección antihelada. En el caso de aplicarse cíclicamente este sistema opera durante cortos períodos (ejemplo 10 minutos de cada 40) varias veces al día. El inicio y la finalización del riego se establecen en base a parámetros que reflejen las condiciones del fruto, como puede ser la temperatura del aire y/o la del fruto. En este tipo de riego, incluso la aplicación de muy bajas cantidades de agua, puede refrescar rápidamente la plantación. Una baja humedad ambiental relativa y temperaturas altas, son condiciones que optimizan el refrescamiento por evaporación.

La evaporación de agua necesita una elevada cantidad de calor (584cal/g a 1at y 25°C; 539,5cal/g a 1at y 100°C), que procede directamente de la radiación solar y/o cualquier materia que esté en contacto con el agua, incluidos el aire y la vegetación húmeda. Existen tres técnicas que se utilizan para reducir la temperatura del cultivo, que en orden de eficacia creciente son:

- \* Evaporación de agua en el aire y posterior circulación del aire refrescado para reducir la temperatura del fruto.
- \* Aplicación continua de agua a hojas y frutos para producir un lavado del calor por el agua vía "run off", también denominado "hidrocooling"; las dosis aportadas son elevadas y pueden originar problemas de asfixia radicular y de lixiviación de nutrientes.
- \* Aplicación de agua a hojas y frutos para extraer directamente el calor por evaporación, también denominado "evaporative cooling" o refrescamiento por evaporación.

Cualquier técnica de refrescamiento se basa en uno o más de dichos mecanismos, dependiendo su eficacia de: las condiciones climáticas (temperatura y humedad), la cantidad de agua aplicada y la uniformidad de aplicación. La técnica más efectiva para el desarrollo del color es el refrescamiento por evaporación, dado que maximiza la evaporación directa del agua aplicada y provoca una mayor disminución de la temperatura. Para una misma temperatura del aire, la cantidad de agua evaporada es mayor con la presencia de viento; el tamaño de gota debe ser suficiente para penetrar y mojar todas las partes del árbol. En base a las experiencias realizadas, se ha observado que el riego refrescante alivia el estrés de humedad en el fruto, pero no el estrés provocado por elevadas temperaturas (Williams, 1989; Williams et al., 1989).

Disponer de un análisis del agua que se va a utilizar, es de gran importancia para diagnosticar posibles problemas como la aparición de precipitados. Las deposiciones de carbonato cálcico y silicatos en los frutos pueden disminuir su valor comercial, al ser de difícil eliminación, por lo que se aconseja menos de 2 meq de calcio por litro (Williams, 1993). La precipitación de carbonatos de calcio puede controlarse fácilmente manteniendo el pH del agua aplicada alrededor de 6,6; gracias a la adición de acidificantes. Halvorson et al. (1975) establecieron el índice de "Deposición Potencial de Cal" o "LDP" para evaluar el riesgo del agua de riego para producir precipitados, que es la máxima cantidad de carbonato que puede precipitar cuando se evapora el agua de hojas, siendo igual a la menor de las cantidades de Ca<sup>++</sup>o de (HCO<sub>3</sub><sup>-+</sup> CO<sub>3</sub><sup>-</sup>) contenidas en el agua. La concentración de carbonatos y bicarbonatos debe sumarse, dado que el carbonato al precipitar es convertido en bicarbonato. Aguas con valores del LDP < 3 y CO<sub>3</sub> Ca < 100ppm, no presentan limitaciones para su aplicación en riego refrescante. La reacción que explica la deposición de carbonato

cálcico es la siguiente:

$$Ca^{++} + 2HCO_3^- + CO_3^- CO_3Ca + CO_2 \uparrow$$

Dado que el riego refrescante se aplica a bajas dosis, con temperaturas elevadas y en condiciones de elevada evaporación en la superficie del fruto, el lavado de los precipitados en este tipo de riego es mucho menor que en otro tipo de riegos aplicados en otras horas del día y a mayores dosis. La pluviometría de los aspersores, así como el intérvalo diario entre riegos, influyen en la precipitación del carbonato cálcico (Stevens, 1989); otros parámetros como el pH, contenido en sodio, en boro, presencia de nitratos deberán ser tenidos en consideración.

Ya en 1964, se observó que el refrescamiento en cultivos, como el cerezo o el ciruelo, incrementaba el tamaño del fruto; Bible et al. (1968) sugerieron que una ligera irrigación a mediodía, durante los períodos de máximo estrés hídrico, incrementaba las producciones de melones en un 30 %, y de los tomates entre el 40 y el 51%, dependiendo de la variedad, retrasando la maduración. Gilbert (1970) incrementó el tamaño de los tomates en un 40 % y las producciones en un 19 %, en un año con elevado estrés atmosférico, manteniendo la humedad del suelo en el 80 % de su capacidad. En cerezas, el riego refrescante por aspersión aplicado a mediodía durante 4 o 5 horas, durante el período de maduración del fruto, incrementó las producciones y uniformizó la maduración (Barbee, 1971). Stegmen et al. (1981) obtuvieron incrementos significativos de las producciones y de la calidad en varios cultivos.

Productores de manzana roja de áreas cálidas de Estados Unidos, han utilizado ampliamente la técnica del riego refrescante por aspersión para la mejora del color (Mayles, 1989; Williams, 1993), dado que la coloración de los frutos es habitualmente insuficiente para obtener un adecuado valor comercial. Van Den Brink et al. (1965) señalaron que el clima en el interior de la copa de los árboles podía ser modificado sustancialmente, por la aplicación del riego refrescante durante las horas de máximo calor, permitiendo disminuir la temperatura ambiental entre 4 y 8 °C y la temperatura del suelo en 10°C.

Lombard et al. (1966) utilizaban el riego por aspersión para modificar el microclima en plantaciones de perales, el cual incrementaba la humedad ambiental relativa en un 25%; la temperatura máxima del aire a la sombra se redujo en más de 5,4°C y la interna del fruto en más de 2,8°C. En peras 'Bartlett', basándose la fecha de recolección en la firmeza del fruto, ésta se anticipó en una semana respecto a los frutos no regados, sugeriendo que el riego refrescante avanzaba la maduración; consecuentemente la recolección debía anticiparse para mantener una óptima calidad del fruto. Los frutos refrescados presentaron mejores tasas de crecimiento, lo que proporcionó en el momento de la recolección frutos de mayor calibre. Faust et al. (1969), observaron que el estrés de agua en la planta restringía el movimiento de Ca hacia los frutos, lo que provocaba una elevada incidencia de desordenes fisiológicos. Salter et al. (1967) y posteriormente Mayles (1989) y Willet (1989), mejoraron la coloración de variedades rojas de manzana aplicando el riego por aspersión durante un mes antes de la recolección.

Gilbert et al. (1970) utilizaron el riego por aspersión automatizado, y aplicado de forma cíclica durante los períodos de estrés, para producir un refrescamiento por evaporación en viña, disminuyendo la temperatura de forma efectiva. La temperatura del aire durante los períodos de riego, se redujo de 2,5 a 5°C y la humedad se incrementó entre el 10 y el 30%; la temperatura de la hoja disminuyó entre 5 y 9°C y la de la uva se redujo entre 3,1 y 6°C. Los trabajos realizados evidenciaron que el riego cíclico era más efectivo para el refrescamiento

que el riego continuo; sin embargo, otros autores (Lombard et al., 1966), apreciaron menos disminución de temperatura con el riego cíclico que con el riego aplicado continuamente.

Unrath (1972a) estableció en Carolina del Norte -EE.UU.- (zona de clima caluroso), un riego refrescante por aspersión de bajo volumen en la variedad 'Red Delicious', que se accionaba automáticamente cuando la temperatura del aire sobrepasaba los 29,4°C, y la temperatura interna del fruto oscilaba entre 34 y 36°C; los riegos para el aporte hídrico se aplicaron con la misma periodicidad que en la parcela sin riego refrescante. Cuando la temperatura interna del fruto descendía 2,7°C el riego se paraba; dependiendo de la humedad relativa, el riego debía funcionar 15 o más minutos por hora. Dadas las elevadas temperaturas alcanzadas, el accionamiento fué casi diario: 41 días en 1969, con 157 horas de riego y una media de 3,8 horas de riego por día. La temperatura de los frutos situados a la sombra, al iniciarse el riego era de 2,6 a 4,5°C superior a la del aire; mientras que para frutos directamente expuestos al sol fué de 7,8 a 11°C superior. Se constató, que la temperatura de todos los tejidos de la planta sometidos a riego refrescante, era sustancialmente inferior a la de los no regados, aunque la respuesta varió según el año. Durante el tiempo total que duró el riego por aspersión en 1969 (157 horas), las temperaturas medias del aire y de los diferentes órganos de la planta se recogen en el <u>Cuadro 6</u> (ver tabla siguiente).



Sistema de riego	Temperatura (°C)						
	Aire	Madera	Hoja	Fruto			
Aspersión		25,6	26,1	27,6			
Testigo	3116	31,9	31,2	34,3			
DIFERENCIA	1,9	6,3	5,1	6,7			

*Cuadro 6:* Temperatura media de la plantación y de diferentes órganos de la planta correspondientes a las 157 horas de riego por aspersión acumuladas en 1969, en comparación con el testigo (Unrath, 1972a).

El riego produce una fluctuación de temperaturas que pueden ser atribuida a la duración del riego, a la cantidad de calor irradiado, a los cambios de viento y a la humedad relativa. De ello se deduce, como ponen de manifiesto otros autores (Lombard et al., 1966; Gilbert et al., 1970), que el uso del riego refrescante puede crear un microclima que reduce las condiciones ambientales extremas, incluso bajo condiciones de elevada humedad relativa.

En los mismos ensayos (Unrath, 1972a,b), se realizaron recolecciones con una periodicidad semanal, utilizando como criterio la recolección solamente de aquellos frutos que podían clasificarse por su color como categoría extra (2/3 de la superficie con color rojo intenso). Los frutos que recibieron riego refrescante, tuvieron un mayor porcentage de coloración, siendo su intensidad del color el doble que la de los frutos no regados; análogos resultados obtuvieron Salter et al. (1967) con la misma variedad. Al finalizar la segunda pasada, se había recolectado el 89,5% de la cosecha en árboles sometidos a riego refrescante, frente al 57,4 % en árboles no regados (*Cuadro 7, ver tabla 1-7*); siendo dichos porcentages para 1970 del 63,4% y 43,4 %, respectivamente, lo que se tradujo en unas mejores cotizaciones de los frutos refrescados. La recolección finalizó, los dos años, una semana antes en la zona con riego refrescante, lo que permitió realizar la recolección en menos pasadas y a un menor coste; los frutos refrescados se recolectaron de 5 a 7 días antes, debido a la mayor precocidad del color y al mayor contenido de sólidos solubles.

El tamaño y la forma del fruto, no se vieron significativamente influenciados por el riego refrescante, aunque éste incrementó el contenido de sólidos solubles, redujo el Cork Spot y el Bitter Pit, y proporcionó menor firmeza en 1969, que fue atribuida al mayor tamaño del fruto. Después de 4 meses de conservación a 0°C, no se observó ningún efecto del riego en la aparición de desordenes internos del fruto; resultados análogos han sido descritos por otros autores (Faust et al., 1969; Gilbert et al., 1970; Drake et al., 1981; Proebsting et al., 1984).

Sistema	Porcentages de cosecha recolectada (%)							
de riego	19/ago.	26/ago.	Acumulado*	2/sept.	Acumulado	9/sept		
Aspersión	18,1	71,4		10,6		0		
_			89,5		100			
Testigo	16,9	40,8				14		
			57,4		86,4			

Cuadro 7: Influencia del riego refrescante por aspersión en los porcentages acumulados de cosecha, realizada semanalmente, con la variedad 'Red Delicious' (Unrath, 1972b).

En el mismo ensayo, se evaluó además del riego refrescante por aspersión, el efecto de

<sup>(\*)</sup> Porcentages de cosecha acumulados en las diferentes fechas.

la aportación de varios riegos suplementarios a manta. Los resultados obtenidos con respecto a la modificación de temperaturas, porcentage de frutos recolectados semanalmente, tamaño, forma, firmeza, contenido de azucares solubles y conservación de los frutos, fueron más próximos al testigo, que a los obtenidos con el riego refrescante por aspersión; lo que indica que dicha alternativa de riego permite también reducir el estrés hídrico y mejorar las tasas de crecimiento de los frutos, al mantener el suelo durante más tiempo próximo a la capacidad de campo y el árbol con un mayor potencial hídrico, en comparación con el riego tradicional a manta con mayores intervalos de riego.

Lo expuesto anteriormente, pone de manifiesto que la humedad del suelo y las condiciones ambientales influyen en el desarrollo del fruto (tamaño, color, firmeza, contenido de solidos solubles, etc.). Puede ser que dichos procesos de desarrollo tengan diferentes niveles críticos de respuesta en relación a factores ambientales extremos, los cuales presentan importantes variaciones estacionales y anuales. Un mejor conocimiento de las interrelaciones entre dichos niveles críticos, con la influencia de las condiciones de estrés, es necesario para evaluar los resultados del refrescamiento del ambiente producido por el riego por aspersión.

Proebsting et al. (1984) en el Estado de Washington, compararon dos sistemas de riego: por goteo y por aspersión, aplicados con una frecuencia diaria en la variedad 'Delicious'.

Los árboles con riego por goteo, desarrollaron menores potenciales de agua en hoja y tuvieron crecimientos vegetativos menores que los árboles con riego por aspersión, a pesar de que el calibre y la productividad fueron similares. Las manzanas procedentes de los árboles regados por goteo, tuvieron menos contenido en agua, menor acidez, y mayor contenido de sólidos solubles que los que procedían del riego por aspersión, siendo la firmeza similar. La mayor coloración de los frutos correspondió a los árboles bajo riego por aspersión.

Williams durante los años 1989, 1990 y 1991, en Estados Unidos (Estados de Columbia y Washington), con condiciones de baja humedad y elevada temperatura, comparó el efecto del riego con microjects, aplicado superficialmente o aereamente, para el refrescamiento y la mejora del color de las variedades 'Ryanared' y 'Red Chief' (Williams, 1989;1993). Los riegos refrescantes se iniciaron la primera semana de agosto; se realizó una monitorización de las temperaturas tanto del aire como del fruto, para determinar los momentos de inicio y de finalización de su aplicación. Se estableció el inicio cuando la temperatura interna del fruto sobrepasaba los 32,2°C y la temperatura del aire oscilaba entre 29,4 y 30,5°C; el riego se aplicaba cíclicamente durante 10 a 15 minutos de cada 40 o 50, parándose cuando la temperatura interna del fruto descendía en 2,7°C. Dichos criterios son también los utilizados en la actualidad para determinar el inicio del riego.

Para evaluar los efectos del riego sobre la calidad y el color de los frutos, se recolectaron muestras semanalmente, desde el 14 de agosto hasta el 20 de septiembre (recolección), determinando el color (Tono), la firmeza, los sólidos solubles, el contenido de almidón y la acidez. La madurez del fruto se retrasó entre 7 y 10 días en los frutos refrescados, encontrándose diferencias significativas entre tratamientos en la mayoría de dichos parámetros cuando se evaluaron individualmente. Los frutos tratados con riego refrescante presentaron mayor coloración (mayor porcentage de frutos de primera categoría), mayor firmeza, mayor tamaño y menor porcentage de los mismos afectados por golpes de sol, en comparación con los regados superficialmente. La interacción *tipo de riego x época de recolección x localidad* fué significativa para el porcentage de color de los frutos, para el contenido en sólidos solubles y para la acidez. Solamente en 1989 y en la parcela de ensayo situada en una zona más cálida, los frutos refrescados presentaron menor coloración roja, menos contenido en sólidos solubles y menor acidez.

Lowell (1981) en Matawa (EE.UU.), aplicó de forma cíclica el riego refrescante por

aspersión en la variedad 'Red Chief', durante aproximadamente 20 minutos de cada 60, con lo que consiguió mantener la temperatura interna de los frutos entre 29,4 y 32,2°C; en los frutos no refrescados las temperaturas oscilaron entre 40,5 y 43,3°C. La aplicación del riego se inició a principios de agosto y la mejora del color fué ya evidente 15 días después, habiéndose eliminado por completo el efecto de los golpes de sol en frutos, al regarse en las horas de máxima temperatura. Debido a la mejor coloración de los frutos regados y al mayor contenido en azucares la recolección se pudo anticipar en 7 días; resultados similares obtuvieron Lombard et al. (1966). Se comprobó, que cuanto más alta era la humedad relativa ambiental, más difícil era disminuir la temperatura de las manzanas, por lo que en cada ciclo de riego los aspersores debían funcionar durante un mayor período de tiempo para disminuir la temperatura.

Evans (1993a,b) evaluó en diferentes condiciones climáticas, el efecto refrescante del riego por aspersión aplicado de forma cíclica y continua. El riego se aplicó a bajo volumen, entre 35 y 75 días por año, constatándose que las aplicaciones intermitentes o cíclicas eran más efectivas que el riego continuo; a diferencia de otras experiencias (Unrath, 1972a,b; Proebsting et al., 1984; Lowel, 1981; Mayles, 1989; Willet, 1989; Williams, 1989; Williams et al., 1989), en las que el riego se accionaba al alcanzarse las máximas temperaturas, se aplicó en el momento de la puesta de sol y al amanecer, en variedades rojas de verano. Se obtuvo una importante mejora del color y del tamaño del fruto, debido a la reducción del estrés hídrico en hojas y en frutos, y a la disminución de las temperaturas, pero no resultó efectivo en la prevención de los golpes de sol en los frutos.

Las referencias expuestas anteriormente sobre el efecto del riego refrescante en la coloración de los frutos, proceden mayoritariamente de áreas áridas del noroeste del Pacífico, principalmente de los Estados de Washington y de Carolina (EE.UU.), expuestas frecuentemente a condiciones ambientales extremas durante el período estival. En dichas condiciones, la falta de color constituye uno de los principales problemas del sector productor de variedades rojas de manzana; siendo en la actualidad el riego refrescante una técnica ampliamente utilizada para la mejora del color.

En la zona frutícola de Lleida, con escasa pluviometría y elevadas temperaturas estivales, la falta de coloración constituye también un factor limitante para la producción de variedades rojas; sin embargo, se dispone de escasas referencias, y a veces contradictorias, sobre el efecto del riego refrescante en el color de los frutos. En trabajos realizados por Recasens et al. (1981), en la variedad 'Starking Delicious', se comparaba el efecto del riego refrescante aplicado diariamente de forma continua, durante dos horas (de 16 a 18h), desde el 17 de junio hasta la recolección; con el aplicado en el período 1 de agosto-recolección y con el testigo. En la primera alternativa, los frutos manifestaron una intensidad de coloración tres veces superior a los no regados o a los regados a partir del 1 de agosto, presentando color en ambas caras del fruto; en los frutos regados a partir del 1 de agosto, la coloración fue intermedia entre las otras 2 alternativas. También se constató, que el riego refrescante permitía rebajar la temperatura ambiental entre 3 a 4°C y incrementaba la humedad ambiental hasta el 90%, al finalizar el riego.

Resultados obtenidos en otros ensayos con las variedades 'Starking Delicious' y 'Jonee', en los cuales el riego refrescante se accionaba solamente cuando la temperatura del ambiente era superior a 32°C, evidencian que dicho riego proporcionaba una mejor coloración con respecto al testigo (Recasens, 1982; Recasens et al., 1988). También se observó, que la síntesis y acumulación de antocianos tenía lugar mayoritariamente durante los 20 a 25 días previos a la recolección; análogas observaciones realizaron Chalmers et al., 1973; Arakawa (1988b) y Singha et al. (1994). En estas variedades, al igual que en 'Golden Smoothee', el

riego refrescante proporcionó un mayor tamaño y peso del fruto, con respecto a los frutos no regados; este incremento se debía a los mayores contenidos de azucares y ácidos que incrementaron el contenido de materia seca. Las manzanas regadas manifestaron también una mejor aptitud a la conservación.

### 3.4.- Material vegetal

### 3.4.1.-<u>Patrones</u>

Los patrones enanizantes y los semienanizantes, así como intermediarios semienanizantes, tienen un efecto positivo en la formación de antocianos, en relación con patrones vigorosos (Walter, 1967). Experiencias realizadas por Jackson (1967), ponen de manifiesto que no se trata solamente de una mejor exposición de los frutos a la luz, al tratarse de árboles pequeños, dado que a identicas posiciones de exposición a la luz, las manzanas sobre patrones enanizantes tienen una proporción más alta de color rojo que las que se encuentran sobre patrones vigorosos.

Estudios realizados en East Malling por Avery (1970), muestran que árboles injertados con patrones enanizantes, del tipo 'M-9', elaboran más fotosintatos destinados hacia el fruto, que patrones vigorosos, implicando a un mecanismo interno controlado por el patrón, que direcciona la distribución de los productos de la fotosíntesis y afecta consecuentemente a la síntesis de antocianos. Barrit et al. (1994) propusieron que el patrón puede afectar a la coloración del fruto y a la forma, por su influencia en los niveles hormonales de la planta. El patrón no siempre tiene un efecto consistente en el desarrollo del color, debido a la influencia de otros factores como la localidad o el año; sin embargo, se han encontrado estrechas correlaciones negativas entre el vigor del árbol -expresado como área de la sección del tronco- determinado por el patrón, y el desarrollo del color (Autio et al., 1996).

### 3.4.2.- Variedades

El color rojo es uno de los atributos más importantes de las variedades rojas de manzana, ya que determina en gran parte la aceptación por el consumidor y consecuentemente su valor comercial (Smith et al., 1964; Ketchie, 1988; Crassweller et al., 1989; Baugher et al., 1990b; Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991; Kappel et al., 1992; Warner, 1995c). Ligeras variaciones en la intensidad del color, tono, y distribución son significativas en el momento de determinar su valor comercial.

La obtención durante las dos últimas décadas de mutantes coloreados de las principales variedades rojas de manzana, y su posterior difusión a escala comercial, abre interesantes perspectivas para su cultivo en zonas frutícolas de dificil coloración, más aún si se tiene en cuenta las cada vez mayores restricciones impuestas en la utilización de reguladores de crecimiento para la mejora del color. La falta de color en variedades tradicionalmente cultivadas como 'Starking Delicious', ha ido generalmente asociada a una calidad deficiente, al recolectarlas en un estado de sobremadurez; mientras que actualmente algunas de las variedades difundidas proporcionan una coloración muy precoz, que puede inducir erroneamente a una recolección anticipada, si se tiene en cuenta solamente el color y el calibre, lo que puede implicar una perdida importante de la calidad del fruto (Baugher et al., 1990; Fallahi et al., 1994).

En las variedades rojas de manzana, existen importantes diferecias entre las diferentes tonalidades de colores encontrados y en el modelo de distribución del color (uniforme,

estriado, etc.). Para una misma variedad, los **factores ambientales** pueden producir variaciones importantes de color, siendo los más importantes la luz y la temperatura (Blankenship, 1987; Saure, 1990; Lancaster, 1992). Las diferencias entre variedades dependen del **genotipo**, el cual juega un papel fundamental en la síntesis de antocianos y en la coloración, dado que según los clones, varía la aptitud para producir un porcentage importante de células que sintetizen antocianos. Frutos de algunas variedades del grupo 'Red Delicious' altamente coloreadas, como 'Scarlet Spur', 'Oregón Spur II' o 'Dixiered', son capaces de colorear en la cara sombreada, o en el interior del árbol, en condiciones de baja intensidad lumínica. A pesar de ello, en la mayoría de variedades la luz favorece un óptimo desarrollo del color, por lo que diferentes técnicas como poda de verano, aclareo, etc., deben aplicarse ocasionalmente en algunas variedades para obtener una completa coloración, incluso en variedades altamente coloreadas. (Clerinx, 1983; Saure, 1987; Singha et al., 1989; Goddrie, 1990).

En el grupo 'Red Delicious' se dispone actualmente de más de 150 variedades (Fisher at al., 1989). El elevado número de mutaciones disponible indica que la estabilidad del color puede variar considerablemente ya sea mejorando o empeorando. Muchos de los mutantes obtenidos presentan frecuentemente reversiones, ya sean parciales a nivel del árbol o quiméricas a nivel de fruto, que pueden limitar su interés en función de su frecuencia y que indican la inestabilidad del color. Por otra parte, en las variedades del grupo 'Gala', el grado de reversión hacia la variedad original 'Gala' (menos coloreada) es aún más frecuente que en las 'Red Delicious'. En general, las regresiones se manifiestan aisladamente sobre alguna rama o fruto, o parte del mismo; también se observan frecuentemente variaciones importantes del color entre árboles.

El estudio histológico de numerosos mutantes de manzana, ha permitido definir, en algunos casos, el grado de estabilidad de las variedades obtenidas por mutación; muchas de las cuales son por su naturaleza inestables y están sujetas a reversiones hacia el genotipo originario, especialmente manifiesto en las mutaciones quiméricas observadas en mutantes de 'Elstar', 'Gala', 'Jonagold', 'Fuji' y 'Red Delicious' (Pratt et al., 1967;1975; Iglesias et al., 1994a; Buscaroli, 1995). Algunas de las variedades que han originado el mayor número de mutantes, han manifestado rapidamente regresiones, por lo que se requieren determinadas precauciones para incluirlas en el proceso de multiplicación, como es el caso de 'Starking Delicious', de la cual ha derivado 'Starkrimson' y de ésta 'Red Chief'.

Trabajos realizados por Walsh (1991) y Kappel et al. (1992), donde se evaluaron diferentes mutantes de 'Gala' y 'Jonagold', pusieron de manifiesto que existen diferencias significativas en la coloración de los diferentes mutantes; pero no en los parámetros de calidad del fruto. Baugher et al. (1990b), con mutantes del grupo 'Red Delicious', obtuvieron con los mutantes spur un menor porcentage de sólidos solubles con respecto a los estándar. Ello justifica el interés de los sectores productor y comercial, por la introducción de nuevas variedades que mejoren el color de las ya existentes. Sin embargo, la introducción de mutantes de elevada coloración pueden conllevar el riesgo de ser cultivados en áreas no adecuadas desde el punto de vista climático, o ser recolectados en un estado inadecuado de madurez. En dichas variedades, la coloración y el tamaño del fruto, no son criterios suficientes para determinar una óptima calidad gustativa.

### 3.4.2.1. -Distribución de antocianos en la piel de la manzana KS

En la epidermis se encuentran una gran proporción de celulas pigmentadas, a pesar de que existen importantes diferencias entre variedades, de 3 a 8 capas de células subyacentes a

la cutícula cerosa (dispuesta sobre la cara externa de la epidermis), pueden estar involucradas en la formación de antocianos. El color rojo de las manzanas se encuentra presente en las celulas epidérmicas y hipodérmicas en forma de una solución acuosa contenida en las vacuolas esféricas o elipsoidales y es debido fundamentalmente a los antocianos. Algunas vacuolas son de mayor tamaño y rellenan una parte importante de la célula, mientras que otras células contienen una o más vacuolas de pequeño tamaño (menos del 50 % del volumen de la celula). El porcentage de celulas rojas en la hipodermis de los mutantes de 'Gala', oscila entre el 20 y el 38 %, siendo este porcentage superior en la mayoría de variedades del grupo 'Red Delicious' (Dickinson et al., 1986).

Lancaster (1994) observó con aumento x400, en finas secciones tangenciales de la piel de 5 variedades de manzana ('*Oregón Red Delicious'*, '*Regal Gala'*, '*Granny Smith'*, *Nº* 4926 y *Nº* 3827), que las células epidérmicas coloreadas por los antocianos mostraban una distribución no uniforme y aleatoria; frecuentemente células de color rojo oscuro se encontraban adyacentes o otras de color pálido o sin color; sin embargo, el color de cada vacuola(s) era uniforme. Esta misma distribución se ha observado en pétalos de rosa (Asen et al., 1971), atribuyéndose a los diferentes pH vacuolares de las células; dado que con mayor acidez los antocianos poseen un color más intenso. Es por ello, que variedades como '*Gala'* o'*Fuji'* (con poca acidez) son más desfavorables a la coloración, que otras como '*Red Winter'*, de intensa coloración roja, con una acidez total de más del doble que '*Fuji'* (Blanchet, 1992).

La mayor coloración roja de la epidermis, se atribuye a una proporción más alta de células rojas o coloreadas, dado que variedades como 'McInstosh', 'Spartan' y 'Cox's Orange Pippin', pueden tener alrededor del 50 % de sus células epidérmicas coloreadas (Misic et al., 1971). 'Oregón Red Delicious' es más roja que 'Regal Gala'; sin embargo, 'Regal Gala' tiene una proporción más alta de células coloreadas, es decir, con una mayor absorbancia; una posible explicación de esta discrepancia, es que 'Oregón Red Delicious' tiene los antocianos en las tres capas últimas de las células de la epidermis, mientras que 'Regal Gala' se encuentran limitados solamente a una capa y ocasionalmente a dos. Otro aspecto destacable de las secciones epidérmicas, son las diferencias en el tamaño de las vacuolas dentro de las células; así, mientras el tamaño de las células es similar para las diferentes variedades, pueden existir diferencias en el área cubierta por las vacuolas de hasta 5 veces, oscilando entre el 20% y el 50%, para variedades verdes y rojas, respectivamente (Lancaster, 1994).

En base a dicha experiencia, puede concluirse que el color más rojo de algunas variedades de manzano con respecto a otras, se debe conjuntamente a tres factores: una más alta proporción de células coloreadas en la piel de las variedades más intensamente coloreadas, la presencia de vacuolas de mayor tamaño (ocupan una mayor área de la célula), y la existencia de varias capas (más de tres) de células coloreadas, en comparación con una en las variedades poco coloreadas. La intensidad de la coloración, depende del número de células de la epidermis cuyas vacuolas contengan antocianos; no se trata de una dilución más o menos fuerte de una sustancia colorante, sino de una densidad más o menos importante de células coloreadas en relación a las células verdes. No se observan intensidades de coloración variables o intermedias entre las vacuolas de las células, o están coloreadas o no presentan color (Blanchet et al., 1995).

El meristemo apical de la manzana esta dividido en tres capas histogénicas: L-I, L-II y L-III; la epidermis de la manzana deriva de la capa superficial L-I, mientras que las capas subepidérmicas de la hipodermis derivan de la capa L-II (Dayton, 1969); cada capa expresa su pigmentación independientemente de las otras (Pratt el al., 1975). Los mutantes rojos se originan -de forma espontanea o por irradiación-, por una alteración genética en el nucleo de una célula simple del meristemo apical (Dermen, 1960), que puede ocurrir

independientemente y en cualquiera de las tres capas, dando cada una de ellas lugar a tejidos separados, por lo que las mutaciones se mostraran así mismo diferentes entre ellas. Solamente las capas L-I y L-II dan lugar a la piel del fruto; una mutación que afectara a características visibles del fruto como el color, sería aparente en cualquier estadio si ocurriera en las capas L-I y L-II, pero no lo sería si ocurriera en la capa L-III; en este caso podría manifestarse mediante la formación de yemas adventicias originadas a partir de tejidos internos (Dayton, 1969).

Una característica importante de la pigmentación de las diferentes variedades coloreadas de manzana, es la presencia de estrías de color rojo, pudiendo afectar a secciones grandes del fruto y siendo poco evidentes, como en la variedad 'Granny Smith', o más regulares y pequeñas, como en las variedades del grupo 'Gala'.

Dayton (1959) dedujo que las estrías son el resultado de mutaciones en la capa L-I del meristemo aplical, similares a las que producen la variegación. Nevers et al. (1986) han recopilado una extensa y detallada lista de alelos nucleares mutantes, que originan la variegación de la pigmentación en plantas superiores. Más recientemente, alguna de dichas mutaciones y su inestabilidad, ha sido explicada gracias a elementos transportables (Braun, 1976; Mol et al., 1988), aislados a partir de 4 genes involucrados en la biosíntesis de antocianos; sugeriéndose que pueden intervenir en muchas anomalías observadas en la pigmentación. En base a dichas experiencias, Nevers et al. (1986), han establecido una metodología para identificar elementos transportables inductores de mutaciones.

Algunos autores han afirmado que el color estriado es dominante sobre el color uniforme, lo que se basa en un modelo simple de regresión (Klein, 1958; Brown, 1975); mientras que otros han descrito una segregación compleja. Para el color rojo los modelos de segregación encontrados para la mayoría de las poblaciones estudiadas, pueden explicarse utilizando dos mecanismos génicos complementarios, más satisfactoriamente que con un gen sencillo dominante (Pratt et al., 1975). Así, una primera posiblidad es que el color rojo puede ser determinado por varios loci y los modelos de heredabilidad pueden explicarse por la expresión de diferentes loci en los cruzamientos; una segunda posibilidad es que los loci para el color rojo sean multialélicos y que su expresión cambie en función de las diferentes recombinaciones. De esta manera, en algunos casos podrían actuar como genes simples o pseudogenes (Alston, 1959) y en otros de una forma más compleja.

Con respecto a la genética y la heredabilidad del color rojo en las manzanas, muchos estudios indican la presencia de un gén dominante mayor (Brown, 1975; Karnatz, 1979; Schmidt et al., 1983). Lespinasse et al. (1985) propusieron a partir del estudio de una población que el color amarillo podía ser el resultado de dos genes complementarios, A + B, y que el color rojo sería el resultado de uno de estos genes A o B. Esta hipótesis está de acuerdo con los resultados de Karnatz (1979), que encontró frutos de color rojo en un 20 % de la progenie de la variedad 'Golden Delicious' autopolinizada.

Los mutantes rojos de las principales variedades de manzana ('Red Delicious', 'Gala', etc.), difieren en su facultad para transmitir su color rojo a la descendencia (Bergendal, 1970), hecho que parece estar relacionado con la capa histogénica en la cual ocurren las mutaciones (Dayton, 1959; Pratt et al., 1975). El conocimiento del potencial de un mutante para transmitir las características de su coloración a la descendencia, es de gran utilidad en la selección de parentales para los cruzamientos realizados en programas para la mejora del color; bajo esta perspectiva, es de interés la utilización de variedades como 'Beacon' que es capaz de desarrollar pigmentación roja si se conserva en la oscuridad tras su recolección (Westwood, 1982). Conocer con exactitud los mecanismos de heredabilidad del color es de interés para el mejorador, dado que permite ejercer un control sobre este caracter en los

### 3.4.2.2. - Coloración de las variedades del grupo 'Red Delicious'

En nuevas plantaciones, la introducción de mutantes más coloreados es la alternativa que actualmente ofrece mayor interés en zonas de difícil coloración. Sin embargo, su evaluación previa permite conocer el grado de adaptación (coloración, productividad, etc.) y consecuentemente, minimizar el riesgo que siempre supone para el sector productor su introducción. Este aspecto, es de especial relevancia en el grupo 'Red Delicious', dado que la aparición constante de nuevas variedades, requiere un importante proceso de contrastación y selección de las que ofrezcan las mejores características de coloración, productividad y calidad de los frutos.

Se dispone de abundantes referencias bibliográficas respecto al comportamiento de variedades 'Red Delicious' en diversas zonas de Estados Unidos, bajo condiciones climáticas poco favorables a la coloración de los frutos. Crassweller et al. (1989) evaluaron el comportamiento de 9 variedades del grupo 'Red Delicious' en West Virginia y en Pennsylvania en el año 1987, en base al color, la firmeza, y la aceptación general, utilizando una escala de 1 a 9. La recolección se realizó en la misma fecha para todas las variedades; una semana después de la misma 'Starkspur Ultrared', 'Ace', 'Starspur Supreme', y 'Starkrimson', tuvieron el sabor y la aceptación global significativamente inferior al resto de variedades; mientras que 'Starking Delicious' y 'Topred Delicious', seguidas por 'Oregón Spur II' y 'Silver Spur', fueron la de mejor sabor y las de pulpa más crujiente.

La variedad con mayor coloración fué 'Nured Royal', sin diferenciarse significativamente de: 'Oregon Spur II', 'Red Chief' (Cambell), 'Ace' y 'Topred Delicious' (en orden de color decreciente, sin diferencias significativas); 'Starking Delicious' fué la variedad de menor coloración y la peor valorada por su aspecto, a pesar de que presentó la mejor aceptación sensorial. Este hecho, está de acuerdo con trabajas previos, que muestran que una buena calidad gustativa no tiene por que estar necesariamente ligado a una buena apariencia (Smith et al., 1964), y que el sabor puede considerarse como una característica secundaria en las decisiones del consumidor, siempre y cuando se encuentre en un intérvalo adecuado. No hubo una mayor coloración de las variedades spur con respecto a las estándar (por ejemplo 'Red Chief' y 'Topred Delicious'), observación coincidente con las aportadas por otros autores (Bartram et al., 1979; Baugher et al., 1990a), dándose diferencias de color entre localidades y años.

En base a los resultados obtenidos, se puso de manifiesto que los consumidores no pudieron detectar pequeñas diferencias en los atributos sensoriales entre variedades, siendo el color el factor más importante en la determinación de las preferencias de los consumidores; resultados que son coincidentes con los obtenidos por otros autores en trabajos previos (Smith et al., 1964; Crassweller et al., 1985). Dado que los consumidores raramente tienen la oportunidad de comparar el sabor de variedades procedentes de diferentes localidades, el color probablemente seguirá constituyendo en el futuro la principal característica en la selección de nuevas variedades.

Ketchie (1988) estudio el comportamiento de 25 variedades del grupo 'Red Delicious' en Wenatchee (Washington -EE.UU.). La mayor producción acumulada para los primeros 5 años correspondió a las variedades: 'Atwood', 'Silverspur', 'Apex', 'Red King Oregon Spur', 'Redspur', 'Starking Delicious (Mood)' y 'Hardyspur'; las menos productivas fueron: 'Wellspur', 'Improved Ryan Spur' y 'Rosered'. El Indice de Productividad permite evaluar la eficiencia productiva de las diferentes combinaciones patrón variedad (Lord et al., 1980); las

variedades que presentaron los mejores indices fueron las de mayor producción acumulada, a excepción de 'Starking Delicious (Mood)', a las que habría que añadir 'Red Chief'. Las producciones acumuladas y el Indice de Productividad de 'Topred Delicious', 'Early Red One', 'Hy Early' y 'Sharpred', fueron intermedios a los obtenidos para el resto de variedades; no se observaron diferencias en la relación diametro/altura del fruto, pero sí dentro de un mismo árbol. En el momento de la recolección, la mejor coloración correspondió a: 'Early Red One', 'August Red', 'Topred Delicious', 'Sharpred' y 'Red Chief' y la menor a 'Wellspur', 'Redspur', 'Starking Delicious' y 'Starkrimson', lo cual es lógico, dado que estas últimas variedades de menor coloración son los parentales de las de mayor coloración. Para las variedades: 'Topred Delicious', 'Sharpred', 'Redspur' y 'Starking Delicious', existieron diferencias de color entre los frutos de un mismo árbol.

Baugher et al. (1990a) evaluaron durante el período 1985-1988, las características de crecimiento, producción y calidad del fruto de 34 variedades del grupo'*Red Delicious*', en la Universidad de West Virginia (EE.UU.); las variedades con un mejor comportamiento en el conjunto de características estudiadas fueron: '*Scarlet Spur*', '*Cascade Spur*', '*Ace*', '*Oregón Spur II*', '*Ultrared*', '*Nured Royal*', '*Silver Spur*', '*Ultra Stripe*' y '*Red Chief*' (*Cambell*). El color se evaluó visulamente por un panel de consumidores en una escala de 0 a 10, en base a la cual, la mejor coloración correspondió a: '*Ultrastripe*', '*Scarlet Spur*', '*Ultra Red*' y '*Red Chief*'; siendo '*Alred*' y '*Red Prince*', las de menor color. Otras variedades que presentaron una coloración intermedia fueron, en orden decreciente de color, '*Sharpred*', '*Oregón Spur*' y '*Topred Delicious*'. Variedades con color uniforme presentaron valores de coloración más elevados que las variedades de color estriado. El hábito de crecimiento *spur* no estuvo correlacionado con una elevada coloración.

El vigor y consecuentemente el tamaño del árbol esta altamente correlacionado con la sección del tronco (Westwood et al., 1970); en base a la sección del tronco, las variedades más vigorosas fueron: 'Topred Delicious', 'Aomori' y 'Classic' (tipo estándar), y las de menor vigor: 'Topspur' y 'Ace' (ambas de tipo spur). La densidad de yemas por metro lineal fué mayor en variedades spur (33 a 39), que en variedades estándar (15 a 18), y estuvo correlacionada positivamente con la eficiencia productiva. Las variedades con la entrada en producción más rápida, fueron también las de mayor producción acumulada por árbol siendo éstas: 'Wayne Spur', 'Silver Spur', 'Oregón Spur' y 'Imperial'; las de menor producción acumulada fueron 'Triple Red' y 'Ultra Red', mientras que 'Topred Delicious', 'Sharpred' y 'Red Chief', presentaron una producción intermedia. Las variedades con el mayor diámetro de fruto fueron: 'Oregón Spur', 'Silver Spur' y 'Imperial', siendo las de menor tamaño: 'Rubyred' y 'Triplered'; 'Topred Delicious', 'Red Chief' y 'Sharpred', presentaron un diámetro intermedio. No se observaron diferencias de maduración entre variedades estándar o spur, a pesar de que Westwood (1963) encontró que los tipos spur tenían tendencia a madurar una semana más tarde que 'Starking Delicious'. Las variedades de mayor firmeza fueron: 'Nured Royal', 'Classic', 'Suprema' y 'Topred Delicious'; con valores inferiores se situaron 'Red Chief', 'Oregón Spur' y 'Sharpred'.

El contenido medio de sólidos solubles fue superior a 11,5% para todas las variedades; el hábito de crecimiento *estándard* estuvo relacionado con un mayor contenido de sólidos solubles y el *spur* con menores contenidos de los mismos. La elección de una variedad, de entre las que presentaron un mejor comportamiento, depende de varios factores e implica decisiones referentes a condiciones climáticas específicas, manejo de las mismas y exigencias de mercado. Por ejemplo, si el color es el atributo más importante la mejor variedad sería *'Scarlet Spur'*; mientras que si se concede la misma importancia al color y a la productividad, *'Cascade Spur'* y *'Ace'* constituirían la mejor elección.

Crassweller et al. (1991) estudiaron el comportamiento de diversas variedades del grupo 'Red Delicious' durante el período 1985-1987, en diferentes localidades. Se obtuvieron los parámetros colorimétricos L\* y Tono; contrariamente a lo observado por otros autores (Polesello et al., 1980; Crassweller et al., 1985), no se encontraron diferencias consistentes entre los tres años, ni en el Tono ni los valores de L\*, correspondientes a las diferentes variedades. Existió más variabilidad entre variedades dentro de un año concreto, o una localidad concreta, que entre diferentes localidades y años. En todas las localidades los valores de L\* correspondientes a 'Starkrimson' y 'Redspur' fueron consistentemente superiores al resto de variedades, lo que indicaba su menor coloración en el momento de la recolección. Otras variedades con menor coloración fueron: 'Wellspur' y 'Redprince'. Atendiendo a L\* y al Tono, los menores valores, y por tanto la mayor coloración, correspondieron a las variedades: 'Ace', 'Scarlet Spur ' y 'Starkspur Ultrastripe'; 'Red Chief' presentó una coloración inferior a dichas variedades y similar a 'Ryanred'. Análogos resultados obtuvieron Baugher et al. (1990a); trabajos precedentes realizados por Crassweller et al. (1984), mostraron que 'Dixiered' y 'Early Red One' presentaron una mayor coloración que 'Red Chief'.

Para el conjunto de variedades y en la recolección, se encontraron correlaciones significativas entre el Tono y L\* en todas las plantaciones; así como entre los valores de L\*, la aceptación general por el consumidor, y el sabor percibido. No se encontraron correlaciones significativas entre los valores del Tono y las variables del sabor, ni en la recolección, ni 67 días después de frigoconservación.

Singha et al. (1991a) evaluaron en 1988, en la Universidad de West Virginia (EE.UU.), la relación existente entre la apreciación visual del color y los valores de cromaticidad de 37 variedades del grupo 'Red Delicious'.

Intencionadamente se utilizó un número elevado de variedades que presentaran una amplia variación en la coloración, que permitierá establecer la relación entre los dos parámetros anteriormente mencionados; adicionalmente se comparó la coloración del fruto de dichas variedades. En el momento de la recolección, las variedades se evaluaron visulmente en una escala de 1 a 10 (10: excelente) y se midió el color del fruto se midió en la zona ecuatorial, con un colorímetro portatil triestímulo Minolta CR-200b.

Las variedades con una mayor coloración (menor valor de L\*) fueron: 'Red Chief', 'Dixiered', 'Scarlet Spur', 'UltraStripe' y 'Ace'; siendo las menos coloreadas: 'Topred Delicious', 'Classic', 'Sharpred' y 'Redspur'; 'Oregón Spur' proporcionó valores intermedios. Se detectaron diferencias significativas para los parámetros a\* (medida del rojo) y b\* (medida del amarillo) entre variedades, lo que influyó en el valor del ratio a\*/b\*. El valor de a\* por si mismo está escasamente relacionado con la apreciación visual del color rojo; variedades de elevada coloración, presentaron valores más bajos de a\*, que otras de menor color, lo que concuerda con los resultados obtenidos en otras experiencias (Singha et al., 1991b). El parámetro L\* esta relacionado con la apreciación visual del color ( $R^2 = 0.55$ ); a pesar de que varios modelos fueron testados, fué el ratio a\*/b\* el que proporcionó la mejor relación con la apreciación visual del color ( $R^2 = 0.63$ ) para el amplio rango de variedades evaluadas. La introducción de 5 variables en el modelo de regresión proporcionó un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) = 0,71; de lo que se deduce, que el ratio  $a^*/b^*$  es en la práctica el de mayor interés, al ser de fácil cálculo y aportar una buena correlación con la apreciación visual del color. El croma presentó una correlación inferior y el Tono similar, a pesar de estar bien relacionado con el color de los alimentos (Francis et al., 1975).

El ratio a\*/b\* presentó una relación lineal con el Tono, por lo que cualquiera de los dos pueden utilizarse en evaluaciones de color. Variedades con un ratio a\*/b\* similar presentaron

diferencias en la valoración visual, debido a la presencia de estrías en el fruto, que influye en la apreciación visual. La falta de uniformidad de color disminuye la aceptación en el panel de consumidores; lo mismo ocurre en variedades con un elevado ratio a\*/b\*, de coloración casi oscura, como 'Dixiered'.

A pesar de que algunas variedades, como 'Alred' y 'Dixiered', no proporcionaron un buen ajuste entre el ratio a\*/b\* y la apreciación visual, y redujeron el valor de R²; el ratio a\*/b\* medido instrumentalmente refleja de forma efectiva el ratio del color establecido por el panel de consumidores y elimina los problemas de subjetividad asociados con la determinación visual, permitiendo expresar el color en unidades internacionalmente aceptadas (CIELAB, 1976).

Singha et al. (1991b) estudiaron, en el momento de la recolección de 10 variedades del grupo 'Red Delicious', la relación entre la concentración de antocianos y los valores de cromaticidad medidos con un colorímetro triestímulo portatil CR-200b; los valores de cromaticidad del fruto se expresaron en las coordenadas espaciales del color L\*, a\* y b\* definidas por la C.I.E. (Hunter, 1975). Tanto el color como el contenido de antocianos, se determinaron en la cara más expuesta a la iluminación, en la menos expuesta y en la intermedia, lo que permitió evaluar y cuantificar su distribución en el fruto. Existieron diferencias entre variedades, siendo las que presentaron el mayor contenido de antocianos (en las tres zonas del fruto evaluadas) y por tanto la mejor coloración: 'Scarlet Spur', 'Oregón Spur II', 'Ace' y 'Red Chief'; variedades con las que se obtuvieron los frutos mejor coloreados en cualquier parte del árbol y en cualquier localidad, con respecto a variedades de menor color como 'Starkrimson', y 'Hardy Brite Spur'. Dichas diferencias se dieron debido a que tanto la parte más coloreada, como la intermedia, y la menos coloreada, tuvieron una menor concentración de antocianos en las variedades de menor coloración.

Se observaron diferencias importantes de coloración entre variedades y consecuentemente en los valores de cromaticidad. En todas, la cara del fruto más expuesta a la insolación fue significativamente más roja (menor valor de L\*), que la intermedia, correspondiendo la menor coloración a la cara sombreada. El valor de a\* varió entre variedades y entre las diferentes partes del fruto; en las variedades de mejor color la cara sombreada proporcionó mayores valores de a\* que la cara expuesta, contrariamente a lo que ocurrió con el contenido de antocianos y a lo que cabría esperar, lo que indica que el valor de a\* esta poco relacionado con la concentración de antocianos (R²= 0,10). Otros autores han señalado también, la escasa relación entre los valores de a\* y la apreciación visual del color (Singha et al., 1991a). El valor de b\*, fue significativamente superior en la cara sombreada de todas las variedades, por lo que las variedades de menor color, tuvieron los mayores valores de b\* en dicha cara y consecuentemente un menor valor del ratio a\*/b\*. Los parámetros b\* y a\*/b\*, se relacionaron mejor con los antocianos extraidos (R²= 0,59 y 0,61 respectivamente), que el valor de a\*.

Shingha et al. (1994) en la Universidad de Virginia (EE.UU.), evaluaron los cambios de color en 6 variedades del grupo 'Red Delicious', en el período 27 de julio 21 de septiembre, para lo cual se utilizó colorímetro portatil triestímulo. En la primera medición se detectaron diferencias entre variedades, siendo 'Ace' y 'Oregon Spur II' las de coloración más precoz y con mayor valor de a\*, mientras que 'Strarkrimson' y 'Red Prince' tenían una coloración verde más intensa (menor valor de a\*). 'Nured Royal' y 'Ryanared' presentaron valores intermedios, manteniéndose las diferencias entre variedades durante el mes de agosto; consecuentemente variedades que en el momento de la recolección eran más rojas, adquirieron el color más precozmente. Los valores de a\*/b\* presentaron una evolución similar a los de a\*, mientras que para b\* los valores fueron inversos; el ratio a\*/b\* fué el que

mejor se relacionó con la apreciación visual del color del fruto (Singha et al., 1991b), ya que variedades como 'Oregón Spur II', con valores elevados de dicho ratio, es mucho más roja que 'Red Prince' con valores bajos, lo que no ocurre con el parámetro a\*. Para la mayoría de variedades, el incremento más importante de color tuvo lugar desde mediados de agosto hasta la primera semana de septiembre (recolección); en dicho período el color de las diferentes variedades tendió a aproximarse; a pesar de que 'Strarkrimson' permanecía verde el 16 de agosto, desarrolló rapidamente color rojo a partir de dicha fecha. La cuantificación de las diferencias en el desarrollo del color realizadas con el colorímetro, coincidieron con las observaciones visuales del color de dichas variedades.

Dicho estudio demuestra que existen diferencias significativas entre variedades, tanto en la precocidad de coloración, como en el grado de desarrollo y en la coloración final, variedades que colorean más precozmente como 'Ace' y 'Oregon Spur II', tienden a desarrollar mejor color en la recolección, en comparación con otras de menor color como 'Red Prince'. Estas variedades se han seleccionado precisamente por su elevada coloración y poseen un mayor contenido de antocianos respecto a 'Red Prince' (Singha et al., 1994); un seguimiento de la evolución de los parámetros colorimétricos a\*/b\* y L\*, o una combinación de los mismos, puede constituir una valiosa ayuda para determinar el momento de la recolección, debido a su buena correlación con el contenido de antocianos de la piel del fruto (Singha et al., 1991a,b). Los resultados obtenidos en el presente estudio, son coincidentes con las conclusiones de Chalmers et al. (1973), según las cuales es posible utilizar el cambio en la acumulación de antocianos, como indice de madurez en variedades rojas de manzana.

Fallahi et al. (1994) evaluaron en la Universidad de Idaho (EE.UU) durante los años 1986, 1990, 1991 y 1992, el comportamiento de 26 variedades pertenecientes a los subgrupos estándar y spur, en lo referente al crecimiento, producción y calidad del fruto, en el momento de la recolección y después de 6 meses de conservación. Las variedades más vigorosas (en función de la sección del tronco) fueron: 'August Red', 'Rosered' y 'Sharpred', mientras que 'August Red' y 'Starking Delicious', presentaron mayor vigor y mayor producción acumulada que el resto de variedades. De entre ellas fueron: 'Apex', 'Improved Ryan Spur', 'Silverpur', 'Starkrimson' y 'Wellspur', las de mayor producción acumulada y mejor indice de productividad; para 'Hardy Brite Spur' y 'Red King Oregon Spur', la producción fue moderadamente alta y el vigor bajo. Fueron: 'Atwood', 'Hardy Brite Spur', 'Imperial', 'Improved Ryanared', 'Stark Spur Supreme' y 'Topred Delicious' las que tuvieron las producciones acumuladas más bajas. El mayor peso del fruto correspondió a: 'Ace', 'Imperial', 'Red King Oregon Spur', 'Rosered', 'Starking Delicious' y 'Wellspur'.

El color del fruto de 'Early Red One' fue significativamente superior al resto de mutantes y próximo a 'Rosered'; los mutantes menos coloreados fueron 'Hy Early', 'Improved Ryanared', 'Red Spur' y 'Starking Delicious'. 'Nured Royal', 'Silver Spur' y 'Starkrimson' tuvieron el mayor contenido de sólidos solubles en el momento de la recolección; correspondiendo el menor contenido a'Early Red One', 'Imperial', 'Improved Ryan Spur' y 'Red King Oregón Spur'; la mayor firmeza correspondió a 'Apex' y a 'Red Spur' y la menor a 'Rosered'.

Considerando los parámetros de producción acumulada, eficiencia productiva, color y calidad del fruto: 'Apex', 'Classic Red', 'Improved Ryan Spur', 'Red King Oregón Spur', 'Silver Spur' y 'Wellspur', proporcionaron unos resultados satisfactorios; mientras que para 'Hardyspur' y 'Sturdespur' el comportamiento no fué el deseado.

Polessello et al. (1980), realizaron una evaluación objetiva del color de 26 variedades de manzana correspondientes al grupo 'Red Delicious', en Cesena (Italia). La medición instrumental del color, se realizó con un colorímetro que proporcionó las coordenadas

espaciales del color L\*, a\* y b\*; a partir de las cuales se derivaron el ratio a\*/b\*, el Tono y la Saturación. Las variedades: 'Early Red', 'Haroldred', 'Stark Delicious', 'Superstarking' y 'Starking Delicious', mostraron una distribución del color heterogenea. En base a los valores de L\* las variedades de mayor coloración (menor L\*) fueron: 'Ryanared', 'Hy Early', 'Topred Delicious', 'Haroldred' y 'Starking Delicious'; siendo las de menor color: 'Orleans', 'Delicious', 'Giant Red' y 'Gardner'. En base al ratio a\*/b\*, los mayores valores correspondieron a: 'Turner', 'Bologna', 'Delicious' y 'Gardner'; el Tono presentó un rango amplio de variación, lo que permitió clasificar las diferentes variedades en tres grupos estadísticamente diferentes (de menos a más color). El grupo 1 correspondió al rango de Tono 90-70°, el grupo 2: 70-50°, el grupo 3: 50-20° (con los subgrupos 3.1.: 50-40°, 3.2: 40-25°, 3.3: 25-20°). Las variedades 'Haroldred', 'Ryanared' y 'Topred Delicious', correspondieron al grupo 3.3, el de mayor intensidad de coloración; al grupo 3.2, color principalmente rojo, pertenecieron entre otras las variedades 'Imperial', 'Hy Early', y 'Superstarking'; mientras que en el grupo 3.1, rojo-amarillo, se incluyeron 'Double Red', 'Shotwell' y 'Redking'. La saturación constituye el mejor criterio para evaluar el proceso de maduración de las diferentes variedades; si se utiliza la máxima intensidad de color para determinar el estado óptimo de maduración, las variedades 'Delicious', 'Double Red', 'Hired', 'Hapke' y 'King Delicious', deberían recolectarse antes que el resto. Por otra parte, el Tono puede ser utilizado para definir las características de los frutos de cada variedad en el momento de la recolección. De hecho, dichos valores están correlacionados con la evaluación sensorial de los mismos (Singha et al., 1991a).

En las principales zonas frutícolas de Francia (Val de Loire, suroeste y sureste), se estudió el comportamiento de 13 mutantes del grupo 'Red Delicious' durante 5 años, desde el segundo al sexto verde (Le Lezec et al., 1983). Se observó frecuentemente mutaciones espontaneas de diversos mutantes, lo que había sido puesto en evidencia por otros autores (Decourtye et al., 1970). La variedad 'Topred Delicious' y especialmente 'Early Red One' fueron las que presentaron las mejores características agronómicas (tamaño de fruto, producción acumulada, y eficiencia productiva); siendo 'Crimson Morspur' y 'Starkrimson' las variedades más productivas de los tipos spur, y obteniendo para 'Red Chief' y 'Oregón Spur' producciones intermedias. La producción acumulada media por árbol fue similar en los tipos estándar y spur; la mayor rapidez de entrada en producción (expresada también por el Indice de Productividad), correspondió a: 'Early Red One', 'Topred Delicious', 'Ryanared' y 'Red Prince' (tipos estándar); y a 'Starkrimson', 'Hardispur' y 'Griffith Spur' (tipos spur); 'Red Chief' tuvo un comportamiento intermedio.

Las diferentes variedades se clasificaron en función de la intensidad y del tipo de coloración, valorándose el atractivo del fruto en una escala de 1 a 5. En las condiciones del sureste de Francia con climas más calurosos, el mejor color correspondió a 'Early Red One' seguida en orden decreciente por: 'Ryanared', 'Topred Delicious' y 'Sharpred'

(tipos estándar), y 'Red Chief' y 'Redspur' (tipos spur). Los frutos más atractivos, en orden decreciente, correspondieron a las variedades 'Early Red One', 'Ryanared', 'Topred Delicious' y 'Sharpred'; y dentro de las spur 'Red Chief' y 'Redspur'. Con respecto al tamaño de los frutos, no se apreciaron diferencias significativas en las variedades estandar, mientras que en las spur 'Courtavel' y 'Spur Red Delicious' fueron las de menor tamaño. Los frutos más alargados y con lóbulos más prominentes correspondieron a las variedades 'Sharpred', 'Richared', 'Early Red One', 'Red King' y 'Imperial Delicious' (tipos estándar); y 'Wellspur', 'Redspur' y 'Red Chief' (tipos spur). Tanto el contenido de sólidos solubles como la acidez, y consecuentemente la calidad gustativa fueron superiores en los tipos estándar que en los spur. En la zona tardía de Lleida, se dispone de referencias respecto al comportamiento de 7

variedades correspondientes al grupo 'Red Delicious' en su quinto año de plantación (Iglesias, 1989b;1990). Las variedades objeto de estudio fueron: 'Early Red One', 'Sharpred', 'Topred Delicious' (estándar) y 'Red Chief', 'Oregón Spur', 'Ultrared' y 'Supremered' (spur). Se realizó una valoración del atractivo de las variedades en base a su grado de coloración, siendo: 'Red Chief', 'Ultrared' y 'Early Red One', las que presentaron el mejor color en el momento de la recolección y 'Sharpred', junto a 'Topred Delicious', las de más baja coloración. Así mismo, se observaron diferencias en la precocidad de la aparición del color, siendo 'Early Red One', 'Ultrared' y 'Red Chief', las que iniciaron antes su coloración. Con respecto a la uniformidad de color en el conjunto del árbol destacar 'Red Chief', 'Ultrared', 'Supremered' y 'Early Red One', siendo más irregular en 'Topred Delicious', 'Sharpred' y 'Oregón Spur', especialmente en años climáticamente poco favorables al color, como 1988. La mayor producción correspondió a 'Early Red One', 'Sharpred' y 'Supremered', siendo las dos primeras las que proporcionaron los mejores Indices de Productividad. El mejor tamaño de fruto correspondió a 'Topred Delicious' y 'Early Red One', mientras que los calibres más homogeneos se obtuvieron con 'Red Chief', 'Sharpred' y 'Topred Delicious'. La firmeza de los frutos no presentó diferencias significativas entre variedades, lo que indica que es dificil establecer diferencias entre tipos estándar y spur con respecto a la época de maduración, hecho también expuesto por otros autores (Baugher et al., 1990a); el contenido de sólidos solubles fué superior en variedades estándar con respecto a las spur. Graell et al. (1993) determinaron el contenido de antocianos y los parámetros colorimétricos L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, y Tono, en las dos caras del fruto de 11 variedades del grupo 'Red Delicious': 'Red Miracle', 'Topspur', 'Red Chief', 'Ultrared', Early Red One', 'Elite', 'Oregón Spur', 'Hy Early', 'Sharpred', 'Topred Delicious' y 'Super Starking'. Las determinaciones se realizaron en el inicio de la maduración y en la madurez comercial (recolección); los mayores contenidos de antocianos correspondieron en todas las fechas a la variedad 'Red Miracle', seguida por: 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Topspur', y los menores a: 'Super Starking', 'Topred Delicious' y 'Hy Early'; análogos resultados proporcionó el estudio de los parámetros colorimétricos. Con 'Ultrared', 'Elite' y 'Oregón Spur' se obtuvo una coloración intermedia. En base a la metodología propuesta por Polesello et al. (1980), y considerando conjuntamente los valores de a\*/b\* y del Tono, la mayor coloración -mayores valores de a\*/b\* y menores valores del Tono- se obtuvo con 'Red Miracle' y la menor con 'Topred Delicious', 'Super Starking' y 'Oregón Spur'. El análisis de regresión simple entre los parámetros colorimétricos y los contenidos de antocianos, en el momento de la recolección y considerando cojuntamente las 11 variedades y las dos caras del fruto, proporcionó los mejores coeficientes de determinación para los parámetros a\*/b\* (0,93) y Tono (0,86); valores superiores a los obtenidos por otros autores (Singha et al., 1991a,b). Dichos resultados indican la utilidad de los parámetros colorimétricos para determinar la fecha de recolección, debido a su buena relación con el contenido de antocianos de la piel del fruto. Análogas conclusiones han sido realizadas por otros autores (Chalmers et al., 1973; Singha et al., 1991a,b).

### 3.5.- El color y su medida

El color es el efecto de un estímulo que lo transmite al cerebro donde es interpretado; el estímulo consiste en la luz transmitida o reflejada por un objeto a partir de la luz que incide sobre él. El ojo humano percibe la luz visible (380 nm  $< \lambda < 780$  nm) y aprecia tres características (Durán, 1978): el Tono o tipo de color, que responde a la dominancia de unas radiaciones a determinadas longitudes de onda sobre otras (rojo, amarillo,...); la Saturación o pureza, que describe el grado en que un color se separa del gris neutro y se acerca a un color

puro del espectro (más rojo o menos rojo según la cantidad de gris presente en el color); la Luminosidad o claridad, que es la cantidad de luz reflejada o transmitida por un objeto dentro de un mismo Tono y Saturación (brillante, luminoso, etc.).

Un objeto puede absorber, reflejar o transmitir parte de la luz que le llega. La proporción de la luz que refleja o transmite, puede variar según la longitud de onda de la luz incidente, debido a que los pigmentos no absorben de igual forma a todas las longitudes de onda (Cheftel et al., 1980). La sensación de color percibida por un observador, depende de las características del producto, del color e intensidad de la iluminación y del estado anímico en que se encuentre; por lo que el ojo humano no resulta un medio objetivo para realizar medidas de color (Knee, 1980; Ibarz, 1989).

Todo lo anterior muestra la necesidad de aplicar métodos intrumentales de medida, basados en las teorías físicas del color, que permitan interpretar definir y comparar entre sí los diferentes colores de una manera objetiva y, al mismo tiempo, facilmente reproducible. Entre los métodos más utilizados se encuentran los utilizados en medidas espectofotométricas y posterior tratamiento matemático de los distintos parámetros indicativos del color.

# 3.5.1.- <u>Espacio físico de colores definido por la Commissión Internationale de l'Eclairage (C.I.E.)</u>

La medida del color esta normalizada a nivel internacional, desde la reunión de la Commission Internationale de l'Eclairage (C.I.E.) celebrada en París en 1931; donde se estableció una nomenclatura y un espacio de color conocido como sistema CIE. Este sistema se basa en la posibilidad de recontruir cualquier estímulo coloreado mediante una mezcla de cantidades adecuadas de tres estímulos fundamentales del color. La CIE estableció como colores fudamentales el rojo (700 nm), el verde (546 nm) y el azul (436nm) y se designaron como X, Y y Z, o valores triestímulo del color de un objeto sometido al iluminante C. El iluminante C, corresponde, a la luz blanca, de la cual se conoce exactamente su espectro; esta luz aporta la misma cantidad de energía para cada longitud de onda. Cualquier diferencia de color se manifestará como  $\Delta X$ ,  $\Delta Y$ , o  $\Delta Z$ , diferentes de cero, donde  $\Delta X$ ,  $\Delta Y$ , o  $\Delta Z$ , son las diferencias entre cada uno de los valores triestímulo de los colores en cuestión.

Para representar gráficamente los valores cromáticos, las coordenadas X, Y y Z de la CIE, se pueden transformar en coordenadas tricromáticas.

Dado que x + y + z = 1, es posible determinar el color mediante dos coordenadas de cromaticidad:  $x \in y$ .

Este sistema es excelente para representar mezcla aditivas, siendo además muy sencillo de manejar; sin embargo, es muy poco uniforme, por lo que con mucha utilidad conduce al usuario no familiarizado con el a errores. Es por ello que se han propuesto muchas modificaciones de este sistema. Una de las más conocidas y usadas es el sistema Hunter (L, a, b) (Hunter, 1975), y los más recientes y oficialmente reconocidos como internacionales CIELAB y CIELUV.

En el año 1976, el Comite de Colorimetría TC-1.3 de la CIE, propuso para su estudio dos espacios uniformes del color con sus correspondientes formulas de diferencias de color asociadas; estos dos espacios se denominaron CIELUV y CIELAB. Por diferentes causas, ha sido el CIELAB (CIE L\*a\*b\*) el que se ha impuesto; en la actualidad, este espacio se usa cada vez más y la mayoría de los colorímetros disponibles en el mercado, proporcionan

directamente las coordenadas cromáticas CIELAB (Artigas et al., 1985).

El espacio de color CIELAB se genera representando en coordenadas rectangulares las cantidades definidas por:

donde X, Y, Z son los valores triestímulos CIE correspondientes a la muestra, y  $X_o$ ,  $Y_o$ ,  $Z_o$ , las correspondientes al estímulo de referencia blanco, o iluminate utilizado.

Además de un sistema normalizado de medida, también deben estar normalizadas el iluminante del colorímetro, el objeto a medir, y el ángulo de observación del objeto, dado que influyen en la percepción del color. Los patrones de luz normalizados que generalmente se utilizan son los iluminantes C,  $D_{65}$  y  $D_{75}$  y los ángulos de observación  $2^{\circ}$  y  $10^{\circ}$ .

El sistema de medición cromática del color CIELAB, constituye el diagrama tridimensional L, a, b de Hunter (1958), representado en la *Figura 1-10* y que define las coordenadas espaciales del color. Este sistema es el que representa con más exactitud la sensibilidad del ojo humano por la percepción del color y es por ello que se ha convertido en uno de los métodos más populares de medición. En este sistema, iguales distancias son percibidas por iguales diferencias de color. L\* es el brillo, a\* y b\* representan las coordenadas de cromaticidad; las ecuaciones que las definen se han expuesto anteriormente. En la *Figura 1-10* se ha representado la diferencia total de color entre dos puntos (A' y B).

Figura 1-10

En este sistema, los cambios de color pueden expresarse según dos criterios:

- a)Teniendo en cuenta las diferencias de luminosidad (L\*) y las coordenadas cromáticas a\* y b\* aislada o conjuntamente, siendo:
- \* L\*: denominado Luminosidad, brillo o claridad. Es la cantidad de luz incidente que es reflejada por la superficie de la manzana, dentro de un mismo tono o saturación (brillante, luminosa, etc.). Representa el valor de la luminosidad o claridad y oscila entre 0 (negro) y 100 (blanco). Para los colores oscuros L\* es pequeño, dado que se produce una mayor absorción del color y una menor reflexión, mientras que para valores claros su valor es grande (menor absorción, mayor reflexión); cambios de color se traducen por variaciones en los valores de L\*
- \* a\*:es negativo para el color verde y positivo para el rojo; su valor a medida que se incrementa la coloración tiende a aumentar, al desplazarse hacia la parte derecha del Diagrama de Hunter. A pesar de indicar el grado de color rojo (Aubert, 1983;1990; Dordet, 1990; Singha et al., 1994), los valores de a\* no siempre muestran una buena correlación con la observación visual del color rojo y con el contenido de antocianos (Crassweller et al, 1991; Singha et al., 1991a,b).
- \* **b**\*:es negativo para el azul y positivo para el amarillo. Al igual que ocurre con L\* y el Tono, una mayor coloración roja implica menores valores de b\*; mientras que la transición del color verde a amarillo en la variedad 'Golden Delicious' se traduce por un incremento del mismo (Ferré et al., 1987).
- \* a\*/b\*: relaciona los parámetros a\* y b\*; muestra un incremento progresivo a medida que avanza la maduración y aumenta la coloración de los frutos, dado que a\* aumenta y b\* disminuye. Numerosas experiencias indican que este parámetro refleja de forma efectiva la percepción visual del color en frutas de hueso (Agustí et al., 1995; Ravaglia et al., 1996), y es el que se relaciona mejor con los contenidos de antocianos de la piel del fruto (Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991a,b; 1994).
  - b) Expresando el ángulo del vector definido por las dos coordenadas a\* y b\* en el plano

de cromaticidad (Saturación), o bien el vector triestimular en el espacio (DE\*ab), también denominado vector espacial de cromaticidad (DE\*), calculados a partir de L\*, a\* y b\*. Esta forma de expresión del color se justifica, debido a que la interpretación individual de las coordenadas L\* a\* y b\*, no siempre permite una explicación lógica desde el punto de vista de percepción del color. El tono, la saturación yDE\*ab, constituyen junto con L\* las cuatro dimensiones de percepción del color.

\* TONO (hue):está relacionado con el tipo de color o tonalidad, y es el atributo por el cual se identifica un color como rojo, verde, azul, naranja, etc. Se calcula según la siguiente expresión:

TONO (°) = 
$$\arctan (b*/a*) \times 57,3$$

y representa el ángulo (en grados), formado entre la recta que une el punto definido por las coordenadas a\* y b\* con el origen de coordenadas, y el eje de abcisas del Diagrama de Hunter (Crassweller et al., 1991). En variedades rojas de manzana, a medida que se incrementa el color presenta un desplazamiento desde el segundo hacia el primer cuadrante, por lo que su valor diminuye al aproximarse la recolección, al igual que ocurre con L\* y b\* (ver Figura 1-10). El Tono proporciona un ángulo que está psicológicamente correlacionado con la aceptación visual de los alimentos (Francis, 1952; Clydesdale, 1978), cuanto menor sea su valor más roja será la muestra analizada.

### \* SATURACIÓN (pureza o croma):

es la relación entre la cantidad de color puro y la cantidad de color gris neutro (muy rojo, menos rojo). También se define como la proporción de contenido cromático en el total de la percepción, es decir, la relación entre la cantidad de tono del color predominante y la cantidad de color gris o la suma de todos los tonos espectrales. La expresión de cálculo es:

SATURACIÓN = 
$$(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$$

corresponde al radio del círculo del espacio bidimensional de color CIELAB, que es la distancia entre el punto (a\*, b\*) al origen de coordenadas (<u>Figura 1-10</u>). A medida que los rutos colorean, presenta una ligera disminución hasta la recolección, a pesar de que para ciertas variedades pueden mostrar un incremento antes de la recolección.

\* VECTOR TRIESTIMULAR (E\*ab): representa la diferencia total de color entre dos muestras cualesquiera y es la resultante entre la proporción del contenido cromático y la luminosidad. La expresión de cálculo ac:

$$\Delta E * ab = (L*^2 + a*^2 + b*^2)^{1/2}$$

corresponde al radio de la esfera cuyos puntos están formados por el espacio bidimensional de color CIELAB, más el correspondiente valor de la luminosidad (L\*), lo que sitúa al punto en cuestión en el espacio. El radio es la distancia entre dichos puntos y el origen de coordenadas (<u>Figura 1-10</u>). Los cambios de color se traducen por diferencias en el valor del vector triestimular, a medida que avanza la maduración su valor disminuye. Cuando se refiere al color de un unico punto, se denomina **VECTOR ESPECIAL DE CROMATICIDAD (DE\*)** (Aubert, 1990).

En este espacio, las diferencias de color y de croma entre dos colores, vienen dadas por

las expresiones:

$$\Delta E * ab = [(\Delta L *)^2 + (\Delta a *)^2 + (\Delta b *)^2]^{1/2}$$
  $\Delta C * = (\Delta a *)^2 + (\Delta b *)^2]^{1/2}$ 

siendo en este caso:

$$\Delta L^* = L^* - L^*_0$$
  $\Delta a^* = a^* - a^*_0$   $\Delta b^* = b^* - b^*_0$ 

donde:  $L_{o}^*$   $a_{o}^*$   $b_{o}^*$ , son los valores iniciales de los parámetros CIELAB.

### 3.5.2.- Medida del color en las manzanas

El color es un factor importante que forma parte del atractivo del fruto, permite apreciar su madurez y determina en gran parte su valor comercial, por lo que su seguimiento es de especial interés. Habitualmente se ha determinado con técnicas indirectas y destructivas, tales como el aislamiento y la cuantificación de los pigmentos antocianos, o con medidas no destructivas basadas en la determinación de las características de la luz, transmitida o reflejada por el fruto.

La relación entre la composición de los pigmentos, la medida del color y su percepción por el ojo es compleja y evidencia la subjetividad para diferenciar colores por el ojo humano (Knee, 1980), por lo que los pigmentos de composición diferente deberían ser percibidos por el ojo como colores diferentes. Es por ello, que se precisa de técnicas instrumentales para realizar medidas rápidas, objetivas y que permitan realizar comparaciones consistentes de la diferencia de color; más aún cuando se trata de variaciones importantes en los modelos de coloración (desde uniforme a estriado); que dependen del genotipo, del desarrollo del fruto y de los factores ambientales (Saure, 1990; Lancaster, 1992). De entre las medidas no destructivas y objetivas para la determinación del color en variedades rojas de manzana, la más frecuente es la utilización de un colorímetro portátil triestímulo analizador del color, Minolta CR-200b (Minolta Ramsey, N.J.).

La cuantificación de la concentración de antocianos proporciona una medida directa del grado o intensidad del color; sin embargo, esta medición, además de ser destructiva, es costosa en tiempo y medios, por lo que resulta de interés buscar una relación entre los valores colorimétricos y el contenido de antocianos. Numerosos estudios y trabajos se han realizado para determinar dichas relaciones, especialmente en variedades del grupo 'Red Delicious', estableciendo regresiones lineales o múltiples, que indican la utilidad de la utilización de un colorímetro portátil, para realizar estimaciones in situ, rápidas, fáciles y no destructivas del contenido de antocianos del fruto (Francis, 1975;1980; Singha et al., 1991a,b). Contrariamente a lo que cabría esperar, otros autores no han encontrado correlaciones significativas entre el contenido de antocianos y los valores de a\* (Crassweller et al, 1991; Singha et al., 1991a,b;1994), cuando esta coordenada mide el color rojo; lo mismo ocurrió con b\* y a\*/b\* (Lancaster et al., 1994).

La utilización de la metodología triestimular, permite una medida objetiva de la calidad visual de los frutos, a pesar de que no permite diferenciar los diferentes pigmentos que constituyen la epidermis de las manzanas rojas; también se requiere ciertas precauciones, debido a la dificultad innata de la percepción visual humana (problema de metamerismo), que proporciona una expresión global "sintética" de la coloración, sin distinguir los pigmentos constitutivos (Aubert, 1990).

La evalución instrumental objetiva del color de la piel de las manzanas correspondientes a las diferentes estrategias de riego y variedades, constituye uno de los objetivos del presente trabajo. Para ello, se ha utilizado un colorímetro portátil Minolta

Chroma Meter CR-200, analizador del color, que lleva incorporado el iluminante  $D_{65}$  con un ángulo de observación de  $2^{\circ}$ . También se han establecido las relaciones entre los valores colorimétricos y el contenido de antocianos de la piel de los frutos.



# OBJETIVOS OBJETIVOS OBJETIVOS OBJETIVOS OBJETIVOS

En la presente Tesis, se evaluan dos alternativas para la mejora del color en variedades rojas de manzana, en la zona frutícola de Lleida; planteándose los siguientes objetivos:

### a)<u>Riego</u>

- I. Evaluar, durante dos y tres años, la eficacia de diferentes estrategias de aplicación del riego refrescante por aspersión, en la mejora del color (en la recolección y en fechas previas) y en los parámetros de calidad del fruto de las siguientes variedades: 'Early Red One', 'Oregón Spur', 'Topred Delicious' y 'Mondial Gala'
- II. Comparar el efecto de dos sistemas de riego (aspersión y manta), en la coloración y en los parámetros de calidad del fruto de la variedad 'Starking Delicious'.
- III. Conocer las modificaciones ambientales originadas por el riego por aspersión y su efecto en la síntesis de antocianos.

### b) Material vegetal

- I. Evaluar durante tres años, el comportamiento de 8 variedades del grupo 'Red Delicious' ('Topred Delicious', 'Sharpred', 'Early Red One', 'Hy Early', 'Red Chief', 'Oregón Spur' y 'Red Miracle'), en base a las características de la coloración de los frutos, tanto en el momento de la recolección como en fechas previas.
- II. Determinar la producción y productividad de dichas variedades, así como los parámetros de calidad de los frutos.

Por otra parte, se han planteado los siguientes **objetivos comunes** para las dos alternativas:

- \* Evaluar la eficacia y utilidad de metodologías instrumentales, basadas en la utilización de un colorímetro, para la evaluación objetiva del color en variedades rojas de manzana, estableciendo las relaciones entre los valores colorimétricos (coordenadas del espacio de color CIELAB) y el contenido de antocianos de la piel del fruto.
- \* Evaluar el efecto del factor año, con condiciones climaticas diferentes en los tres años en que se realizaron las experiencias, en la síntesis de antocianos.

## <u>CAPÍTULO I</u>:

INFLUENCIA DEL RIEGO POR ASPERSIÓN EN LA COLORACIÓN DE VARIEDADES ROJAS DE MANZANA (Malus Domestica Borkh).



# I.- INTRODUCCIÓN

La obtención de frutos con una adecuada coloración, ha constituido uno de los objetivos prioritarios para el sector productor de variedades rojas de manzana, debido a su repercusión directa en los precios percibidos. Este objetivo, es aún más importante en zonas frutícolas de llanura con climas cálidos y poco favorables al color, como la de Lleida, donde las variedades rojas y más recientemente las bicolores del grupo 'Gala', aportan la mayor producción de manzana después de 'Golden Delicious'.

Para paliar los efectos negativos de una deficiente coloración, una de las alternativas que actualmente ofrece un mayor interés es la introducción de nuevas variedades, que incluso en áreas poco adecuadas, mejoren la coloración con respecto a las actualmente cultivadas. Sin embargo, cualquier proceso de reconversión varietal, a pesar de ser de un interés manifiesto, es forzosamente largo en el tiempo. Es por ello, que paralelamente se han venido aplicando diferentes prácticas culturales como: la aplicación de reguladores de crecimiento, la poda en verde, el manejo de la nutrición y especialmente el riego por aspersión, que han permitido mejorar el color de los frutos. De entre dichas técnicas, la aplicación de la daminozida, fué bastante generalizada y supuso en el pasado una mejora sustancial de la coloración en variedades como 'Starking Delicious' o 'Topred Delicious'; actualmente, al no disponer de dicha alternativa, la técnica del riego refrescante por aspersión, es la que puede permitir una mejora significativa del color en plantaciones ya establecidas.

Se dispone de numerosas referencias, con respecto a la influencia del riego refrescante por aspersión en la coloración de variedades del grupo 'Red Delicious', procedentes mayoritariamente de Estados Unidos; donde esta técnica es habitualmente utilizada en zonas de difícil coloración, con condiciones climáticas similares a las de la zona frutícola de Lleida.

Las primeras experiencias sobre los efectos de la aplicación de riego refrescante por aspersión, fueron realizadas por Kramer (1963) y Van Den Brink et al. (1965), y pusieron de manifiesto que se podía modificar beneficiósamente el microclima de la plantación, aplicandolo en las horas críticas cuando se alcanzaban las temperaturas máximas. Posteriormente Lombard et al. (1966), aplicaron el mismo riego de forma continua en las horas críticas y lograron reducciones en la temperatura del fruto de 3,1°C, y de 5,4°C en la temperatura del aire a la sombra; aplicando el riego de forma cíclica a partir de una temperatura máxima determinada observaron una menor disminución de la temperatura. Gilbert et al. (1970) utilizaron el riego de forma cíclica durante los períodos de máximo estrés (máxima temperatura), para reducir la temperatura del fruto entre 3,1 y 6°C, la humedad relativa ambiental se incrementó entre el 10 y el 30%.

En otras experiencias (Williams et al., 1989; Evans, 1993a; Williams, 1993; Andrews, 1995; Warner, 1995b), se aplicó el riego refrescante en variedades 'Delicious' de forma cíclica, tanto en el período de máximas temperaturas como al amanecer y anochecer, consiguiéndose una disminución importante de las temperaturas; en todos los casos, se incrementó la coloración de los frutos y frecuentemente su calibre. Williams (1989;1993) y Warner (1995b,d), evaluaron el efecto del riego por aspersión en las variedades 'Ryanared' y 'Red Chief', aplicándose de forma cíclica a partir de principios de agosto y cuando la temperatura del fruto sobrepasaba los 32,2°C; el riego proporcionó una mejor coloración, un mayor contenido de sólidos solubles y una mayor acidez.

Experiencias realizadas en el Sureste de Francia con las variedades 'Starkrimson' (Ferré et al., 1988) y 'Mondial Gala' (Bru, 1995), indican una mejora del color con la aplicación del riego por microaspersión y por aspersión, respectivamente.

En la zona frutícola de Lleida, se dispone de poca información sobre el efecto del riego

refrescante en el color de los frutos. En experiencias donde se aplicó el riego refrescante por aspersión de forma continua durante 2 horas diarias, y en el período de máximo estrés, se mejoró la coloración de la variedad 'Starking Delicious' (Recasens et al., 1981). En otras experiencias con las variedades 'Starking Delicious' y 'Jonee', el riego refrescante por aspersión, aplicado de forma cíclica en el momento de máximas temperaturas, proporcionó una mejor coloración, incrementando el peso y el contenido de azúcares solubles de los frutos (Recasens, 1982; Recasens et al., 1988).

Las posibilidades de aplicación de esta técnica dependen, en gran medida, de la inversión necesaria para la instalación del riego por aspersión. Sin embargo, dado que en muchas zonas afectadas por heladas primaverales ya se dispone de riego por aspersión antihelada, la utilización de dicho sistema para la mejora del color es de interés, dado que no supone ninguna inversión adicional, más bien al contrario, permite una más rápida amortización, si efectivamente posibilita una mejora del color de los frutos.

En el presente trabajo, se pretende conocer la respuesta de cuatro variedades del grupo 'Red Delicious' y una variedad bicolor ('Mondial Gala'), situadas en diversas localidades de la zona frutícola de Lleida, a la aplicación del riego refrescante por aspersión en diferentes momentos del día. La influencia en el color es el aspecto de mayor interés, aunque también se ha estudido el efecto sobre los parámetros de calidad del fruto. Al igual que en las experiencias realizadas con variedades (Capítulo II), el efecto de los diferentes tratamientos de riego, se ha evaluado realizando la medida del color con un colorímetro y determinando el contenido de antocianos de la piel del fruto.

# II. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 1.- MATERIAL

#### 1.1.-Variedades

Los ensayos de riego refrescante se realizaron con las siguientes combinaciones variedad/patrón: 'Early Red One'/'MM-106', 'Oregón Spur'/'MM-111', 'Starking Delicious'/'M-7', 'Topred Delicious'/'M-7' y 'Mondial Gala'/'M-26'. Dichas variedades pueden clasificarse en los siguientes grupos:

## \* Grupo 'Red Delicious':

- ⇒Subgrupo estándar: 'Early Red One', 'Topred Delicious' y 'Starking Delicious'.
- ⇒Subgrupo *spur*: 'Oregón Spur'.

#### \* Grupo 'bicolores':

⇒'Mondial Gala'.

La fecha de recolección se realizó entre los 135 y 145 días después de la plena floración (5-14 de septiembre) para las variedades *'Red Delicious'*; y entre 110 y 120 días para la variedad *'Mondial Gala'* (6-14 de agosto).

A continuación, se realiza una descripción de las principales características de dichas variedades; para obtener una información más detallada, puede consultarse la numerosa información disponible de las mismas (Le Lezec et al., 1983; Masseron, 1986; Plotto, 1988; Le Lezec, 1990; Van Laer, 1990; Walsh, 1990; Iglesias, 1991a,b; White, 1991; Sttebins, 1992; Trillot et al., 1993; Bru, 1995).

<u>'Early Red One'(Erovan</u>), (Malus domestica Borkh.), mutación de 'Red King Delicious', descubierta en 1966 por A.M. Ward en Wenatchee (EE.UU.). A pesar de clasificarse como estándar es una variedad de poco vigor y con un alto potencial productivo. Frutos de buena coloración, de tipo uniforme, aparece precozmente; color homogeneo en el conjunto del árbol, por lo que la recolección puede realizarse en una sola pasada, incluso en zonas poco favorables a la caloración. Calibre medio y homogeneo.

<u>'Topred Delicious'</u> (Malus domestica Borkh.), mutación de 'Shotwell Delicious' obtenida en 1954 en Wenatchee (EE.UU.). Variedad estándar, árbol vigoroso, con patrones débiles buena producción. Fruto de color rojo estriado; a pesar de que la coloración es mejor que 'Starking Delicious', en años calurosos la falta de color conlleva a que sean precisas más de una pasada de recolección. Calibre medio-grande; buena calidad gustativa, similar a 'Starking Delicious'.

<u>'Starking Delicious'</u> (Malus domestica Borkh.), procede de una mutación de 'Red Delicious' descubierta en 1921 en Estados Unidos. Variedad estándar, vigorosa, producción no siempre satisfactoria. Buena calidad gustativa. Principal problema en zonas calurosas la falta de color, lo que obliga a realizar varias pasadas de recolección, predisponiendo al fruto a la harinosidad lo que deprecia fuertemente su valor comercial. En clara regresión en todas las zonas frutícolas, especialmente en las de difícil coloración.

'Oregón Spur'(Trumdor), (Malus domestica Borkh.), mutación de 'Red King Delicious', descubierta por M. Trumbull en 1966 (Oregón, EE.UU.). Variedad spur de vigor medio (superior a 'Redchief'), requiere patrones vigorosos, buena productividad. Color del fruto uniforme con ligeras estrías, bastante homogeneo (excepcionalmente puede requerir 2 pasadas de recolección), lo que supone una notable mejora con respecto a 'Topred Delicious'. 'Mondial Gala' (Mitchgla), Malus domestica orkh.), mutación de 'Gala' Kidd's Orange Red' 'Golden Delicious'), descubierta en Nueva Zelanda por D. Mitchell en 1978. Variedad de verano de vigor similar a 'Golden Delicious' y de elevada productividad; fruto de calibre medio (65-75mm), bastante homogeneo, y de excelente calidad gustativa. La obtención de frutos con una coloración adecuada (>70% de la superficie del fruto) y calibre suficiente, son imprescindibles para un óptimo valor comercial. A pesar de ser un mutante de mejor color que 'Royal Gala', la coloración es irregular, por lo que también requiere varias pasadas de recolección, constituyendo éste su principal problema en zonas cálidas.

#### 1.2.- Patrones

Los patrones utilizados, fueron seleccionados en la estación inglesa de East Malling, y son en orden de vigor creciente 'M-26', 'M-7', 'MM-106' y 'MM-111'. Sus principales características se resumen a continuación:

El 'M-26' es un patrón débil, de vigor ligeramente superior al 'EM-9' y pertenece a la serie Malling (M). Induce una buena productividad. Medianamente sensible a *Phythoptora*.

El 'M-7', es de vigor superior al 'M-26', pertenece a la serie East Malling (EM). Utilizado en plantaciones semiintensivas. Sensible a la emisión de rebrotes. Calibre inferior al 'MM-106'.

El 'MM-106', confiere un vigor próximo al 'M-7' y pertenece a la serie Malling Merton (MM); sensible a *Phythoptora*.

Confiere una buena productividad, un buen calibre (inferior al 'M-9') y una rápida entrada en producción.

'MM-111', vigor superior al 'MM-106', por lo que se ha utilizado ampliamente para variedades spur a las que confiere un buen vigor y productividad. Sensible a la emisión de

burknots y rebrotes, en especial si el punto de injerto se sitúa a demasiada altura del suelo.

Diversas publicaciones contienen información complementaria sobre las características de dichos patrones (Ferree et al., 1987; Felipe, 1989; Masseron et al., 1989; Barrit et al., 1993; Iglesias, 1994b).

#### 1.3.- Características de las fincas

Las variedades de manzana utilizadas en el presente trabajo, procedían de fincas comerciales situadas en los términos municipales de Juneda, Torrefarrera, Mollerussa y El Poal. Los años en que se realizaron los ensayos, así como las correspondientes variedades fueron:

⇒Juneda: 1992, 1993 y 1994. Variedades 'Early Red One', 'Oregón Spur'.

⇒Torrefarrera: 1993 y 1994. Variedad 'Topred Delicious'.

⇒Mollerussa: 1993 y 1994. Variedad 'Starking Delicious'.

⇒El Poal: 1993 y 1994. Variedad 'Mondial Gala'.

## 1.3.1 -<u>Situación</u>

Las fincas donde se llevaron a cabo los ensayos se encontraban situadas en la zona frutícola de Lleida, próximas a la capital; concretamente en los términos municipales de Juneda, Torrefarrera, Mollerussa y El Poal, tal y como puede observarse en la *Figura 1-11*. La altitud sobre el nivel del mar de estas localidades es: Juneda (264 m), Torrefarrera (214 m), Mollerussa (250 m), El Poal (216 m).

Atendiendo al "Mapa Agroclimàtic de la Zona Fruitera de Lleida" (Iglesias et al., 1992), la finca situada en Juneda corresponde a la Zona 4b (Unidad del Mapa E<sub>2</sub>), la situada en Torrefarrera a la Zona-5 (Unidad G<sub>3</sub>) y las de Mollerussa y El Poal a la Zona-6 (Unidad H<sub>2</sub>). Por tanto, la primera de las fincas corresponde a la zona media, de recolección unos 8 días posterior a la zona más temprana, siendo la finca de Torrefarrera similar a ésta en cuanto a la zona climática. Las fincas de El Poal y Mollerussa, corresponden a la zona tardía de recolección 13 días posterior con respecto a la zona temprana. Desde el punto de vista climático y de aptitud para el cultivo frutal, las 4 fincas presentan características similares, y no son previsibles limitaciones importantes para su cultivo, desde el punto de vista edafológico. Destacar que en las zonas mencionadas, Zona 5 y especialmente la Zona-6, el riesgo de heladas es medio-alto y puede afectar especialmente a las variedades del grupo '*Red Delicious*'.

Figura 1-11

### 1.3.2 -<u>Suelo</u>

Con el objeto de evaluar las características del suelo y su aptitud para el cultivo del manzano, se realizaron análisis de las fincas donde se llevaron a cabo las experiencias, tomando las muestras de 0 a 30 cm de profundidad. Los resultados obtenidos se exponen en el <u>Cuadro 8</u>,(tabla 1-8), y corresponden a las características típicas de los suelos de la zona frutícola de Lleida.

Finca	pH(1:2,5)	C.E a 25°C(dS	M. Orgánica	Fosforo	Potasio	Caliza activa	Textura
		/m)	(%)	(P)ppm	(K)ppm	(%)	(USDA)
Juneda	8,2	0,28	1,8	18	143	9,9	Franco-limosa
Torrefarr	8,3	0,21	3,1	25	138	7,2	Franco-limosa
era							
Molleruss	8,1	0,37	2,2	38	233	11,1	Frarcilimosa
a							
El Poal	7,9	0,25	1,8	61,5	159	6,5	Frarearcillos
							a

Cuadro 8: Resultados analíticos de los análisis de suelo de las diferentes fincas.

No se observan diferencias importantes en las características de los suelos de las diferentes fincas; los pH son moderadamente básicos, la conductividad eléctrica presenta valores normales en dichas zonas. Los contenidos en materia orgánica son bajos y los niveles de fosforo y potasio son normales, excepto para las fincas de Mollerussa y El Poal, que presentan niveles elevados de fosforo. Los porcentages de caliza activa no constituyen un factor limitante para el cultivo del manzano, solamente en la parcela de Mollerussa es preciso aplicar ocasionalmente quelatos de hierro; las clases texturales son adecuadas para el desarrollo de los diferentes patrones utilizados.

#### 1.4.- Características climáticas

A continuación se exponen las principales características climáticas correspondientes a la zona en cuestión; los datos proceden de los Observatorios Meteorológico de Lleida y de Mollerussa.

#### 1.4.1. – Temperatura

Las temperaturas mínimas en el período de floración no afectaron a las producciones, dado que se disponía en todas las fincas de riego por aspersión para la protección antihelada; solamente en 1994, en las fincas de Torrefarrera y Juneda, se produjeron heladas con temperaturas de entre -2°C y -4°C.

Sin embargo, las temperaturas estivales constituyen el factor climático de mayor interés, debido a su influencia en la síntesis de antocianos. Es por ello, que el seguimiento de las temperaturas correspondientes a las diferentes parcelas y años en los cuales se realizaron los ensayos, se realizó con la colocación de termohigrógrafos en las diferentes parcelas y durante el período en que se aplicaron los riegos refrescantes.

En las *Figuras 1-12* y *1-13* se reflejan las temperaturas máximas y mínimas, correspondientes al período 1 de agosto-15 de septiembre, de los tres años en que se realizaron las experiencias. Las temperaturas máximas se aproximaron a los 40°C y se dieron en el més de julio. En el período estudiado se observan diferencias importantes entre años, siendo el año 1994 el más caluroso, al darse las temperaturas máximas más elevadas.

Figura 1-12 Figura 1-13

En el año 1993 se dieron las temperaturas mínimas diarias más bajas de los tres años, especialmente en el período previo a la recolección de las variedades del grupo 'Red Delicious' (final de agosto principios de septiembre). La temperatura mínima correspondiente

al mes de agosto se dió en 1993 (8,6°C), y la del mes de septiembre correspondió también a 1993 (7,2°C).

En base a lo expuesto, se deduce que las temperaturas de 1992 y en especial las de 1994, corresponden a las propias de climas calurosos, con elevadas temperaturas estivales, tanto máximas como mínimas. Para el año 1993, las temperaturas mínimas a partir de mediados de agosto fueron anormalmente frescas.

#### 1.4.2. -Pluviometría e higrometría

Las pluviometrías anuales registradas durante los años 1992, 1993 y 1994, fueron en el Observatorio de Lleida de: 517 mm (1992), 272 mm (1993) y 323 mm (1994); mientras que para el Observatorio de Mollerussa: fueron 435, 360 y 461 mm, respectivamente; por lo que se trata de bajas pluviometrías anuales, típicas de zonas secas y calurosas.

Sin embargo en el presente trabajo, más que el efecto de la pluviometría en la aportación hídrica a las plantaciones, es de interés considerar su efecto indirecto en la modificación de las condiciones ambientales, en especial la temperatura; dado que la presencia de lluvias o tormentas de verano suele ir asociado a un refrescamiento de las temperaturas, con el consecuente efecto en la síntesis de antocianos. A pesar de ello, y como puede observarse en el *Cuadro 9*, (tabla 1-9) los meses de julio y agosto fueron los más secos, con precipitaciones practicamente despreciables y muy irregulares. El més de junio, a excepción del año 1992, fué tan seco como julio y agosto.

La humedad relativa mínima correspondió a los meses de junio, julio y agosto, y se dió cuando las temperaturas fueron máximas; hacia finales de agosto-principios de septiembre con la disminución de temperaturas, la humedad relativa tendió a incrementarse todos los años, especialmente en 1993.

Año	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Total
1992	32,3	124,9	87,8	4,6	14,2	113,0	377
1993	52,3	32,5	4,2	0	1,9	54,4	145
1994	12,4	37,4	0	2,1	3,9	119,3	175
Media	32,3	64,9	30,6	6,7	2,2	95,6	

**Cuadro 9:** Precipitación mensual correspondiente a los años 1992, 1993 y 1994, durante el período abril - septiembre.

Observatorio de Lleida.

# 1.4.3 -Seguimiento de las temperaturas y de la humedad relativa ambiental

Se disponía de las temperaturas diarias máximas y mínimas correspondientes al período junio-septiembre de los años 1992, 1993 y 1994. Sin embargo, estas temperaturas no aportaban información suficiente para alcanzar los objetivos del presente trabajo, dado que se pretendía conocer las modificaciones de la temperatura -y consecuentemente de la humedaden el seno de la plantación, por la aplicación de diferentes estrategias de riego refrescante.

Fué por ello, que el seguimiento se efectuó en base a la instalación de <u>termohigrógrafos</u> en cada una de las zonas donde se aplicaron los diferentes riegos y para el testigo. Los termohigrógrafos utilizados eran *Jules Richard Instruments Tipo 6500*, previamente calibrados en condiciones de temperatura y humedad controladas. Las bandas se cambiaban semanalmente y tenían un rango de temperaturas de 20 a 40°C y de humedad relativa de 16 a

100%. Los termohigrógrafos se colocaron a una altura de 60 cm del nivel del suelo, junto a los árboles que serían muestreados, y en un contenedor de madera tipo jaula que permitiera el paso del aire. La instalación se realizó justo antes de iniciarse los riegos, manteniendose hasta una semana después de finalizada la recolección. Se dejó el espacio suficiente entre zonas correspondientes a diferentes riegos, para que el efecto de vecindad no afectara a parcelas correspondientes a tratamientos diferentes. Para ello, se comprobó que al regar una parcela, las lecturas registradas por los termohigrógrafos de las parcelas conlindantes no se veían afectadas.

Se utilizó también un <u>termómetro digital</u> con sonda de contacto para conocer el efecto del riego en la temperatura interna del fruto; se realizaron periódicamente determinaciones para los diferentes tratamientos, en el preciso momento de finalizar del riego, y referidas siempre al testigo sin regar. Para ello, se utilizó un termómetro digital *Crison* con sonda de contacto, que se introducía hasta el corazón del fruto y después de un corto período de estabilización, proporcionaba la temperatura del fruto.

#### 1.5.- Características de las plantaciones

El material vegetal utilizado para la plantación procedía de viveros comerciales de la zona. Las principales características de las fincas donde se se realizaron los ensayos figuran en el <u>Cuadro 10</u>. (tabla 1-10) La edad de las plantaciones, en el momento de iniciarse las experiencias, oscilaba entre los 5 y los 22 años. El hecho de que en las plantaciones más jovenes se utilizará sistemas de formación como el fuseto o el pal-spindle, hizo que ya en el quinto verde se encontraran en plena producción.

Finca	Variedad/Patrón	Año de plantación	Marco de plantación	Sistema de formación	Superficie y Riego	Protección antihelada
Juneda	Oregón Spur/ MM-111 Early Red One/ MM-106	1988	4 x 1,7m	Pal-spindle	1,7 haManta	Aspersión
Torrefarr era	TopredDelicious/ M- 7	1987	3,8 x 2,4m	Palmeta	2,8 haManta	Aspersión
Mollerus sa	Starking Deficious/ M- 7	1971	4 x 2,5m	Palmeta	2,1 haManta	Aspersión
Fl Poal	Mondial GalaIM-26	1988	4 x 1,4m	Fuseto	3,6 haGoteo	Aspersión

Cuadro 10: Principales características de las plantaciones de las fincas de ensayo.

Como variedad polinizadora se encontraba 'Golden Delicious'. El vigor de los árboles era el adecuado para las variedades, presentando un buen equilibrio vegetación-producción. En la variedades 'Topred Delicious' y 'Mondial Gala', se aplicó anualmente la poda en verde a principios de junio, para el control del vigor y para mejorar la penetración de la luz y la mejora del color. Las plantaciones presentaban un buena regularidad, lo que era deseable a la hora de plantear los diferentes ensayos.

Figura 1-14	Figura 1-15
Figura 1-16	Figura 1-17

# 1.6.- <u>Técnicas culturales</u>

Las técnicas de cultivo aplicadas en las diferentes fincas, han sido las habituales en las

explotaciones frutícolas de la zona; destacar los siguientes aspectos:

# 1.6.1. -Riego y riego refrescante

El sistema de riego utilizado en las fincas de Juneda, Torrefarrera y Mollerussa, fué a manta, mientras que en la finca de El Poal el riego era localizado mediante goteros dispuestos cada 70 cm y con un caudal nominal de 4 l/h. La dósis media de riego aportada en las diferentes fincas osciló entre los 800 y los 1.100 mm anuales; el aporte por el agua de lluvia en el período de máximas necesidades fué prácticamente despreciable. Los riegos se iniciaban en el mes de abril y finalizaban en septiembre; en las fincas con riego a manta el intérvalo medio entre riegos dependió del año y de la procedencia del agua (Canal d'Urgell para las fincas de Juneda, Mollerussa y El Poal, y Canal de Pinyana para la finca de Torrefarrera), y osciló entre 10 y 17 días.

En todas las fincas se disponía de riego por aspersión antihelada, circunstancia que se utilizó para aplicar el riego refrescante por aspersión para la mejora del color de las manzanas. En tres de las fincas (Juneda, Torrefarrera y El Poal), el agua de riego se almacenaba en un embalse situado en la misma finca y se utilizaba simultaneamente para el riego y para el riego refrescante. En la finca de Mollerussa, el agua para el riego por aspersión procedía de un pozo situado en la misma finca, por lo que la temperatura fué inferior.

Cuando se aplica el riego refrescante por aspersión, deben utilizarse aguas de buena calidad, para evitar la aparición de precipitados de carbonatos en hojas y especialmente en frutos, dado que podría disminuir el valor comercial de los mismos. Fué por ello, que en el mes de julio de 1993, se realizaron tres análisis correspodientes al agua que se utilizaría para riego refrescante. Los resultados obtenidos figuran en el <u>Cuadro 11</u>(ver tabla siguiente)

Finca	<del>-2 22</del> . 	Juneda El Poal	Torrefarrera	Mollerussa
Procedencia del agua		Canal d'Urgell	Canal de Pinyana	Pozo(zona Canal d'Urgell)
pН	4	8	7,8	8,1
C.E a 25°C	(dS/m)	0,6	0,5	0,4
Na <sup>+</sup>	(meq/l)	1,5	0,3	0,8
Ca ++	(meq/l)	3,2	1,4	2,7
Mg <sup>++</sup>	(meq/l)	2,5	0,27	4,4
$\frac{Mg^{++}}{Ca^{++} + Mg^{++}}$ $K^{+}$	(meq/l)	5,7	1,67	7,1
$\mathbf{K}^{+}$	(meq/l)	0,2	0,02	0,06
Cl	(meq/l)	0,9	0,2	0,7
SO <sub>4</sub> =	(meq/l)	4,0	0,4	inap.
CO <sub>3</sub>	(meq/l)	inap.	inap.	inap.
CO <sub>3</sub> H -	(meq/l)	2,7	1,4	inap.
$CO_3^- + CO_3H$	(meq/l)	2,7	1,4	inap.
SAR		0,9	0,27	0,42

Cuadro 11: Resultados análiticos del agua utilizada en el riego refrescante de las diferentes fincas.

En base a los análisis realizados, las aguas no presentaban ninguna limitación para el riego, tanto por lo que se refiere al riesgo de salinización como de alcalinización del suelo.

Con respecto a la utilización de las aguas para riego refrescante, Halvorson et al. (1975) establecieron el Indice de Deposición Potencial de Cal o "LDP" para evaluar el riesgo del agua de riego para producir precipitados, y es igual a la menor de las cantidades de Ca<sup>++</sup> o de  $(HCO_3^-+CO_3)$ , por lo que el valor más desfavorable del LDP = 2,7 < 3, no presentando por tanto limitaciones para su uso en riego refrescante. En los ensayos realizados no se ha observado ningún problema por deposiciones de carbonatos y/o silicatos en frutos.

#### 1.6.2. -Características del riego y material utilizado

El riego refrescante se aplicó en las 4 fincas y en las variedades expuestas en el <u>Cuadro</u> <u>12</u> (tabla 1-12), donde también se indican las estrategias de riego aplicadas y los años en que fueron evaluadas. La aplicación fué diaria y durante un período ininterrumpido de 2 horas, a partir de las 4 a 6 semanas antes de la recolección y hasta la misma; en variedades donde se realizaron varias pasadas de recolección, se aplicó también después de las primera pasada. Excepto en la finca de El Poal en la que el sistema de arranque y paro se automatizó, gracias a la instalación de un programador de riego, en el resto de las fincas el accionamiento y paro del sistema riego refrescante, se realizaba manualmente.

Para el riego refrescante, se utilizaron los mismos aspersores que en la protección antihelada, situados a 4,2 m del nivel del suelo. En las fincas de Mollerussa y El Poal el marco era de 18 x 16 m, el alcance de 15,2 m y el caudal por aspersor de 1.350 l/h a una presión nominal de 3,8 atmósferas, por lo que la pluviometría efectiva fué de 4,5 a 5 mm/m²-h. El modelo de aspersor utilizado fué el "Rain-Bird" con capuchón de protección negro y una salida de Ø 4,36 mm. En las fincas de Juneda y Torrefarrera el marco de los aspersores era de 18 x 18 m, alcance 16 m y caudal por aspersor de 1.300 l/h a una presión nominal de 3,2 atmósferas, por lo que la pluviometría efectiva fué de 4 mm/m²-h. Se utilizó el modelo de aspersor "Vir-35" con capuchón de protección rojo y una salida de Ø 4,4 mm.

Finca	Variedades	Años de	Aspersores:	Estrategias	Duración	Frecuencia	Inicio	
		ensayo	pluviometría	de riego	riego	riego	riego	
	Oregón Spur	1992	~W/	15 -17 h				
Juneda	Early R. One	1993	4 l/m <sup>2</sup> -h	21 - 23h	2 horas	Diaria	25-40 días	
		1994		Testigo				
				15 - 17 h				
Torrefarr	Topred	1993	$4 l/m^{2}-h$	21 - 23h	2 horas	Diaria	antes de la	
era	_	1994		6-8 h				
				(1994)				
				Testigo				
		1993		15 - 17 h			Recolección	
El Poal	M Gala	1994	$4.5 \text{ l/m}^2 - \text{h}$	21 - 23h	2 horas	Diaria	*	
				Testigo				
Molleru	Starking.	1993	5 l/m <sup>2</sup> -h	Aspersión			Mediados	
ssa								
		1994		Manta	8 horas	7 días	junio	

*Cuadro 12:* Características de las diferentes estrategias de aplicación del riego refrescante y de la aplicación de dos sistemas de riego.

<sup>(\*)</sup> Excepto en 1992 que en la finca de Juneda se iniciaron los riegos a final de julio.

## 1.6.3. - Fertilización y mantenimiento del suelo

Todas las fincas se encontraban en la fase de plena producción; las producciones obtenidas oscilaron entre los 35.000 y los 55.000 kg/ha, según variedades y años. La mayor producción correspondió al año 1992. El abonado se aplicó de forma localizada mediante reja, realizando dos aportaciones: la primera a mediados de marzo (se aportó el 80% de la dosis de nitrógeno y potasio y el 100% del fosforo), el resto se aplicó a finales de mayo. Las aportaciones medias anuales de fertilizantes se situaron entre los siguientes intérvalos: N = 110-140 U.F./ha;  $P_2 O_5 = 20-60 \text{ U.F./ha}$ ;  $K_2 O = 120-160 \text{ U.F./ha}$ . En la finca de El Poal, con riego localizado, tanto los fertilizantes como los correctores de carencias se aplicaron por el sistema de fertirrigación.

En todas las fincas, el sistema de mantenimiento del suelo combinaba la aplicación de herbicidas en las hileras de los árboles, en una banda de 1,4 m; con el mantenimiento de una capa herbosa (natural o sembrada) en las interlíneas. Como herbicidas se aplicó una combinación de residuales + contacto a la salida del invierno, y una segunda aplicación de un herbicida residual en octubre-noviembre.

## 1.6.4. -Tratamientos fitosanitarios y hormonales

Los tratamientos fitosanitarios realizados fueron los habituales para la zona, aplicando en todas las fincas los criterios utilizados en producción integrada. Se realizaron dos tratamientos con productos cúpricos a la caída de la hoja. Durante el período de aplicación del riego refrescante y debido al incremento de la humedad y al mayor riesgo de aparición de moteado, se realizaron tratamientos con fúngicidas de contacto con una periodicidad de 10 días. Con respecto a las plagas fueron necesarios anualmente entre 1 y 3 tratamientos contra la araña roja, entre 2 y 4 para el pulgón, y 2 o 3 contra carpocapsa.

Como es obvio, en ninguna de las fincas se realizó tratamiento alguno con reguladores de crecimiento para la mejora del color de los frutos.

# 2.- MÉTODOS

#### 2.1.- Metodología de trabajo

#### 2.1.1. -Plan de trabajo

Para la consecución de los objetivos fijados en el presente trabajo, y en base a los medios disponibles descritos en el apartado de "Material", se procedió a la realización metodológica del trabajo, subdividiendolo en una serie de experiencias que se han realizado en diversos años. El orden cronológico de los experimentos, se planificó con la finalidad de obtener, sucesivamente, datos útiles para la planificación de las siguientes experiencias y datos suplementarios que sirvieran para contrastar los resultados de las anteriores campañas.

Dado que el número de experiencias realizadas en el presente trabajo es elevado, y para disponer de una visión global, en el <u>Cuadro 13</u> (tabla 1-13) se recogen cronológicamente, indicando para cada experiencia su localización, los años que se realizaron, las variedades utilizadas y las estrategias de riego evaluadas.

Objetivo	Variedades y estrategias de riego	Año	Localización
_	aplicadas		
	1 Variedades 'Early Red One' y	1992	Juneda
	'Oregón Spur'		
Evaluación de	RIEGO: Noche, Mediodía, Testigo	1993	
estrategias de	_	1994	
riego	2 Variedad 'Topred Delicious'	1993	Torrefarrera
refrescante	_		
por aspersión	RIEGO: Noche, Mediodía, Testigo.	1994	
	Amanecer (1994)		
a diferentes	3 Variedad 'Mondial Gala'	1993	El Poal
horas del día	RIEGO: Noche, Mediodía, Testigo	1994	
Comparación	4 Variedad 'Starking Delicious'	1993	Mollerussa
de dos	_		
sistemas de	RIEGO: Manta, Aspersión	1994	
nego	_		

Cuadro 13: Resurnen de las experiencias de riego realizadas realizadas.

Con el objeto de disponer de forma esquematizada las determinaciones realizadas en las diferentes experiencias (contenido de antocianos, colorimetría, parámetros de calidad del fruto, actividad enzimática de la fenilalanina amonioliasa -PAL-, etc.), en el *Cuadro 14* (*figura 1-18*) se indica para cada una de las mismas <u>las fechas en que se realizaron los muestreos de prerecolección y recolección, así como las determinaciones realizadas en los mismos.</u>

### Figura 1-18

Los aspectos más importantes de las alternativas de riego por aspersión evaluadas, agrupadas por años, son los siguientes:

#### ⇒1992

Las experiencias de riego se iniciaron en 1992 en la finca de Juneda con las variedades 'Early Red One' y 'Oregón Spur', aplicando el riego en dos momentos horarios del día:

- \* Mediodía: aplicado de 15 a 17 h.
- \* Noche: aplicado al anochecer de 21 a 23 h.
- \* Testigo: sin aplicación de riego por aspersión.

Los riegos se iniciaron el día 30 de julio, es decir, 41 días antes de la recolección, y finalizaron en el momento de la recolección, aplicándose ininterrumpidamente durante dos horas diarias.

#### **⇒1993**

En 1993 se continuaron los ensayos en la finca de Juneda, iniciandose en las fincas de Torrefarrera y de el Poal. En todos los casos las estrategias de riego aplicadas fueron:

- \* Mediodía: aplicado de 15 a 17 h.
- \* Noche: aplicado al anochecer de 21 a 23 h.
- \* Testigo: sin aplicación de riego por aspersión.

Los riegos se iniciaron entre 25 y 30 días antes de la recolección.

En la finca de Mollerussa, donde se compararon dos sistemas de riego (aspersión y manta), se iniciaron a mediados de junio, debido a que el patrón utilizado fué el 'M-7' (buena capacidad de exploración del suelo), y que la capa freática estaba situada a poca profundidad.

El intérvalo del riego a manta fué de 12 a 14 días y del riego por aspersión 8 días.

#### ⇒1994

Se aplicaron las mismas estrategias de riego que la expuestas anteriormente para 1993. Solamente en la finca de Juneda se añadió la estrategia de riego al amanecer (de 6 a 8 h de la madrugada). En este caso, tanto la duración del riego como su inició, fueron las mismas que para las otras estrategias de riego.

#### 2.1.2. -Recogida de muestras

Las fechas de recogida de muestras correspondientes a los diferentes años y a las alternativas de riego evaluadas, figuran en el <u>Cuadro 14</u>. Con el objeto de conocer las variaciones de color, desde antes de iniciarse el riego por aspersión hasta la recolección, se realizaron de 3 a 4 muestreos en las fechas que se indican en el <u>Cuadro 14</u> (figura 1-18); dado que el <u>desarrollo del color se produce en la mayoría de variedades rojas de manzana a partir de los 20 días antes de la recolección</u> (Chalmers et al., 1973; Recasens, 1982), por lo que en la mayoría de experiencias el seguimiento del color y por tanto la toma de muestras se inició unos 25 o 30 días antes de la recolección.

Los muestreos se realizaron siguiendo una metodología, que permitiera que los frutos fueran lo más representativos posible del estado de la plantación. Para cada estrategia de riego evaluada y para cada fecha de muestreo previa a la recolección se tomaron 5 muestras (correspondientes a 5 árboles o repeticiones) de 7 frutos cada una, es decir, un total de 35 frutos. En el momento de la recolección y también para cada estrategia se tomaron 5 muestras de 14 frutos cada una, por lo que se dispuso de 70 frutos por tratamiento, escogidos al azar a una altura de entre 1 y 2 m, procediendo de las cuatro caras del árbol, tanto de la periferia como del interior del árbol. El efecto que pudiera tener la eliminación de varios frutos del árbol antes de la recolección, se ha considerado que tuvo poca influencia sobre el desarrollo de los frutos restantes al tratarse de muestras de pequeño tamaño y de árboles en plena producción (Fallahi et al., 1994). Por otra parte esta operación se realizó en todos los tratamientos.

La recogida de muestras se realizó a primeras horas de la mañana, para pasar posteriormente al laboratorio y realizar las determinaciones correspondientes. Los frutos cuando requerían más de un día para realizar las determinaciones, se conservaron en atmósfera normal a temperatura de 2°C.

Durante los años y las fechas indicadas en el <u>Cuadro 14</u>, se realizó el seguimiento y las determinaciones de los siguientes parámetros:

- ⇒Seguimiento del desarrollo del color de los frutos antes de la recolección y en la recolección mediante:
  - \* Colorímetro triestímulo.
  - \* Determinación cuantitativa del contenido de antocianos de la piel del fruto.
- ⇒ Seguimiento de la actividad enzimática de la PAL a lo largo del desarrollo del fruto, en las variedades 'Starking Delicious' (años 1993 y 1994) y 'Early Red One' (1993).
- ⇒Determinación de los parámetros de calidad del fruto en el momento de la recolección.
- ⇒Determinación de los porcentages de fruto recolectados en las diferentes pasadas de recolección, de las variedades 'Mondial Gala' y 'Topred Delicious' (años 1993 y 1994).

⇒Seguimiento de la temperatura y de la humedad relativa ambiental, donde se aplicaron las diferentes estrategias de riego.

En todas las experiencias realizadas, la primera recolección se realizó siempre antes de iniciarse la aplicación de las diferentes estrategias de riego por aspersión, por lo que fué el punto de partida común entre los diferentes tratamientos de riego. El proceso de toma de muestras para la determinación del contenido de antocianos, de los valores colorimétricos y de la actividad de la PAL (en los ensayos que se realizó), fué el mismo para todos los ensayos y se muestra de forma esquemática en las *Figuras 1-19* y *1-20*.

El árbol constituye la parcela elemental o repetición, disponiendo de 5 árboles por tratamiento de riego, tal y como se expone posteriormente en el apartado "Diseño experimental".

Figura 1-19 Figura 1-20

En las experiencias en las que se realizó el seguimiento de la actividad de la PAL (variedades 'Starking Delicious' y 'Early Red One'), su contenido se determinó como media de las dos caras del fruto y en los mismos frutos en los que se realizó la determinación del contenido de antocianos, con el objeto de poder estudiar la relación entre ambas variables. El método de obtención de las muestras se ha representado esquemáticamente en la Figura 1-20.

En las variedades 'Mondial Gala' y 'Topred Delicious', la recolección se realizó en 2 o 3 pasadas; la fecha en que se realizaron las recolecciónes fueron las mismas para los diferentes tratamientos de una misma variedad y se establecieron en base a los parámetros de calidad del fruto. La determinación del contenido de antocianos y de la colorimetría de los frutos, se realizó en la primera pasada de recolección. En 10 árboles (diferentes a los 5 que se muestrearon periódicamente) de cada tratamiento, y al igual que se realizó en el resto de la finca, se realizaron diferentes pasadas de recolección, estableciendo para ello los siguientes criterios comerciales: color del fruto más del 70% y calibre superior a 70 y 75 mm, para 'Mondial Gala' y 'Topred Delicious', respectivamente. En cada pasada se pesó la producción obtenida, por lo que al finalizar la recolección, se disponía de los porcentages correspondientes a cada pasada y de los acumulados por pasadas, metodología ésta utilizada por otros autores (Unrath, 1972b).

#### 2.2.- Medida del color de las manzanas

La evaluación instrumental objetiva del color de la piel de las manzanas, correspondientes a las diferentes estrategias de riego, constituye uno de los objetivos del presente trabajo; para ello se ha utilizado un colorímetro portatil Minolta Chroma Meter CR-200, que lleva incorporado el iluminante  $D_{65}$  con un ángulo de observación de  $2^{\circ}$ . El colorímetro previamente a la realización de las lecturas se calibró en condiciones del iluminante  $D_{65}$  con placa de porcelana tipo CR- $A_{43}$ , correspondiente al blanco estándar, de coordenadas colorimétricas  $L^*=97,91$ ;  $a^*=-0,38$ ;  $b^*=2,0$ .

El color se determinó en las diferentes fechas en que se realizaron los controles, tal y como se indica en el (<u>Cuadro 14</u>). En cada fecha y una vez recolectadas las manzanas, se determinó el color de las mismas en base al esquema representado en las *Figuras* <u>1-19</u> y <u>1-20</u>, realizando tres lecturas con el colorímetro en la zona ecuatorial de cada una de las dos caras del fruto y procurando que fuera representativa del color de las mismas (cara más roja y cara menos roja o verde). De la misma zona donde se midió el color, se extrajeron 2 discos de piel, para la determinación del contenido de antocianos de las dos caras del fruto; posteriormente se establecieron las relaciones entre los valores colorimétricos y el contenido

de antocianos, por lo que éra necesario que fueran ambas variables de la misma cara del fruto. Dicho procedimiento fué el utilizado durante los años 1993 y 1994. En 1992 y para conocer *in situ* la evolución del color de los mismos frutos en la plantación, se marcaron y periódicamente se determinó el color de los mismos en el árbol.

El colorímetro proporciona directamente el valor medio de las tres lecturas realizadas en cada cara del fruto. Numerosos trabajos publicados hacen referencia a la utilización de esta técnica para la medida del color en frutos (Francis, 1980; Polesello et al., 1980; Ferre et al., 1987; Aubert, 1990; Lichou et al., 1990; Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991a,b; 1994; McGuire, 1992; Lancaster et al., 1994; Agustí et al., 1995; Baugher et al., 1995; Ravaglia, 1996).

Antes de realizar la medición del color se procedió a la calibración del colorímetro, posteriormente se limpió la superficie del fruto con un paño húmedo para eliminar restos de polvo, suciedad o plaguicidas. Se aseguró también, un buen contacto del perímetro de la ventana del colorímetro con la superficie del fruto, para evitar perdidas en la luz reflejada y por tanto variaciones no deseadas en las lecturas.

Dicho instrumento posee una ventana de medición de 8 mm de diametro, con un ángulo de visión de 0° para poder dar medidas más amplias. Una bombilla de xenon emite una fuente de luz uniforme y difusa, cuyo espectro está compuesto por una mezcla de rojo, verde y azul, correspondiente al iluminante D<sub>65</sub>, que impacta sobre la superficie del fruto. Solamente la luz reflejada perpendicularmente a la superficie, es recogida por un cable de fibra óptica y transmitida a un analizador del color, compuesto por seis fotocélulas de alta sensibilidad, obteniéndose una información del color, similar a la que se obtendría comparándolo con los tres colores primarios (rojo, verde y azul).

El colorímetro proporciona el color en forma de un output digital de 3 coordenadas, que son los valores de cromaticidad del fruto y se expresan de forma triparámetrica con las variables X, Y, Z, propuestas por la Commission Internationale d'Eclairiage (C.I.E) en 1931; o bien, en forma de las coordenadas espaciales del color L\*, a\* y b\* que forman el sistema CIELAB (1976). Estas coordenadas, o las derivadas a partir de ellas, se relacionan más facilmente con la percepción visual del color y están aceptadas internacionalmente (Singha, 1991).

A partir los parámetros colorimétricos primarios proporcionados por el colorímetro, se cálculo, según la metodología expuesta en el apartado Introducción.- "Medida del color", el Tono, la Saturación, el vector espacial de cromaticidad (DE\*) y el ratio a\*/b\*, las cuales se han representado graficamente en la Figura 1-10. Por lo tanto, para cada cara de un mismo fruto de las diferentes fechas y tratamientos, se dispone de las coordenadas L\*, a\*, b\*, a partir de las cuales se han derivado: a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*.

#### 2.3.- Determinación del contenido de antociano

El principal pigmento responsable del color en variedades rojas de manzana es el cianidín 3-galactósido o idaeina; para su determinación cuantitativa se tomaron con un taladra tapones y de la zona ecuatorial del fruto donde se había medido el color, 2 discos de piel de la cara roja y otros 2 de la cara verde. La metodología seguida para la determinación de antocianos, en lo referido a las fechas (prerecolección y recolección) y al número de frutos por tratamiento en los cuales se determinaron, se ha expuesto en el <u>Cuadro 14</u> y en las *Figuras* 1-19 y 1-20.

Mediante un cuchillo, se separó toda la pulpa que había quedado adherida a la piel; los dos discos de cada cara se pusieron en maceración en viales tapados, con 5 ml de una

solución formada por metanol (ClH)-agua en una proporción 50:1:49 (v/v), durante 24 horas, a 4°C y en la oscuridad (Recasens, 1982). Una vez transcurrido dicho tiempo, los antocianos han pasado a la solución, que se colorea con mayor o menor intensidad según el contenido de antocianos extraidos.

La determinación cuantitativa de los antocianos, se realizó midiendo la absorbancia de la solución a 532 nm, mediante un espectofotómetro ultravioleta visible (UV-VIS). Antes de proceder a la lectura de la absorbancia se realiza una prueba en blanco, a la cual se le hace corresponder el cero de la solución extractante, tal que las posteriores lecturas de antocianos serán referenciadas a la lectura de la solución. El blanco se realiza periódicamente debido a que el aparato se desquilibra con facilidad.

Una vez conocida la absorbancia, la determinación cuantitativa de los mismos se realiza en base a la siguiente expresión:

Abs 5 1  
----- 
$$X ---- X --- X 10^9 = nmoles/cm^2$$
  
3,43 $\chi$ 10<sup>4</sup> 1000 S

donde:

Abs: absorbancia proporcionada por el espectofotómetro.

3,43 x 10<sup>4</sup>: coeficiente de extinción molar del cianidín 3-galactósido.

5 ml: volumen de solución extractante.

1/1000: factor para trabajar con las mismas unidades de volumen.

S: superficie de los 2 discos de piel en cm<sup>2</sup>.

10<sup>9</sup>: factor de conversión de moles a nmoles.

# 2.4.- Análisis de la actividad enzimática de la fenilalanina amonioliasa (PAL)

Las enzimas son moléculas delicadas, que pierden con facilidad su estructura nativa y por tanto su estabilidad catalítica; el pH y la temperatura pueden afectar a la reacción, a la estructura y a la estabilidad del sustrato y, consecuentemente, a la estabilidad de la enzima y a la actividad catalítica de la misma, por lo que deben tomarse las precauciones debidas. Para determinar la actividad enzimática de la PAL, se siguió el procedimiento descrito por Cheng et al. (1991), realizando ligeras modificaciones.

### 2.4.1. -Condiciones y preparación de las muestras

Experiencias reaalizadas por diversos autores (Faragher, 1977b; Tan, 1979; Arakawa, 1986; Blankenship, 1988), muestran la sensibilidad de la PAL a la luz, la temperatura, las heridas, etc.; es por ello, que su procesado se desarrolla en las siguientes condiciones:

- 1) Los frutos, de los cuales se determina la actividad de la PAL, deben estar libres de heridas y defectos (Faragher, 1977b) y se recolectaran temprano por la mañana para evitar el calentamiento de los mismos en el transporte. De cada uno de los árboles de cada tratamiento se eligen 3 frutos de los 7 o 14 que constituyen la muestra. De cada fruto y de las 2 caras se determina la colorimetría, el contenido de antocianos, y de la misma zona se extrae la piel finamente, separándola de la pulpa y sin ocasionar heridas, para la determinación posterior de la PAL. En las *Figuras* 1-19 y 1-20 se expone el proceso seguido para realizar las determinaciones.
- 2) La obtención de la piel de la manzana, de la que se determinará la actividad enzimática de la PAL, debe realizarse después de haberse extraido los discos de piel para la

cuantificación de los antocianos (2-3 horas después de su recolección).

3) La piel se congela en nitrogeno líquido inmediatamente después de, separarla de la pulpa, y a continuación se introduce en congelador a -30°C; el trabajo de extracción tiene lugar en cámara a 1°C; evitando en todo momento su exposición a la luz directa. El mantenimiento del pH = 8,8, se consigue mediante la aplicación de sales tamponadas.

### 2.4.2. - Determinación de la actividad enzimática de la PAL

Las etapas seguidas para determinar la actividad enzimatica de este enzima han sido:

#### \* Preparación de tampones

La función de los tampones es solubilizar las proteinas en medio acuoso, así como mantener y estabilizar el pH de la solución a 8,8. Los tampones (A y B) constan de tetraborato sódico, cuya función es mantener el pH fijado, y de mercaptoetanol (Tampón B) que actua como protector enzimático.

# \* Purificación enzimática

Para poder caracterizar un enzima previamente se ha de purificar, dado que éstas se encuentran en la naturaleza formando mezclas muy complejas. La purificación se basa en la aplicación de una serie de métodos, que permitan separar los enzimas que están presentes en la mezcla, en función de sus propiedades físicas.

La purificación se divide en 4 fases:

- 1) Extracción: para lo cual de cada muestra se cogen aproximádamente unos 4 g de piel de manzana, los cuales se trituran con la ayuda de nitrógeno líquido hasta obtener un polvo blanquecino o ligeramente coloreado; con lo que se consigue romper las paredes y membranas celulares, extrayéndose los enzimas intramoleculares.
- 2)Solubilización y extracción de impurezas: Se realiza añadiendo el Polivinilpirrolidone (PVP-40, Sigma), en una cantidad del 10% del peso fresco de la muestra, se homogeneiza al máximo posible y se solubiliza con 10 ml de tetraborato sódico 100 mM, pH 8,8, mercaptoetanol 5 mM y EDTA 2 mM (tampón A); agitando se obtiene una masa pastosa y homogenea que se congela por la adición de nitrogeno líquido (-160°C), posteriormente se irá licuando, evitando en todo momento su exposición a la luz.

El PVP es un policatión que se une principalmente a los fenoles, y también a los ácidos nucleicos y a las membranas más pequeñas del extracto, impidiendo su acción degradativa o inhibidora sobre las enzimas. Como resultado de la unión se obtiene un precipitado que se separa en la próxima centrifugación.

Una vez el extracto celular se encuentra en estado líquido se filtra se vierte en 8 tubos tubos de centrífuga "ependorlf", de 1 ml cada uno y se centrífuga durante 10 minutos a 17.000 rpm a temperatura de 1°C. Se produce la precitación de los fenoles, de las membranas y del resto de estructuras celulares con el PVP, recuperando y midiendo el sobrenadante.

3) <u>Fraccionamiento de las partículas por precipitación selectiva mediante la adición de sales:</u> Cuando se añaden altas concentraciones de sal a soluciones de proteína, los iones de la sal acaparan las moléculas de agua para solvatarse, por lo que las moléculas de proteína no pueden interaccionar con las de agua, se agregan y precipitan.

Al extracto enzimático se añade dos veces sulfato amónico, al 30% y al 80% de saturación, de manera que en la primera adición precipitan los compuestos contaminantes (principalmente pectinas), y en la segunda las proteinas deseadas. Después de añadir el sulfato al 30%, el extracto se agita y se divide en 8 tubos de centrifuga "ependorlf", los cuales

se equilibran y se centrifugan durante 10 minutos a 17.000 rpm. A continuación, se añade al sobrenadante sulfato amónico al 80%, repitiendo el proceso descrito anteriormente; una vez centrifugado se recupera el precipitado (que son los enzimas purificados), al cual se añade 2,5 ml de borato de sodio 50 mM, pH 8,8 (tampón B).

4) <u>Purificación del extracto enzimático por filtración molecular:</u> El sulfato amónico añadido para provocar la precipitación selectiva inhibe la acción de la actividad enzimática, para evitarlo, se hace pasar el extracto a traves de una columna de sephadex G-25 (PD10 - Pharmacia Ltd).

## \* Reacción enzimática

Se preparan 6 tubos de ensayo, en los que se pone 1 ml de tampón B y 1 ml de extracto enzimático purificado; se agita y se ponen durante 10 minutos a 35°C en la oscuridad, tiempo necesario para llegar a la temperatura óptima de actuación enzimática. Posteriormente, se añade a los tubos de ensayo L-fenilalanina 33 mol, y a los blanco 1 ml de tampón B; se agitan los tubos de ensayo, se tapan y se ponen durante 1 hora a 35°C a la oscuridad, tiempo durante el cual tiene lugar la reacción, produciéndose cinamato. La actividad de la PAL se determina por la producción de este compuesto; al cabo de una hora se detiene la reacción aplicando 0,1 ml de ClH 6 N, y seguidamente se agitan.

A continuación se realizan las lecturas, previamente habiendo ajustado a cero la lectura de los tubos en "blanco", con un espectofotómetro UV/VIS. La cubeta utilizada para las lecturas es de cuarzo, de 1 cm de paso de luz y se realiza a 290 nm (Faragher et al., 1977). La lectura se realiza en terminos de absorbancia, la cual se convierte a la unidad actual de actividad enzimática que es el "kat", o cantidad de de enzima necesario para la formación de un mol de producto/segundo según las condiciones de ensayo en que se trabaje (Cheng et al., 1991; Guiwen et al., 1991).

Obtenido el valor de la absorbancia, la actividad enzimática vendrá dada por la siguiente expresión:

 $10^9$  = nkat/kg peso fresco

donde:

Abs: absorbancia proporcionada por el espectofotómetro.

17400: coeficiente de extinción molar del ácido transcinámico (mol/l).

3,1 ml: volumen total de la cubeta = 1ml de extracto enzimático + 1ml de tampón B + 1ml de fenilalanina + 0,1 ml de ClH 6N en la cubeta de ensayo. En el blanco la fenilalanina es substituida por el tampón B.

7 ml: cantidad total de extracto enzimático recogida.

4 g: peso de la muestra en gramos.

(1h/3600s): factor de conversión para expresarlo en segundos.

(1000 g/kg): factor de conversión para expresarlo en kg.

10<sup>9</sup>: factor para expresar el resultado en nkat.

#### 2.5.- Determinación de parámetros de madurez y calidad en frutos

Son varios los parámetros físico-químicos que se pueden utilizar para determinar el

estado de madurez y calidad de las manzanas, así como los métodos analíticos para su determinación y cuantificación. En este apartado, se describen los parámetros determinados en la presente Tesis en el momento de la recolección, y se justifica la elección de algunos de los métodos utilizados de acuerdo con los resultados previos obtenidos.

El <u>esquema de toma de muestras</u>, tanto en prerecolección como en recolección, se expone en las *Figuras* <u>1-19</u> y <u>1-20</u>. En las experiencias realizadas, los parámetros de madurez y calidad en frutos se utilizaron también para estimar el momento de la recolección. Los parámetros que se determinaron <u>individualmente</u> para cada uno de los frutos de las 5 muestras correspondientes a cada tratamiento fueron:

#### \* Peso

Se determinó el peso de cada fruto, lo más rapidamente posible después de la recolección, utilizando una balanza de precisión de 0,01 g. Los resultados se expresaron en gramos.

#### \* Calibre

Los mismos frutos pesados, posteriormente se calibraron en la zona ecuatorial del fruto con un lazo calibrador. El resultado se expresó en mm.

### \* Firmeza

Es uno de los parámetros de madurez de mayor interés. Se determinó para cada uno de los frutos pesados y calibrados, con un penetrómetro *Effegi* con pistón de 11 mm, realizando una medida en cada cara y obteniendo un valor medio por fruto expresado en kg.

#### \* Color de la epidermis

En los ensayos realizados durante el año 1994, y solamente en el momento de la recolección, además de la determinación de antocianos y de la medición del color con un colorímetro, se realizó una estimación visual del color de los frutos. Para ello se estableció una escala de 1 a 10, correspondiendo el 1 a frutos sin color y el 10 a frutos coloreados en su totalidad; lo que sería equivalente a porcentages unitarios de la superficie del fruto coloreada; posteriormente dichos valores se relacionaron con el contenido de antocianos de la piel del fruto y con los parámetros colorimétricos.

Los siguientes parámetros se determinaron de forma <u>conjunta</u> para los frutos que procedían de una misma muestra o árbol:

#### \* Sólidos solubles

El contenido de sólidos solubles, se determinó a partir del conjunto de frutos que formaban cada muestra, extrayéndose dos sectores opuestos de cada fruto. La medición se realizó mediante refractometría, utilizando un refractómetro digital tipo *Atago-Palette 100*, con un rango de lectura 0-32° y una precisión 0,2°Brix; previamente se estandarizó la lectura con una gota de agua destilada. Los resultados se expresan en grados brix (°Brix).

#### \* Acidez titulable

Dicha determinación se realizó a partir del jugo de los frutos, extraido para determinar los sólidos solubles; para ello se cogieron 10 ml de jugo filtrado, a los que se añadió 10 ml de agua destilada y unas gotas de indicador fenolftaleina, posteriormente se valoró la disolución con NaOH 0,1N, hasta el pH de viraje (8,0). La acidez se expresó en gramos de ácido málico por litro de jugo, mediante la siguiente expresión:

Acidez Titulable=(ml de NaOH gastados)X0,67 = g de ácido málico/l

#### 2.6.- Estimación de la fecha de recolección

Los valores de firmeza, contenido de sólidos solubles, y acidez, se utilizaron para estimar la fecha de recolección de las diferentes variedades, mediante la comparación de los mismos con los recomendados para una recolección comercial de manzanas (Duran, 1983; Delhom, 1986; Urbina, 1990). Los días transcurridos, desde la plena floración hasta la recolección, han sido similares entre años, oscilando alrededor de 140 y 115 días para las variedades 'Red Delicious' y 'Mondial Gala', respectivamente. La recolección de los frutos correspondientes a los diferentes tratamientos de una misma variedad, se realizó en la misma fecha, dado que no presentaban variaciones importantes.

## 2.7.- Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos

#### 2.7.1. -Diseño experimental

Las experiencias de campo se realizaron en 4 fincas situadas en diferentes localidades, con condiciones climáticas similares y pertenecientes todas ellas a la zona media del área frutícola de Lleida. El hecho de utilizarse patrones clonales y disponer de suelos con una buena uniiformidad, se tradujó en una buena homogeneidad de las plantaciones. Las fincas son de forma rectangular con una superficie que oscila entre 1,7 y 3,6 ha (tab 10 Cuadro 10). Este aspecto es importante, dado que en ensayos de riego por aspersión, se produce un importante efecto de deriva; consecuentemente, la modificación de las condiciones ambientales (humedad y temperatura), afecta a un área considerablemente superior a la regada. Ello debe ser tenido en cuenta, en la determinación de la superficie correspondiente a cada estrategia de riego y del testigo.

En experiencias similares realizadas en Estados Unidos (Unrath, 1972a,b; Williams, 1989;1993; Evans, 1993a,b), cada alternativa de riego se asignaba a una única parcela de la finca, con una superficie mínima de 700 m²; la distancia de influencia de la zona regada sobre la adyacente se consideraba de 30 m, lo que indica que deban realizarse verificaciones previas en cada ensayo para cuantificar el efecto de deriva.

Cada una de las fincas donde se realizaron los ensayos, se dividió en tantas parcelas como estrategias de riego evaluadas, correspondiendo una al testigo, asignando de forma completamente aleatorizada un tipo de riego a cada parcela, el cual se mantuvo para los diferentes años en que se realizaron las experiencias. Para cada estrategia de riego se escogieron al azar 5 árboles (o repeticiones), de una misma fila (para evitar variaciones debido al efecto posición), y no situados consecutivamente, aunque si próximos. No se eligieron aquellos árboles cuyos conlindantes tuvieran menor vigor, dado que ello hubiera influido en las condiciones de iluminación. Para evitar el efecto borde del final de la plantación, siempre se dejaron un mínimo de tres líneas hasta la línea donde se realizaron los muestreos. La superficie mínima de cada una de las diferentes parcelas de riego fué de 1.000

m<sup>2</sup>. La distancia entre el último árbol regado por aspersión, correspondiente a una alternativa de riego, y el primer árbol de otra alternativa, del cual se tomaron muestras, fué en todos los casos superior a 50 m.

La unidad de muestreo dentro de cada árbol fué el fruto, por lo que en prerecolección y en recolección, se escogieron según el procedimiento indicado anteriormente en el apartado "Plan de trabajo", muestras lo más representativas posibles del estado de la plantación. Las muestras se tomaron en las diferentes fechas y siempre de los mismos árboles, correspondiendo cada muestra a un árbol, y siendo el tamaño de 7 frutos por árbol (35 frutos por tratamiento) en los controles de prerecolección, y de 14 frutos por árbol (70 frutos por tratamiento) en la recolección, tal y como se refleja en las Figuras 1-19 y 1-20. En el Cuadro 14 de la figura 1-18), se indican las fechas en que se realizaron los muestreos y la recolección. El tamaño de muestra en el momento de recolección fué mayor, dado que se determinaron también los parámetros de calidad en frutos; en prerecolección solamente se realizó un seguimiento de la evolución del color (colorimetría y contenido de antocianos). El tamaño de muestra, el número de árboles muestrados y el método de muestreo, son similares a los utilizados por otros autores (Crassweller et al., 1989; Williams et al., 1989a; Baugher et al., 1990a,b;1995; Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991a,b; 1994; Fallahi et al., 1994; en estudios de coloración.

## 2.7.2. - Tratamiento estadístico

Una vez que se disponía de los datos correspondientes a las diferentes variedades, tratamientos, fechas y años, se procedió a realizar el tratamiento estadístico para dar respuesta a los objetivos planteados en el presente trabajo.

El procesamiento de los datos se realizó mediante hoja de cálculo y posteriormente con el paquete estadístico SAS (1990a,b). Antes de realizar el análisis estadístico se realizaron tres comprobaciones:

- 1) <u>Independencia de las parcelas</u>. La independencia de las parcelas correspondientes a los diferentes tratamientos es indispensable, dado que sino no se cumple, el efecto de un tratamiento puede afectar a las parcelas contiguas. Ello implica que deben existir unas distancias mínimas que eviten el posible "efecto borde". La independencia se comprobó mediante las lecturas de los termohigrógrafos; al aplicarse los riegos correspondientes a los diferentes tratamientos, dichos instrumentos no detectaron interferencias ambientales (temperatura y humedad relativa) entre parcelas contiguas.
- 2) <u>Homogeneidad de las parcelas</u>. Comprobar la homogeneidad entre los árboles (medida como vigor de los mismos) que constituyen las diferentes parcelas es importante debido a que en árboles más vigorosos la penetración de la luz es menor, por lo que el desarrollo del color se puede ver afectado de forma importante con respecto a árboles más débiles. La homogeneidad de los árboles (vigor), correspondientes a las diferentes parcelas o tratamientos de una misma variedad y finca, además de observarse visualmente, se comprobó realizando el análisis de la varianza del vigor de los árboles. En todas las experiencias no se detectaron diferencias entre árboles. El vigor de los árboles se determinó midiendo el perímetro del tronco a 20 cm del punto de injerto, dado que el vigor, y consecuentemente el tamaño del árbol, está altamente correlacionado con la sección del tronco (Westwood et al., 1970).

Por otra parte, las variables determinadas (antocianos y color) justo antes de iniciarse los riegos en las diferentes parcelas, no presentaron diferencias significativas entre

tratamientos, por lo que las condiciones de partida (teniendo en cuenta las variables evaluadas) eran iguales para todas las parcelas.

3) Homogeneidad de la varianza de los diferentes tratamientos. Cuando se realizan pruebas estadísticas basadas en hipotesis de significación, uno de los supuestos en que se fundamenta el análisis de varianza es que los errores experimentales se distribuyen normalmente y que las varianzas son homogeneas. La falta de normalidad tiene poco efecto sobre la validez del análisis de la varianza (Little et al., 1987), mientras que la falta de homogeneidad puede afectarla en gran medida. La comprobación de la homogeneidad de las varianzas se realizó mediante el análisis de residuos de los valores previstos para todos los valores individuales. Los residuos obtenidos, a medida que se incrementaban los valores previstos, fueron similares para la mayoría de variables estudiadas, distribuyéndose en el gráfico de residuos en forma de una franja horizontal. Cuando ello no ocurrió (en alguna fecha para a\*, b\* y Saturación), con las variables afectadas no se procedió a la separación de medias. El análisis de residuos y su representación gráfica se realizó con los procedimientos: PROC REG, PROC UNIVARIATE (SAS, 1990b) y PROC PLOT del programa SAS.

En primer lugar, se realizó el **análisis de la varianza** del perímetro del tronco (vigor) de los árboles correspondientes a los diferentes tratamientos, no detectándose diferencias significativas; lo que puso de manifiesto la homogeneidad de los árboles correspondientes a las diferentes parcelas o tratamientos de una misma variedad.

El efecto de los diferentes tratamientos de riego se evaluó mediante el **análisis de la varianza**, que permitió conocer el grado de significación de cada uno de los factores principales del modelo y de sus respectivas interacciones (<u>Cuadro 15</u>, ver tabla 1-14).

Para cada análisis, se obtuvieron los coeficientes de variación (CV), cuyos valores para la mayoría de parámetros estudiados oscilaron entre el 5,6 y el 31%; cuando estos superaron el 60% se calcularon los valores medios, pero no se procedió a su separación. Posteriormente, cuando en el análisis de la varianza se detectaron diferencias significativas para la variable estudiada (antocianos, colorimetría, etc), y a partir de los cuadrados medios del error (CME) se procedió a la separación de medias con el test de la Mínima Diferencia Significativa (MDS). Este test a pesar de ser menos conservador que el Duncan o Tuckey, se ajusta mejor a las características de este tipo de ensayos (Fallahi et al., 1994; Shinga et al., 1994; Baugher et al., 1995). En todos los casos, se estableció un nivel mínimo de significación del 5% (= 0,05), lo que equivale a decir que un 5% de las comparaciones realizadas se declararan incorrectamente distintas cuando son estadísticamente iguales.

Dado que los ensayos se realizaron durante varios años, los <u>factores</u> utilizados para el análisis de la varianza, fueron los siguientes: <u>año, fecha de muestreo, variedad</u> (cuando en el mismo ensayo había más de una variedad), <u>riego, árbol, fruto y cara</u>. La naturaleza de dichos factores (fijos- aleatorios), así como la relación entre ellos (cruzados-jerarquizados), se expone en el <u>Cuadro 15</u> (tabla 1-14). A partir de dicha información, se construyeron los **modelos para el analísis de varianza**, con el objeto de <u>conocer la significación de los factores y/o de sus interacciones</u>; el hecho de disponer de interacciones de hasta sexto grado dificulta su interpretación agronómica, por lo que solamente se consideraron interacciones dobles y triples; para lo cual se realizaron análisis de varianza por años, variedades, fechas y caras. Cuando se introdujo el factor año en el modelo no se consideraron los factores fruto y cara.

Algunos de los factores y de sus interacciones de mayor interés agronómico, dado que aportan información sobre la uniformidad del color y su evolución, fueron: riego, fecha x riego, fecha x año, riego x variedad, riego x árbol x fruto, riego x árbol, cara y riego x cara.

Factores	Año	Fecha	Variedad	Riego	Arbol	Fruto	Cara
Año (A)							
Fecha (F)	X						
Variedad (F)	X	X					
Riego (F)	X	X	X				
Arbol (A)	X	X	J	J			
Fruto (A)	J	J	J	J	J		
Cara (F)	X	X	X	X	X	X	

*Cuadro 15*: Naturaleza y relación, entre los factores utilizados en los rnodelos del análisis de varianza, en las experiencias de riego.

- (A): aleatorio.
- (X): cruzado.
- (F): fijo.
- (J): jerarquizado.

El análisis de la varianza, se realizó con el procedimiento PROC GLM del programa SAS. Para cada una de las variables estudiadas y para las diferentes fechas, se obtuvieron los valores medios, máximos, mínimos y desviación estándar con respecto a la medias. Para ello se utilizó el procedimiento PROC MEANS del programa SAS.

Las variables estudiadas en prerecolección, fueron: contenido de antocianos, valores de cromaticidad (L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación, DE\*), y actividad enzimática de la PAL. En el momento de la recolección, además de dichas variables, se incluyeron para el análisis de la varianza los parámetros de madurez y calidad en frutos (peso, calibre, firmeza, sólidos solubles, acidez, sólidos solubles/acidez), y porcentage de frutos recolectados por pasadas en las variedades 'Topred Delicious' y 'Mondial Gala'. Debido a las características de las determinaciones realizadas, el factor cara y fruto (cuando se determinaron los sólidos solubles y acidez) no se incluyeron en los modelos para el análisis de la varianza. Se estudió la significación de las interacciones año x riego y año x variedad.

En el momento de la recolección, se determinaron de forma conjunta, para los años en que se realizaron los ensayos y para cada uno de los mismos, las relaciones entre los contenidos de antocianos y los valores colorimétricos (L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*) correspondientes a los mismos frutos -media de las dos caras- y también separadamente para cada variedad y cara. Se calcularon los modelos de regresión simple y de regresión lineal múltiple, así como los correspondientes coeficientes de determinación (R<sup>2</sup>) entre dichas variables. El cálculo de los modelos de regresión, su significación, los intérvalos de confianza y los coeficientes de determinación se realizó con el procedimiento PROC REG del programa SAS. En todos los supuestos analizados, inicialmente se introdujeron todas las variables colorímetricas en el modelo, se analizaron mediante los procedimientos PROC CORR y PROC UNIVARIATE, y posteriormente mediante el método FORDWARD se fueron eliminando de forma progresiva, en base a su significación y a la suma de cuadrados del tipo II (SS-II) aportados al modelo de regresión por cada variable. Las variables que presentaron una elevada multicolinealidad y/o un VIF>10, se eliminaron previamente a la aplicación del método BACKWARD. La multicolinealidad entre variables, se evaluó mediante el procedimiento PROC CORR del programa SAS.

Para cada ensayo en particular, se aportará más información sobre el análisis estadístico de los datos, al exponer los resultados.

# III.- <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>



# 1.- VARIEDADES 'EARLY RED ONE' Y 'OREGÓN SPUR': AÑOS 1992, 1993 Y 1994

Las variedades 'Early Red One' y 'Oregón Spur', aportan una notable mejora en la coloración con respecto a 'Starking Delicious' y 'Topred Delicious'. 'Oregón Spur', presenta una coloración con estrías más o menos evidentes, según la cara; mientras que 'Early Red One', es de color uniforme, más intenso y sin estrías; iniciándose la coloración más precozmente (finales de julio) que en 'Oregón Spur'. En la variedad 'Early Red One', la recolección puede realizarse en una sola pasada, por su uniforme coloración en el conjunto del árbol; mientras que en 'Oregon Spur', en años difíciles a la coloración, puede requerir dos pasadas de recolección.

Los ensayos se realizaron durante los años 1992, 1993 y 1994. Las fechas de inicio, plena y final de floración, no presentaron diferencias entre variedades, y fueron las siguientes:

1992: 7 de abril, 13 de abril y 23 de abril.

1993: 6 de abril, 11 de abril y 20 de abril.

1994: 22 de marzo, 29 de marzo y 5 de abril.

La finalidad de las experiencias, era conocer la respuesta al riego refrescante por aspersión, de dos variedades que presentan una diferente aptitud a la coloración. En la variedad 'Oregón Spur', la mejora del color puede ser interesante en años de dificil coloración, mientras que para en 'Early Red One', sin problemas de color, se quería conocer su respuesta frente al riego refrescante, en lo referido a una posible anticipación del color y a un incremento del mismo. De hecho, al tratarse de una variedad mejorada y con buena aptitud a la coloración, se desconocía el efecto que pudiera tener el riego refrescante en el color de los frutos, aunque se dispone de experiencias con la variedad 'Red Chief' y otras variedades rojas, en las cuales el riego refrescante mejoró de forma importante el color de los frutos (Barbée et al., 1971; Recasens, 1982; Proebsting et al., 1984; Evans, 1993a; Williams, 1993; Lowell, 1981; Warner, 1995b,d).

El riego se inició 25 días antes de la recolección (a excepción de 1992 que se aplicó 41 días antes), accionándose diariamente de forma ininterrumpida durante 2 horas diarias, aportando unos 8 l/m²-día, durante dos horas diarias y en dos momentos del día: mediodía (15h a 17h) y al anochecer (21h a 23h). Se realizó un seguimiento, con termohigrógrafos, para conocer la modificación de las condiciones medioambientales provocadas por el riego refrescante, y como éstas influían en la coloración y en los parámetros de calidad de los frutos, para lo cual se dispuso de un testigo sin la aplicación de riego. El riego por aspersión, solamente se aplicó con el objetivo de refrescar el ambiente y no como aporte hídrico, dado que la plantación se regaba periódicamente con el sistema de riego a manta.

El hecho de escoger dichos momentos del día, se debe a que se disponía información sobre el efecto en el color, de la aplicación del riego refrescante de forma cíclica en el momento de máximas temperaturas (Recasens, 1982, 1988; Mayles, 1989; Willet, 1989; Proebsting et al., 1984; Williams, 1989; 1993; Lowell, 1981; Andrews, 1995; Robinson, 1995), pero se dispone de escasas referencias cuando se aplicaba al anochecer (Evans, 1993a); habiéndose observado en parcelas de fruticultores y durante varios años, que la aplicación en este momento mejoraba el color de los frutos.

El riego se aplicó de forma continua, al igual que en experiencias previas (Lombard et al., 1966; Drake et al., 1981; Recasens et al., 1981; Recasens, 1982). En dichos trabajos, también se había escogido como período de riego dos horas, ya que se considera que es el tiempo necesario para refrescar el fruto en su totalidad.

## 1.1.- Análisis de las condiciones climáticas de los años 1992, 1993 y 1994

La síntesis de los pigmentos responsables del color rojo en las manzanas - los antocianos- esta intimamente ligada a las condiciones climáticas, siendo la temperatura el factor que tiene una mayor influencia; cambios estacionales de las temperaturas debidos al factor año, o modificaciones de las mismas provocadas por el riego refrescante por aspersión, pueden influir directamente en el color de los frutos y por ello deben ser tenidos en consideración (Chalmers, 1973; Diener, 1977; Proctor, 1974; Tan, 1979; Clerinx, 1983; Mayles, 1989; Saure, 1990).

La evolución de las temperaturas máximas y mínimas diarias, correspondientes al período 9 de agosto-11 de septiembre de los años 1992, 1993 y 1994, se ha representado en la *Figura 1-21*; dicho período precedió a la recolección de las variedades del grupo '*Red Delicious*', y es especialmente importante, dado que el desarrollo del color (síntesis de antocianos) tiene lugar, para muchas variedades, durante las dos o tres semanas previas a la recolección (Arakawa, 1988b; Saure, 1990; Singha et al., 1994). Las temperaturas correspondientes a 1993, tanto máximas como mínimas, fueron inferiores a las de 1994, mientras que las de 1992 fueron las propias de un año normal y por tanto más similares a 1994 que a 1993; solamente en el período 15-25 de agosto de 1992 las mínimas fueron más elevadas de lo normal. De los tres años, 1994 fué el más caluroso.

# Figura 1-21

También es de interés conocer el salto térmico diario, o diferencias entre temperaturas máximas y mínimas diarias en el período previo a la recolección por su influencia en la síntesis de antocianos (Tan, 1979; 1980; Blankenship, 1987; Arakawa, 1988b; Singha et al., 1994). Es por ello, que se calculó, para el período 21 de agosto-11 de septiembre de los años 1992, 1993 y 1994, la diferencia diaria entre las temperaturas máximas y mínimas. El resultado se expone en la *Figura 1-22*, habiéndose representado porcentualmente en forma de área para cada uno de los dos años estudiados.

#### Figura 1-22

La diferencia acumulada entre temperaturas máximas y mínimas, o lo que es lo mismo el área formada por el salto térmico, fué similar en los años 1992 y 1994, y superior en un 5-6% con respecto a 1993, a pesar de que en 1993, las temperaturas mínimas fueron inferiores. Ello se debe a que también en 1993 las máximas fueron inferiores, por lo que el salto térmico no se incrementó respecto a 1993 y 1994. A la vista de lo que se acaba de exponer, y comparando los años 1992 y 1994 con 1993, fué más importante para el color de los frutos, la diferencia entre temperaturas mínimas diarias correspondientes a dichos años, que el salto térmico acumulado en los mismos, en el período previo a la recolección, observación coincidente a la realizada por otros autores (Clerinx, 1983; Faragher et al., 1984; Williams, 1989; Williams et al., 1989; Saure, 1990).

Si de forma análoga, se analiza la humedad relativa ambiental mínima para el mismo período, las diferencias entre los años 1992, 1993 y 1994, son menos relevantes en comparación con las temperaturas mínimas. La diferencia acumulada, entre la humedad relativa máxima y mínima en dicho período, fué del 34%, 30% y 36%, para 1992, 1993 y 1994, respectivamente, no diferiendo de forma importante entre años; correspondiendo también la mayor diferencia entre humedades maxima y mínima a los años 1994 y 1992, que fué cuando se dió el mayor salto térmico.

Se ha observado siempre, que variaciones en las temperaturas llevan asociadas variaciones en la humedad relativa. Con el objeto de determinar la relación entre ambas

variables, se realizó un análisis de regresión entre las temperaturas horarias y su correspondiente humedad relativa, en el período 26-31 de agosto de 1994. En la  $Figura\ 1-23$ , se ha representado la recta de ajuste, obteniendo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) = 0,91; lo que indica la extrecha dependencia entre ambas variables, observándose una relación inversa entre las mismas; por lo que disminuciones de temperatura estuvieron siempre asociadas a incrementos de humedad relativa.

Figura 1-23

# 1.2.- <u>Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura y en la humedad</u> relativa ambiental

Debido a que las diferencias de temperaturas entre años, o a que la modificación de las condiciones ambientales (temperatura y humedad) mediante el riego refrescante, pueden influir en la síntesis de antocianos y consecuentemente en la coloración de los frutos; se realizó durante los años 1992, 1993 y 1994, un seguimiento de las mismas, para los diferentes tratamientos de riego y desde el momento en que éstos se iniciaron, mediante la instalación de termohigrógrafos en cada una de las zonas correspondientes a los diferentes tratamientos. A título de ejemplo, en la *Figura 1-24*, se ha representado la evolución de la temperatura y de la humedad relativa ambiental a lo largo de dos días en los cuales se aplicó el riego refrescante al mediodía y al anochecer, durante dos horas, comparándose con el testigo.

# Figura 1-24

El riego refrescante por aspersión, produce una fluctuación de temperaturas que depende de la hora de inicio y de la duración del riego, de la cantidad de calor irradiado, del viento y de la humedad ambiental relativa (Lowell, 1981; Evans, 1993a); es por ello que se observaron diferencias en función de la hora en que se inició el riego. El mayor refrescamiento de los frutos, y de las otras partes mojadas, tiene lugar cuando se maximiza la capacidad evaporativa del agua aplicada.

La aplicación del riego a mediodía (15h-17h), provoca una disminución importante de la temperatura mientras dura el riego, posteriormente ésta se incrementa hasta alcanzar un máximo que es inferior, entre 4 y 6°C, con respecto al testigo y al riego al anochecer. La humedad relativa ambiental, se incrementa con respecto al testigo, entre un 25% y un 50%. El hecho de que en el momento de iniciarse el riego, la humedad relativa sea baja, es sumamente beneficioso, dado que la evaporación del agua, y consecuentemente la capacidad de enfriamiento, no se ve limitada por la humedad de la atmósfera.

El riego aplicado al <u>anochecer</u> (21-23h), acelera la disminución de la temperatura, siendo la mínima alcanzada inferior al testigo, entre 3 y 5°C. La humedad relativa se incrementa también de forma más rápida, siendo el máximo alcanzado alrededor de un 10% superior con respecto al testigo. En este tipo de riego, la humedad máxima se mantiene en porcentages próximos a la saturación (entre el 90 y el 95%) durante un mayor período, en comparación con el riego al mediodía y el testigo, lo que limita la capacidad de enfriamiento de los frutos; por lo que, y al igual que ocurre en el riego al mediodía, la disminución de la temperatura depende de la evaporación del agua, que se ve condicionada o limitada por la elevada humedad ambiental ya de por si existente (vease testigo) y incrementada por el efecto del riego.

Tanto en el <u>testigo</u> como en el riego al anochecer, las temperaturas máximas diarias se alcanzan alrededor de las 16 horas, y las mínimas entre las 7 y las 8 de la madrugada. Con respecto a la humedad relativa, la evolución es inversa a la seguida por las temperaturas, alcanzándose la mínima cuando se da la temperatura máxima y viceversa.

El riego refrescante, aplicado ya sea al mediodía o al anochecer, provoca una modificación sustancial tanto de las temperaturas (máximas y mínimas) como de la humedad relativa en el seno de la plantación. Desde el punto de vista de la síntesis de antocianos, el efecto del riego radica en la modificación de las temperaturas durante los 20 a 25 días previos a la recolección, disminuyendo las temperaturas máximas (riego al mediodía), o las mínimas (riego al anochecer). Las disminución de las temperaturas mínimas incrementa la síntesis de antocianos, al reducir la perdida de azucares a lo largo de la noche a traves de la respiración; mientras que la reducción de las temperaturas máximas, incrementa la actividad fotosintética durante el día, al aliviar el estrés hídrico de la planta. En ambos casos se incrementa la disponibilidad de azucares, y concretamente de galactosa, necesarios para la síntesis de antocianos (Jones, 1973; Faragher et al., 1984; Mayles, 1989; Williams, 1989). Es por ello, que modificaciones provocadas por el riego refrescante o diferencias estacionales entre años, influyen en la síntesis de antocianos.

Experiencias realizadas por otros autores, señalan también incrementos de humedad de entre el 20 y el 40% y disminuciones de temperatura de entre 2 y 6°C, dependiendo de la humedad ambiental en el momento de iniciarse el riego (Gilbert et al., 1970; Unrath, 1972a,b; Recasens et al., 1981; Recasens, 1982; Willet, 1989; Williams, 1993; Andrews, 1995). Diferentes observaciones indican, que la transición de estadios maduros a inmaduros con respecto a la acumulación de antocianos, precede en 2 o 3 semanas a la recolección (Chalmers et al., 1973; Gorski et al., 1977), lo que explicaría que la modificación de temperaturas en fases más precoces del desarrollo del fruto no tenga un efecto adicional en el incremento del color. Sin embargo, en experiencias realizadas con la variedad 'Starking Delicious', se obtuvieron incrementos sustanciales en la coloración de los frutos, aplicando el riego desde principios de junio hasta la recolección (Recasens et al., 1981).

La capacidad de refrescamiento está estrechamente relacionado con la humedad relativa, la disminución de la temperatura implica siempre un incremento de la humedad relativa, por lo que ambas variables están inversamente relacionadas. Lowell en 1981, constató que cuanto más alta era la humedad ambiental, más dificil era disminuir la temperatura de las manzanas, dado que la capacidad refrescante provocada por la evaporación, se veía limitada por la humedad ambiental, por lo que los aspersores debían funcionar durante más tiempo. Cuando ésta era muy alta o próxima a la saturación, la evaporación y el refrescamiento, eran practicamente inexistentes. En climas continentales secos con baja humedad relativa ambiental, la capacidad evaporativa del agua aplicada (y por tanto el refrescamiento por evaporación) no se ve limitada y, consecuentemente, el efecto en la disminución de la temperatura es más eficaz, en comparación con climas con influencia marítima donde la humedad ambiental es siempre más elevada (Lowell, 1981).

# 1.3.- <u>Efecto del riego por aspersión en la evolución de los parámetros colorimétricos del fruto</u>

En base a diversas experiencias, sobre la utilización del colorímetro para la determinación del color (Polesello et al., 1980; Singha et al., 1991a,b; Lancaster et al., 1994), se puede inferir *a priori*, que en las variedades *'Early Red One'* y *'Oregón Spur'*, las determinaciones del color con un colorímetro, reflejan con bastante exactitud la naturaleza del mismo, en comparación con variedades de color estriado como *'Starking Delicious'*.

En 1992, el color se determinó en campo, y siempre en los mismos frutos previamente marcados, mientras que el contenido de antocianos se determinó para cada fecha en otros frutos. En 1993 y 1994, el color se midió en los frutos previamente recolectados, dado que

para los mismos, se determinó simultaneamente el contenido de antocianos, para posteriormente relacionar ambas variables. Las coordenadas colorímetricas determinadas, para cada fecha y para cada cara del fruto, fueron: L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*. Su interpretación desde el punto de vista del color y su cálculo se ha expuesto en el apartado Introducción: "El color y su medida".

Se han analizado de forma separada los años 1992, 1993 y 1994, y posteriormente de forma global, destacando los aspectos comunes a los tres años. La evolución de los parámetros colorimétricos en el tiempo fué la siguiente:

- \* Disminución: L\*, b\*, Tono, Saturación y DE\*.
- \* Aumento: a\* y a\*/b\*.

De los parámetros estudiados: a\*/b\*, Tono y también L\*, a\* y DE\*, han sido los que posteriormente en el análisis de regresión han proporcionado los mejores valores de los coeficientes de determinación (R²), estando además bien relacionados con la apreciación visual del color. En cuanto al parámetro L\* o luminosidad, se ha observado siempre una relación inversa con la coloración, en el sentido que cuanto mayor es el color (valores altos de a\*/b\* y bajos del Tono), menores son los valores de L\*. Resultados análogos han sido expuestos por otros autores (Ferré et al., 1987; Aubert, 1990; Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1994; Ravaglia et al., 1996) al determinar el color en variedades '*Red Delicious*'.

Los coeficientes de variación, calculados para las diferentes fechas, años, variedades y caras, oscilaron para la mayoría de parámetros entre el 4,7 y el 36%. Cuando estos fueron superiores al 60% y/o la varianza no fué homogenea (vease Material y métodos: "*Tratamiento estadístico*"), se calcularon las medias pero no se realizó su separación, lo cual ocurrió en algunas fechas y años para a\*, Saturación y DE\*. Los menores coeficientes correspondieron a la variedad *'Early Red One'*, mientras que si se tiene en cuenta los diferentes parámetros, los menores valores correspondieron a DE\*, L\* y Saturación, y los mayores a a\* y a\*/b\*. Comparando las caras, los mayores coeficientes se obtuvieron para la cara verde.

A continuación, se exponen los resultados obtenidos en la determinación de los parámetros colorimétricos, mediante el colorímetro portatil triestímulo Minolta CR-200, para las diferentes estrategias de riego refrescante, fechas de muestreo y para las dos caras del fruto. Posteriormente, y a partir de los valores de ambas caras, se calculó los correspondientes al fruto entero. Dicha información es complementaria, dado que el análisis por caras permite conocer la distribución del color en el fruto, mientras que el análisis conjunto del fruto, permite tener una cuantificación global de su color, y posibilita una comparación más facil entre tratamientos y variedades.

#### \* Resultados año 1992

En 1992, y dado que se disponía de referencias sobre la mejora del color mediante el riego refrescante aplicado en estados más precoces del desarrollo del fruto, y no unicamente durante los 20-25 días antes de la recolección (Recasens et al., 1981), el riego se aplicó a partir del 30 de julio. Se determinaron los parámetros colorimétricos para cada variedad y cara del fruto para las siguientes fechas: 29/julio, 11/agosto, 25/agosto y 8/septiembre (recolección). Los resultados obtenidos se exponen en el <u>Cuadro 16</u> (tabla 1-15), donde figura la separación de medias, para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones y para las dos variedades.

Los valores correspondientes a la primera fecha de muestreo no difieren, para una misma variedad, entre las dos estrategias de riego y el testigo, lo cual es deseable, e indica que la coloración de los frutos antes de iniciarse los riegos refrescantes, era similar para los

diferentes tratamientos.

Para la variedad <u>'Early Red One'</u>, en el momento de la <u>recolección</u> y teniendo en cuenta la cara roja del fruto, tanto L\* como el Tono, fueron inferiores para los frutos bajo riego refrescante, con respecto al testigo. El mayor ratio a\*/b\*, correspondió al riego al anochecer, y el menor al testigo, no existiendo diferencias entre riegos. Para un mismo riego y fecha, no se observan importantes diferencias entre caras, lo que indica que ambas caras del fruto presentan una coloración similar, lo cual es lógico, al tratarse de una variedad mejorada y con una buena aptitud a la coloración, incluso en la cara menos expuesta a la iluminación.

En las dos <u>fechas previas</u> a la recolección, se dieron diferencias entre riegos en los diferentes parámetros; tanto el riego al anochecer como el riego al mediodía, proporcionaron, en general, diferencias con respecto al testigo, que indican una mayor precocidad en la coloración de los frutos. Las diferencias en la segunda fecha (11 de agosto), no fueron significativas para algunos parámetros de notable interés como a\*/b\*, lo que indica que el incremento más importante de color se produjo a partir de mediados de agosto.



1992	'E4RLY	RED ON	ΙE									
Paráme	29/julio			11/agos	sto		25/agost	to		8/septie.	(recolec	ción)
tro/												
Riego	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
L*												
Noche	60,1 <sup>+</sup> a	58,5 <sup>™</sup> a	62 <sup>++</sup> a	49,9 <sup>+</sup> b	48,4**b	52,2**b	47,1 <sup>+</sup> a	45 <sup>++</sup> a	49 <sup>++</sup> a	39,5* b	38** a	41 **a
Mediod	61,1 a	59,6a	63,3a	53,2a	51,8 a	54,6 ab	48,1 a	45,9a	50,2a	37,7 c	35,4a	39,9 b
ía												
Testigo	62,1 a	60,2a	64,0a	52,8 b	49,1 b	56,6 a	48,6 a	46,2a	51,2a	40,9a	39,9 b	41,9ab
a*												
Noche	-4,1a	-0,50 a	-7,6 a	13,7a	16,2 a	10,2 a	18,6 a	21,8a	15,4a	27,4a	30,9a	24,0a
Mediod	-5,6 a	-2,9a	-8,4a	11,9a	14,7a	9,la	17,2 b	20,2 b	14,3ab	26,3a	28,1 b	24,6a
ía				10.0				4001				
Testigo	-6,1 a	-2,3a	-9,8a	10,3a	11,7 b	8,9a	16,5 c	19,8 b	13,2 b	27,la	29,2 ab	25,2 a
a*/b*	0.10	0.01	0.26	0.50	0.50	0.45	1.0	1.6	0.50	4 = 2	2.1	4.05
Noche	-0,10a	-0,01 a	-0,26a	0,58a	0,70 a	0,47 a	1,2 a	1,6a	0,79a	1,73a	2,1a	1,35a
Mediod	-0,18 a	-0,07a	-0,29a	0,54a	0, 65 a	0, 43 a	1, 1 ab	1,3 b	0,78ab	1,71a	1,9 ab	1,50a
ía	0.12	0.06	0.20	0.44	0.50	0.201	0.001	110	0.741	1.64	15)	1.50
Testigo	-0, 13 a	-0,06a	-0,20a	0,44a	0,58 a	0,30 b	0,90 b	1,1 C	0,74 b	1,64a	1,7 b	1,59a
Tono												
( N. 1	00.0	00.0	105.0	57.21	47.61	(( 0 1	44.41	26.41	52.4	20.0	25.71	27.2
Noche	98,0a	90,0a	105,0a	57,2 b	47,6 b	66,9 b	44,4 b	36,4 b	53,4a	30,0a	25,7 b	37,2a
Mediod	103,1 a	94,1a	106,5a	65,0a	57,9 a	68,6 b	47,0 b	36,9 b	52,5 b	32,1a	27,9 b	34,3a
ía T4'	101.2 -	02.4-	107.0-	(7.2-	(0.2 -	050-	51.4 -	115-	<i>E( E-</i>	22 5 h	240-	24.0-
Testigo	101,2 a	95,4a ONSPUR	107,9a	67,2a	60,3 a	85,8 a	51,4 a	44,5a	56,5a	33,5 b	34,0a	34,0a
	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
L*	Total	CK	CV	Total	CK	CV	Total	CK	CV	Total	CK	CV
Noche	65,2 a	64,5a	66,0a	57,9 b	52,2 b	62,6 a	55,7 b	50,5 b	60,0 b	41,2a	35,2 b	47,3a
Mediod	65,6 a	64,0a	67,4a	58,8 b	54,2 ab	63,5 a	56,5 b	51,3 b	60,9a	42,la	36,0 ab	48,1 a
ía	03,0 a	04,0а	07,та	36,60	34,2 00	05,5 a	30,3 0	31,30	00,74	72,1a	50,0 ab	70,1 a
Testigo	66,0 a	65,0a	66,4a	60,1 a	55,4 b	64,9 a	57.9 a	54,0a	61,8a	41,0a	38,9a	49,2a
a*	00,0 u	05,00	00,-ш	00,1 a	33,40	04,7 u	31,7 u	34,0u	01,00	71,04	30,7a	47,24
Noche	-8,8a	-6,2a	-11,4a	4,0a	12,2a	-4,2a	8,3a	16,2a	0,40a	22,1a	27,0a	17,2a
Mediod	-12,2 a	-8,0a	-16,0a	2,5 b	10,3 ab	-5,6 b	6,7 a	15,2a	-1,7 b	23,1ab	29,la	17,1ab
ía	12,2 4	0,04	10,04	2,5 0	10,5 40	2,00	0,7 u	13,24	1,7 0	20,140	22,111	17,140
Testigo	-10,5 a	-7,5a	-13,4a	-2,4 c	6,9b	-11,7c	3,4b	10,4 b	-3,7 c	19,1 b	24,1 b	14,0 b
a*/b*	23 N	7	1000		J.L	1 22	7773	1.	77.71	-770	100	-,- ~
Noche	-0,31 a	-0,29a	-0,34a	0,13a	0,40 a	-0, 14 a	0,47 a	0,92a	-0,03a	1,2a	1,7a	0,78a
Mediod	-0,33 a	-0,25a	-0,40a	0,08a	0,34a	-0,18a	0,34b	0,80a	-0,12a	1,1 b	1,6a	0,68 ab
ía		-227.10	, , ,	<i>y</i>	1777	777	<i>j</i>	,	.,	,	,	,
Testigo	-0,29 a	-0,21a	-0,37a	0,02a	0,25 a	-0,21 a	0,16 c	0,51 b	-0, 19 b	0,90 e	1,3 b	0,50 b
Tono			1				ĺ	Ĺ				
(1)					777							
Noche	104,0a	99,2a	108,8a	80,5a	63,1 b	98,1 b	73,9 b	60,1 b	87,7 c	42,4 b	32,6 b	52,0 e
Mediod	108,1 a	103,8a	112,0a	83,3 a	66,8 b	99,9 b	77,0 b	62,6 b	91,4 b	45,Sab	33,0 ab	58,1 b
ía								-				
Testigo	105,7 a	101,0a	110,4a	82,0a	91,2 a	107,7 a	83,9 a	-C9, 2 a	98,5a	50,0a	36,5a	

*Cuadro 16:* Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara roa (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo y en la recolección. Variedades '*Early Red One*'y '*Oregón Spur*', bajo dos estrategias de riego refrescante, año 1992. Tratamientos con la mismas letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

<sup>(†)</sup>Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

<sup>(++)</sup>Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.

<sup>(·)</sup>Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.

<sup>(··)</sup> Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

En el momento de la <u>recolección</u> de la variedad <u>'Oregón Spur'</u>, se dieron diferencias significativas en los parámetros a\*, a\*/b\* y Tono. El riego al anochecer, proporcionó para dichos parámetros valores que indican una mayor coloración de los frutos (mayores a\* y a\*/b\*, y menor Tono), aunque las diferencias con el riego al mediodía, no siempre fueron significativas. Los parámetros colorimétricos estudiados, indican una mayor coloración de los frutos regados con respecto al testigo; comparando los valores correspondientes a las dos caras del fruto, las diferencias son mayores que en la variedad <u>'Early Red One'</u>, debido a la menor coloración de esta variedad.

En la <u>fecha previa a la recolección</u> de 'Oregón Spur' se dieron diferencias, tanto para el fruto entero como por caras, para todos los parámetros estudiados, pudiéndose afirmar que salvo excepciones los dos tipos de riego, y especialmente el riego al anochecer, proporcionaron valores que indicaban una mayor coloración con respecto al testigo, lo que indica una mayor precocidad en la adquisición del color. En la segunda fecha (11 de agosto), hubo diferencias para algunos parámetros, aunque en parámetros que evidencian la evolución del color como a\*/b\* no se dieron diferencias entre tratamientos. Ello pone de manifiesto, al igual que ocurrió con 'Early Red One', que la coloración de los frutos y las diferencias provocadas por el riego refrescante, se producen a partir de mediados de agosto.

## \* Resultados año 1993

En 1992, se observó que la evolución de los parámetros colorimétricos y consecuentemente la coloración de los frutos, tuvo lugar principalmente a partir de mediados de agosto, por lo que en 1993, el inicio de la aplicación de las diferentes estrategias de riego se se retraso hasta el día 11 de agosto, es decir 28 días antes de la recolección. Los parámetros colorimétricos se determinaron en las siguientes fechas: 12/agosto, 25/agosto y 8/septiembre (recolección). Los resultados obtenidos se exponen en el *Cuadro 17* (*Tabla 1-16*), donde figura la separación de medias para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones, y para las dos variedades.

Considerando las dos variedades separadamente, los valores de los parámetros colorimétricos correspondientes a la primera fecha de muestreo, no difieren entre los las dos estrategias de riego y el testigo. A partir de esta fecha, la evolución de los diferentes parámetros, difiere en función de la variedad, riego y cara, tendiendo a incrementarse a\* y a\*/b\*, y a disminuir L\* y Tono.

En la variedad 'Early Red One, en el momento de la recolección, y teniendo en cuenta tanto el el fruto entero como por las caras, no se dieron significativas entre los diferentes tratamientos de riego, a pesar de que tanto para el riego al anochecer como al mediodía, los valores de todos los parámetros indicaban un ligero incremento del color. Teniendo en cuenta la fecha previa a la recolección (25 de agosto), y a excepción de L\*, tampoco se detectaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados, lo que parece indicar que las condiciones climáticas que favorecieron el color, enmascararon el efecto del riego refrescante en el mismo. 'Oregón Spur, se comportó de forma diferente con respecto a 'Early Red One', al tratarse de una variedad con menor aptitud a la coloración. En la recolección, todos los parámetros colorímetricos, indican una mayor coloración de los frutos sometidos a alguna de las estrategias de riego refrescante, con respecto al testigo. Considerando la cara roja, en L\* no se detectaron diferencias entre tratamientos, para a\*/b\* los dos riegos fueron superiores al testigo; mientras que en base al Tono y DE\*, el riego al anochecer proporcionó una mayor coloración. Consideraciones similares pueden realizarse para la cara verde, cuyos valores se vieron afectados por el efecto del riego. En la fecha previa a la recoleccción, la mayoría de valores indican diferencias entre el riego al anochecer, en comparación con el

riego al mediodía y el testigo, y entre el riego al mediodía y el testigo.

1993		'EARL	Y RED O	VE'						
Parámet	Riego	12/agos	to		25/agos	to		8/septier	nbre (rec	olección)
ro		Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CV	CV
	Noche	54,2 <sup>+</sup> a	47,3 <sup>++</sup> a	62,6 <sup>++</sup> a	48,9 <sup>+</sup> a	40,6**	57,2 <sup>++</sup> a	40,8° a	34,7 <b>••a</b>	46,9••a
						b				
L*	Mediodía	53,8 a	46,5 b	61,2 a	49,0 a	40,0 b	58,0 a	41,3 a	35,1 a	47,5 a
	Testigo	58,0 a	47,1 a	61,6 a	51,0 a	42,8 a	59,2 a	41,l a	35,4 a	46,9 a
	Noche	0,40 a	0,90 a	-0,10 a	1,0 a	1,9 a	0,14 a	1,9 a	2,7 a	1,2 a
a*/b*	Mediodía	0,47 a	1,0 a	-0,05 a	0,99 a	1,8 a	0,19 a	1,8 a	2,5 a	1,2 a
	Testigo	0,35 a	0,85 a	-0,15 a	0,88 a	1,7 a	0,07 a	1,8 a	2,6 a	1,1 a
	Noche	72,9 a	48,6 a	97,2 a	55,6 a	28,9 a	82,3 a	31,7 a	22,7 a	41,0 a
Tono (°)	Mediodía	72,6 a	49,1 a	96,3 a	56,7 a	31,7 a	81,8 a	33,4 a	21,3 a	45,5 a
	Testigo	75,3 a	52,9 a	97,7 a	59,7 a	32,6 a	86,9 a	32,l a	20,5 a	43,8 a
	Noche	63,1 a	55,0 a	71,2 a	57,1 a	50,0 a	64,2 a	51,9 a	46,9 a	56,9 a
DE*	Mediodía	61,7 a	54,1 a	69,3 a	59,1 a	53,1 a	65,1 a	51,4 a	46,2 a	56,7 a
	Testigo	61,9 a	53,7a	70,1 a	58,2 a	50,5 a	66,2 a	50,8 a	45,4 a	56,3 a
			ON SPUR							
		Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
	Noche	56,8 a	48,2 a	65,5 a	50,1 b	42,0 b	58,3 b	41,9 b	35,1 a	48,8 b
L*	Mediodía	57,8 a	49,6 a	66,1 a	52,8 a	44,6 ab	61,0 ab	43,7 ab	36,9 a	50,6 ab
	Testigo	59,0 a	51,2 a	66,8 a	53,9 a	45,8 a	62,2 a	44,0 a	36,2 a	51,9 a
	Noche	0,27 a	0,80 a	-0,25 a	1,0 a	1,8 a	0,20 a	1,9 a	2,7 a	1,1 a
a*/b*	Mediodía	0,35 a	0,89 a	-0,19 a	0,77 b	1,5 b	0,04 a	1,7 b	2,5 a	0,95 ab
	Testigo	0,20 a	0,71 a	-0,30 a	0,65 b	1,3 b	-0,02 a	1,6 b	2,3 b	0,85 b
<i>K</i>	Noche	78,1 a	54,2 a	102,0 a	55,9 b	31,1 b	80,8 b	33,1 a	20,2 b	45,9 b
Tono (°)	Mediodía	80,1 a	55,4 a	104,9 a	62,2 a	36,5 a	88,0 ab	40,1 ab	24,5 a	55,8 a
E	Testigo	82,3 a	58,0 b	106,6 a	65,1 a	38,5 a	91,6 a	37,4 b	22,8 a	52,1 ab
, and the second	Noche	66,0 a	56,6 a	75,5 a	59,1 b	51,6 b	67,0 b	52,1 b	46,0 b	58,2 a
DE*	Mediodía	1,76,50,0	57,2 a	76,2 a	61,2 a	53,4 ab	69,0 ab	54,6 a	49,0 a	60,2 a
	Testigo	67,8 a	58,2 a	77,2 a	62,1 a	54,0 a	70,3 a	54,9 a	49,9 a	59,8 a

*Cuadro 17:* Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara roja (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo y en la recolección. Variedades *'Early Red One' y 'Oregón Spur'*, bajo dos estrategias de riego refrescante, año 1993. Tratamientos con la mismas letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes (α= 0,05).

#### \* Resultados año 1994

En 1994, el inicio de la aplicación de las diferentes estrategias de riego, se realizó a partir del día 8 de agosto. Los parámetros colorimétricos se determinaron en las siguientes fechas: 9/agosto, 22/agosto y 5/septiembre (recolección). La época de recolección se anticipó con respecto a los años 1992 y 1993. En el *Cuadro 18* (*Tabla 1-17*), se reflejan los resultados obtenidos para los parámetros colorimétricos: L\*, a\*, a\*/b\* y Tono, en las tres fechas de muestreo, habiéndose realizado la separación de medias para los diferentes tratamientos.

Para la primera fecha, no existieron diferencias (para una misma variedad) entre las dos estrategias de riego y el testigo. A partir de esta fecha, la evolución de los diferentes parámetros difiere en función de la variedad, riego y cara, tendiendo a incrementarse a\* y a\*/b\*, y a disminuir L\* y Tono, en las dos últimas fechas de muestreo (22 de agosto y 5 de septiembre).

BIBLIOTECA VIRTUAL



1994		'E4RLY	RED O	VE'						
Parám	Riego	9/agosto	)		22/agos	to		S/septier	nbre (rec	olección)
etro								_		
		Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
	Noche	58,5 a	56,1 a	61,0 a	51,7 a	48,2 b	55,2 a	47,1 b	41,l a	53,2 b
L*	Mediodía	60,8 a	57,3 a	64,1 a	53,2 a	49,2 ab	57,2 a	49,7 ab	43,3 a	56,2 ab
	Testigo	61,5 a	57,0 a	66,1 a	54,4 a	50,3 a	58,6 a	52,0 a	44,9 a	59,l a
	Noche	-2,7 a	4,3 a	-9,7 a	12,9 a	20,4 a	5,5 a	20,1 a	24,0 a	16,l a
a*	Mediodía	-2,4 a	2,2 a	-7,0 a	11,3 b	17,7 ab	4,8 a	16,8 ab	21,7 ab	12,0 a
	Testigo	-3,1 a	2,1 a	-8,5 a	9,6 b	15,0 b	4,3 a	13,6 b	20,4 b	6,8 b
	Noche	-0,01 a	0,19 a	-0,20 a	0,70 a	1,1 a	0,28 a	1,3 a	1,8 a	0,70 a
a*/b*	Mediodía	-0,07 a	0,26 a	-0,12 a	0,58 ab	0,97 ab	0,20 ab	1,1 a	1,5 ab	0,59 a
	Testigo	-0,02 a	0,11 a	-0,15 a	0,46 b	0,78 b	0,15 b	0,8 b	1,2 b	0,34 a
	Noche	91,1 a	79,1 a	103,1 a	59,5 a	42,2 b	76,9 a	44,3 b	32,3 b	56,3 b
Tono	Mediodía	92,6 a	84,0 a	101,3 a	63,8 a	48,7 b	79,0 a	51,0 ab	37,3 ab	64,8 ab
(°)										
	Testigo	92,5 a	84,5 a	100,5 a	68,2 a	55,3 a	81,1 a	58,l a	41,0 a	75,2 a
		'OREG	ONSPUR	′						
		Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	C
	Noche	66,2 a	65,7 a	67,0 a	58,3 b	53,4 a	63,3 a	46,3 b	42,8 b	57,0 a
L*	Mediodía	66,1 a	65,5 a	66,8 a	59,1 b	54,2 a	63,9 a	52,9 ab	45,1 ab	60,7 a
	Testigo	65,6 a	64,5 a	66,7 a	60,4 a	55,0 a	65,7 a	55,3 a	48,2 a	62,3 a
	Noche	-8,9 a	-8,7 a	-9,1 a	5,4 a	12,4 a	-1,7 a	18,l a	25,3 a	10,8 a
a*	Mediodía	-10,2 a	-9,9 a	-10,6 a	3,4 ab	10,8 ab	-3,9 ab	12,2 b	21,5 a	2,9 b
	Testigo	-10,0 a	-10,2 a	-9,8 a	0,90 b	9,2 b	-7,4 b	10,8 b	19,9 b	1,8 b
	Noche	-0,23 a	-0,21 a	-0,26 a	0,34 a	0,70 a	-0,03 a	1,0 a	1,6 a	0,45 a
a*/b*	Mediodía	-0,25 a	-0,25 a	-0,24 a	0,20 b	0,53 b	-0, 12 b	0,65 b	1,2 ab	0,10 b
	Testigo	-0,24 a	-0,27 a	-0,22 a	0,21 b	0,40 b	-0, 19 b	0,57 b	0,90 b	0,05 b
	Noche	106,6 a	108,1 a	105,1 a	75,9 b	61,1 b	90,8 b	50,3 b	33,1 b	67,5 b
Tono	Mediodía	104,2 a	105,2 a	103,2 a	79,5 b	64,6 b	94,5 b	59,3 a	39,2 a	79,5 ab
(°)	Y W				- T 1 5	2 4 1			7	Res
-	Testigo	103,7a	105,4a	102,la	84,5a	68,2a	100,9 a	64,1 a	43,6a	84,7a

*Cuadro 18:* Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara reja (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo y en la recolección. Variedades *'Early Red One' y 'Oregón Spur'*, bajo dos estrategias de riego refrescante, año 1994. Tratamientos con la mismas letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ = 0,05).

Para la variedad <u>'Early Red One'</u>, en el momento de la <u>recolección</u>, se dieron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, a excepción de L\* (cara roja) y a\*/b\* (cara verde). La mayoría de parámetros, indican una coloración superior de los frutos con riego al anochecer con respecto al testigo, obteniendo para el riego al mediodía valores intermedios, que generalmente no difieren estadísticamente, ni del testigo, ni del riego al anochecer.

En la <u>fecha previa</u> a la recolección (22 de agosto), se obtuvieron resultados similares a los de la recolección, en base a los cuales la mayor coloración correspondió al riego al anochecer. Para la cara roja, se dieron diferencias en todos los parámetros, mientras que para la cara verde solamente para a\*/b\* hubo diferencias entre tratamientos; lo que indica que, en general, los valores de los parámetros colorímétricos se vieron influenciados por el riego.

En <u>'Oregón Spur'</u>, las diferencias entre los tratamientos de riego y el testigo, fueron más manifiestas, que en 'Early Red One'; igualmente ocurrió entre riegos. En la <u>recolección</u>, para la mayoría de parámetros hubo diferencias entre el testigo y el riego al anochecer, al que correspondieron los mayores valores de a\* y a\*/b\*, y los menores de L\* y Tono, que indican una mayor coloración de los frutos; para el riego al mediodía se obtuvieron en general valores intermedios, que no diferían del testigo ni del riego al anochecer. El color de la cara verde,

también se vió influenciado por el efecto del riego refrescante, correspondiendo los mayores valores de a\* y de a\*/b\*, al riego al anochecer.

En la <u>fecha previa</u> a la recolección y considerando la cara roja, los mayores valores de a\*/b\* y los menores del Tono, correspondieron al riego al anochecer, no existiendo diferencias entre el testigo y el riego al mediodía. No hubo diferencias entre tratamientos, para L\* y tampoco entre riegos para a\*; resultados similares se han obtenido para la cara verde.

El hecho de realizar la medición del color en ambas caras del fruto, permite establecer comparaciones entre caras y por tanto aporta información acerca de la distribución y la uniformidad del color en el fruto. En las *Figuras 1-25* y *1-26*, para ilustrar la diferencia en los parámetros colorimétricos de ambas caras del fruto, entre riegos y entre años, se ha representado la evolución de a\*/b\*, correspondientes a la cara roja y verde de las variedades 'Early Red One' y 'Oregón Spur', durante los años 1992, 1993 y 1994.

#### Figura 1-25

Para la variedad <u>'Early Red One'</u>, si se comparan los valores de a\*/b\* correspondientes a la cara roja y a la cara verde de cualquiera de los tres años, se observa que en ninguno de los casos hubo diferencias de más del doble; por lo que el factor cara no presentó significación al realizar el análisis estadístico. Ello indica, que se trata de una variedad con una elevada coloración y con una distribución uniforme del color en el fruto, lo cual es lógico si se tiene en cuenta que se trata de una variedad mejorada desdel punto de vista del color. En experiencias realizadas en la presente Tesis con las variedades <u>'Topred Delicious'</u> y <u>'Starking Delicious'</u>, hubo diferencias en el parámetro a\*/b\* entre la cara roja y la verde de hasta 20 veces; lo que evidencia el hecho, ya señalado por otros autores (Crassweller et al., 1989; Baugher et al., 1990a; Singha et al., 1989;1991a,b; 1994), de que en variedades de alta coloración la distribución del color es más uniforme en el fruto, y el desarrollo del mismo es menos dependiente de la luz. En la variedad <u>'Oregón Spur'</u>, las diferencias de color entre caras fueron más importantes.

Comparando los años (Figura 1-25), la mayor coloración correspondió a 1993, seguido por 1992 y por 1994, siendo este último el año más caluroso. Teniendo en cuenta el efecto del factor riego, se observa que en 1992 y 1994, los mayores valores del ratio a\*/b\* (cara roja), corresponden al riego al anochecer y los menores al testigo, no existiendo diferencias entre riegos. En 1993, no se dieron diferencias entre tratamientos en ninguna de las dos caras; para la cara verde, los mayores valores, en 1992, correspondieron al riego al amanecer; mientras que en 1994, no hubo diferencias. El hecho de no existir diferencias entre riegos en 1993, corrobora lo anteriormente expuesto, dado que la aptitud a la coloración de la variedad se ve incrementada por condiciones climáticas que favorecen el desarrollo del color como las que se dieron en 1993 (temperaturas bajas antes de la recolección). Ello pudo ser debido, a que las temperaturas que se dieron entre ambas fechas fueron bajas, y ocasionaron una mayor coloración de los frutos, que anuló los efectos del riego refrescante en el color de los frutos. Análogamente ocurrió en los trabajos realizados por diversos autores (Hulme, 1970; Proctor, 1974; Tan, 1979; Faragher, 1983; Recasens et al., 1983; Evans, 1993a,b).

Otro aspecto a destacar, es que los riegos refrescantes, especialmente el aplicado al anochecer, incrementaron el valor de a\*/b\*, tanto en la recolección como en la fecha previa, lo que supone una mayor precocidad en el desarrollo del color.

La evolución de a\*/b\* para 'Oregón Spur, se ha representado en la Figura 1-26.

Comparando los valores correspondientes a la cara roja y a la cara verde de cualquiera de los tres años, se observan diferencias de entre 2 y 9 veces, siendo el factor cara significativo. Las mayores diferencias entre caras se dieron en el año 1994, que fué el año de

coloración más dificil, lo que indica que en dichas condiciones el desarrollo del color en la cara menos iluminada se ve limitado y favorecido en la cara más expuesta la luz. 'Oregón Spur' es una variedad mejorada desde el punto de vista del color, aunque tanto la precocidad de la coloración como la intensidad final de la misma, son inferiores con respecto a 'Early Red One', para la que el color fué más uniforme. A pesar de ello, aporta una mejora importante con respecto a 'Topred Delicious' y 'Starking Delicious', para las cuales la uniformidad del color y la intensidad fué inferior. En la mayoría de variedades la distribución del color se ve influenciada por el factor cara siendo por tanto fotodependiente (Proctor et al., 1976; Faragher, 1983; Mancinelli, 1985).

Si se comparan los tres años (*Figura 1-26*), el comportamiento fué similar al de '*Early Red One'*, correspondiendo los mayores valores de a\*/b\* y por tanto la mejor coloración (de ambas caras) a 1993, seguido por 1992 y por 1994, siendo este último el año más caluroso. El riego refrescante, tuvo un efecto significativo en el color todos los años y caras; correspondiendo los mayores valores al riego al anochecer y los menores al testigo, obteniendo para el riego al mediodía valores intermedios, a excepción de la cara verde para 1994. Para la cara verde, los mayores valores, en 1992, correspondieron al riego al amanecer, mientras que en 1994, no hubo diferencias. Las dos estrategias de riego refrescante, incrementaron el valor de a\*/b\*, tanto en la recolección como en la fecha previa, lo que supone una mayor precocidad en el desarrollo del color.

### Figura 1-26

Comparando las dos variedades, los mayores valores de a\* y a\*/b\*, y los menores valores del Tono y L\*, han correspondido en todas las fechas y caras a 'Early Red One', lo que pone de manifiesto la mayor coloración y precocidad de la misma, con respecto a 'Oregón Spur'.

Las diferencias entre caras son manifiestas entre variedades; así mientras en 'Early Red One' se aprecia poca diferencia en los parámetros colorímetricos de ambas caras; en 'Oregón Spur', éstas son importantes, especialmente en años de coloración más difícil como 1994, lo que indica que en esta última variedad la coloración es menos uniforme, que la inferioridad de color se debe fundamentalmente al menor color de la cara verde, y que la cara más expuesta a la iluminación presenta una mayor coloración.

En base a los resultados expuestos, puede concluirse que para todos los parámetros colorimétricos, en las dos variedades, a partir de mediados de agosto cuando se produce un incremento (a\*, a\*/b\*), o una disminución (L\*, Tono) importante de los mismos, y una evolución diferencial entre los riegos refrescantes y el testigo, lo que indica que la coloración de los frutos tiene lugar en los últimos estadios de desarrollo del mismo, hecho ya expuesto por otros autores (Arakawa, 1988b; Saure, 1990; Singha et al., 1994). Teniendo en cuenta el factor riego, para las dos variedades, fué el aplicado al anochecer el que proporcionó valores de colorimétria que indican una mayor coloración con respecto al testigo, obteniéndose para el riego al mediodía valores intermedios. Al igual que ocurrió con a\*/b\*, los menores valores de a\*, correspondieron también al testigo; por lo que este parámetro reflejo el grado de coloración de los frutos, contrariamente a lo observado Singha et al. (1991a,b), en variedades 'Red Delicious'.

Los resultados obtenidos, son similares a los expuestos por Evans (1993a) con variedades del grupo 'Red Delicious', donde el riego aplicado al anochecer de forma continua, proporcionó incrementos significativos de color. También el riego aplicado en el momento de máximas temperaturas (mediodía), ya sea de forma cíclica o continua, ha incrementado el color en numerosas experiencias (Unrath, 1972a,b; Drake et al., 1981; Recasens et al., 1981; 1984;1988; Proebsting et al., 1984; Mayles, 1989; Willet, 1989; Williams, 1989;1993;

Williams et al., 1989; Warner, 1995b; Andrews, 1995), incluso en variedades de buena coloración como 'Red Chief' (Lowell, 1981). Similar comportamiento, se ha obtenido con la variedad 'Early Red One' en las experiencias realizadas.

#### 1.4.- Efecto del riego por aspersión en el contenido de antocianos del fruto

Los principales pigmentos responsables de la coloración roja de las manzanas, son los pigmentos antocianos, y más concretamente el cianidín 3-galáctosido. Su determinación cuantitativa constituye uno de los métodos habitualmente utilizado para la determinación objetiva del color, dado que mayores contenidos van asociados a una mayor coloración del fruto (Chalmers et al., 1973; Singha et al., 1991a,b; 1994; Graell et al., 1993). Las determinaciónes se realizaron, al igual que los parámetros colorimétricos, para las diferentes fechas en que se realizaron los controles y para las dos caras del fruto; los resultados obtenidos para los años 1992, 1993 y 1994, se exponen en el *Cuadro 19* (tabla 1-18).

Los coeficientes de variación para los contenidos de antocianos, fueron similares para las dos variedades, y oscilaron entre el 11 y el 39%, siendo mayores para las primeras fechas de muestreo y para la cara roja.

Los resultados obtenidos, son similares a los expuestos en el apartado anterior para los parámetros colorimétricos. Para la variedad <u>'Early Red One'</u>, en la <u>recolección</u>, se dieron diferencias entre el riego al anochecer y el testigo, para los años 1992 y 1994, correspondiendo los mayores contenidos al riego anochecer; para el riego al mediodía se obtuvieron valores intermedios, superiores generalmente al testigo. En 1993, no hubo diferencias entre tratamientos debido a que fué un año de mayor coloración, y por tanto, el efecto del riego en el color quedó enmascarado.

En las <u>fecha previa</u> a la recolección se dieron diferencias, tanto entre riegos, como entre éstos y el testigo, correspondiendo los menores contenidos de antocianos al testigo y los mayores al riego al anochecer; para 1993 solamente hubo diferencias entre tratamientos para la cara roja. En la primera fecha de muestreo, no existieron diferencias entre tratamientos en ninguno de los tres años, mientras que en la segunda fecha de 1992 (11 de agosto), solamente las hubo para la cara roja; lo que indica que fué a partir de mediados de agosto, y en el período previo a la recolección, cuando se produjo la evolución diferencial del color por el efecto del riego refrescante, y consecuentemente las diferencias entre tratamientos.

Año/	'EARI	LY RED O	NE'									
Riego 1992	29/juli	0	11/agost	·0		25/agos	sto.		8/sentie	. (recolecc	rión)	
.,,_	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
Noche	2,7 <sup>+</sup> a	3,9 <sup>++</sup> a	1,5 <sup>++</sup> a	8,9 <sup>+</sup> a	13 <sup>++</sup> a	4,8 <sup>++</sup> a	25 <sup>++</sup> a	34 <sup>++</sup> a	16 <sup>++</sup> a	42•a	52••a	32**a
	2,la	3,2a	1,1 a	7,7a	11,8a	3,7a	21,5 b	30,1 b	13,0 b	38,2 ab	45,7 b	30,7a
Mediodía												
Testigo	2,5a	3,7a	1,3a	6,1 a	10,1a	2,1 b	18,3 b	25,2 c	11,5 b	34,6 b	40,2 c	29,la
	'OREG	ON SPUR	,	•	•			•		•		
Noche	1,5a	2,4 a	0,6 a	4,4 a	7,4a	1,4a	15,4a	22,0a	8,8a	21,7a	29,3a	14,2a
	1,6a	2,5 a	0,8 a	3,9 a	6,9a	0,9a	13,2 b	19,7 b	7,0a	19,1 ab	27,0 ь	11,3 b
Mediodía												
Гestigo	1,7a	2,8 a	0,7 a	3,7 a	6,5a	0,8a	12,1 b	18,9 b	5,2 b	17,4 b	25,7 b	9,2 b
1993	'E4RL	Y RED ON	Ε'									
				12/ago	sto		25/agosto 8/septie. (				(recolecci	ón)
Noche				8,4a	14,0a	3,1 a	17,5 a	27,9a	7,1 a	41,5a	60,6a	22,4a
				9,0a	14,2a	3,9a	16,6 a	26,5 ba	6,8 a	39,3a	57,la	21,5a
Mediodía												
Гestigo				8,6a	13,5a	3,7a	15,2 a	24,2 b	6,2 a	36,7a	54,4a	19,0a
	'OREG	ON SPUR	,	RIR		OI	F C	A V	I P	T 11 2		•
Noche	-	-	-	7,2a	11,7a	2,8a	17,6 a	28,1 a	7,1 a	39,3a	57,la	21,5a
Mediodía	_	_	4	8,6a	13,9a	3,3a	13,3 b	21,0 b	5,6 ab	33,4 b	51,3 ab	15,6 b
<b>Festigo</b>	_	-	13/	7,4a	12,4a	2,4a	12,0 b	19,3 b	4,8 b	31,3 b	48,2 b	14,5 b
1994	EARLY	RED ON	E (187	IN /	1 01	7						•
		<b>3</b>	W	9/agost	:0	1 77	22/agos	to		8/septie (	recolecció	n)
Noche	- 6	ğ ü	<b>1</b>	7,9a	12,2a	3,7a	10,9a	15,7a	6,la	28,2 a	377:	18,7a
	- 8	7 AV		8,0a	13,3a	2,8a	9,2 ab	13,3 ab	5,0 a	26,0 ab	34,5 b	17,5 a
Mediodía	1		r //.			W \\		7 1/9/1			1	
Гestigo	- 3		- 10	7,9a	11,8a	4,0a	7,6 b	11,0 b	4,2 a	22,6 b	32,2 b	13,1 b
_	'OREGON SPUR'						19.00 T	7 V	1		50	
Noche		E.		5,1 a	6,8a	3,4a	7,8a	11,9a	4,0a			
			Z. Jahren	4,8a	6,5a	3,2a	6,6 ab	9,5 b	3,8 a	24,0a	36,0a	12,la
Mediodía		71/2/30								19,3 b	28,5 b	10,1ab
Testigo	_	_	-	10,la	6,2a	3,9a	5,7 b	8,0 b	3,5 a	17,7 b	26,0 b	9,5 b

*Cuadro 19:* Valores medios y separación de medias de los contenidos de antocianos, correspondientes al fruto entero, cara reja y cara verde, en diferentes fechas de muestreo y en la recolección. Variedades '*Early Red One'* y'*Oregón Spur'*, bajo dos estrategias de riego refrescante, años 1992, 1993 y 1994. Tratamientos con la mismas letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ = 0,05).

- (<sup>+</sup>)Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.
- (\*\*) Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.
- (\*) Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.
- (\*\*) Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

En la variedad <u>'Oregón Spur'</u>, en la <u>recolección</u>, se dieron diferencias entre tratamientos los tres años, siendo el riego al anochecer superior al testigo; el riego al mediodía proporcionó valores similares al anochecer algunos años, o similares al testigo otros, según la cara. En la <u>fecha previa</u> a la recolección, se obtuvieron resultados similares. En la primera fecha, es decir, en el momento de iniciarse los riegos, no existieron diferencias entre tratamientos; como tampoco las hubo en la segunda fecha del año 1992 (11 de agosto).

Comparando las dos variedades, se observa que tanto los contenidos iniciales como

finales de 'Early Red One', son aproximádamente el doble con respecto a 'Oregón Spur', lo que evidencia su mayor coloración. Para ambas variedades, la respuesta al riego fué similar, a excepción de 1993; siendo, para la mayoría de fechas, el riego al anochecer el que incrementó significativamente el contenido de antocianos, aunque también el riego al mediodía proporcionó, habitualmente, valores superiores al testigo.

La distribución de los contenidos de antocianos en las <u>dos caras</u> del fruto, ha presentado diferencias entre años, entre tratamientos, y entre variedades (*Figuras 1-27 y 1-28*).

Para la variedad <u>'Early Red One'</u> (Figura 1-27), el contenido de la cara roja no superó en dos veces al de la cara verde, lo que indica que las diferencias entre caras, no fueron importantes, no existiendo significación para el factor cara.

En cuanto a los riegos, y teniendo en cuenta la cara roja, tanto el riego al anochecer como al mediodía, incrementaron la concentración de antocianos con respecto al testigo, aunque las diferencias no fueron siempre significativas. Para la cara verde, existieron menos diferencias entre tratamientos, mientras que para el año 1993, tampoco hubo diferencias para ninguna de las dos caras; el hecho de no existir diferencias entre riegos en 1993, es debido a la buena coloración que presentó la variedad 'Early Red One', que se vió incrementada por condiciones climáticas favorables para el desarrollo del color, como las que se dieron en 1993. Comparando los años, los mayores contenidos para la cara roja correspondieron a 1993, y a 1992 para la cara verde; los menores se obtuvieron en 1994.

## Figura 1-27

Los contenidos de antocianos de la variedad <u>'Oregón Spur'</u>, correspondientes a las dos caras del fruto, se han representado en la *Figura 1-28*, donde se observa que las diferencias entre la cara roja y la cara verde llegaron a ser de hasta 4 veces, y por tanto superiores que en *'Early Red One'*, existiendo diferencias significativas entre caras y siendo el factor cara significativo. Las mayores diferencias se dieron en 1994, que fué el año de coloración más dificil, lo que indica que en dichas condiciones, el desarrollo del color se ve favorecido en la cara más expuesta a la iluminación, debido a que la síntesis de antocianos, en la mayoría de variedades, se ve favorecida por la luz. Este hecho es aún más evidente en variedades de menor coloración como *'Topred Delicious'* y *'Starking Delicious'*, que en experiencias realizadas en la presente Tesis, presentaron diferencias de los contenidos de antocianos entre caras, de hasta 7 veces.

Se dieron diferencias entre tratamientos los tres años; tanto el riego al anochecer como al mediodía incrementaron la concentración de antocianos con respecto al testigo, obteniendo valores intermedios para el riego al mediodía; para la cara verde las mayores diferencias se dieron en 1994, donde el riego al anochecer fué superior al resto de tratamientos. Comparando los años, los mayores contenidos correspondieron a 1993, obteniendo resultados similares en 1992 y 1994.

#### Figura 1-28

Los resultados obtenidos con los contenidos de antocianos, han sido similares a los expuestos para los párámetros colorimétricos, siguiendo una evolución en el tiempo ascendente similar a la del ratio a\*/b\*. Los resultados expuestos, indican una coloración superior de estas variedades con respecto a 'Topred Delicious' y 'Starking Delicious', utilizadas en experiencias de riego en el presente trabajo; diferencias que se han puesto de manifiesto en el Capítulo II, donde se comparan 8 variedades del grupo 'Red Delicious'.

Las diferencias entre caras fueron importantes entre variedades, presentando 'Early Red One' una mayor uniformidad de color que 'Oregón Spur; hecho también puesto de manifiesto por otros autores (Bishop et al., 1975; Proctor et al., 1976; Faragher et al., 1977a,b; Mancinelli, 1985), que evidencian que la síntesis de antocianos es fotodependiente. Así

mismo, Arakawa et al. (1986) y Arakawa (1988b), señalaron que la respuesta a la luz y la capacidad de coloración dependía además de otros factores de la luz, y de la variedad. Singha et al. (1991b), encontraron importantes diferencias en los contenidos de antocianos entre caras, en 10 variedades 'Red Delicious', cuanto mayor era su coloración, mayores contenidos correspondieron a las dos caras.

En base a los resultados expuestos, puede concluirse, que el desarrollo del color tiene lugar fundamentalmente a partir de mediados de mediados de agosto, es decir, en los últimos estadios de desarrollo del mismo, hecho ya expuesto por otros autores (Recasens, 1982; Arakawa, 1988b; Saure, 1990; Lancaster, 1992; Singha et al., 1994). Teniendo en cuenta el factor riego, fué el aplicado al anochecer, el que proporcionó valores de colorimétria que indican una mayor coloración con respecto al testigo, obteniéndose para el riego al mediodía valores intermedios.

El efecto beneficioso del riego refrescante, o las diferencias estacionales entre los años, se debería a la disminución de las temperaturas, dado que observaciónes realizadas por diversos autores (Clerinx, 1983; Recasens et al., 1983; Faragher et al., 1984; Crassweller et al., 1989; Williams, 1989; Williams et al., 1989; Saure, 1990; Williams, 1993), indican que las bajas temperaturas durante la noche y/o durante el día tienen un efecto positivo en la síntesis de antocianos. Por un lado, reducen el efecto de la perdida de azucares a lo largo de la noche a traves de la respiración, y por otro se incrementa la actividad fotosintética durante el día al aliviar el estrés hídrico de la planta, por lo que se dispone de más carbohidratos para la síntesis del cianidín 3-galactósido. Por otra parte, se produce una conjunción de la galactosa con las giberelinas, con el consiguiente efecto secuestrante de las mismas, por lo que disminuiría el efecto represor de éstas en la formación de antocianos (Schmid, 1967; Diener, 1977).

Las bajas temperaturas, también estimulan la síntesis de antocianos, al incrementar la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa -PAL- (Creasy et al., 1974; Blankenship et al., 1988; Faragher, 1983; Faragher et al., 1984), enzima que regula el primer eslabón de la síntesis de antocianos; efecto constatado en la presente experiencia, dado que el riego refrescante promovió la actividad de la PAL (Figura 1-32). Complementariamente las temperaturas influyen en diversas reacciones que tienen lugar en el período previo a la recolección, y no en los últimos estadios de la síntesis de antocianos, sometidas a control endógeno y relacionadas con la síntesis del etileno y de las giberelinas (Chalmers et al., 1973; Arakawa, 1988b; Saure, 1990; Singha et al., 1994).

La aplicación del riego refrescante, tanto en el momento de máximas temperaturas como al anochecer, ha consituido una técnica aplicada en muchas zonas productoras de variedades rojas de manzana con climas calurosos. La modificación de las condiciones ambientales, es beneficiosa para la síntesis de antocianos y por tanto para el desarrollo del color, como lo demuestran numerosas experiencias realizadas por otros autores con variedades 'Red Delicious' (Barbee, 1971; Drake et al., 1981; Recasens et al., 1981; Proebsting et al., 1984; Mayles, 1989; Willet, 1989; Williams, 1989; 1993; Williams et al., 1989; Evans, 1993a,b). En ocasiones, se ha utilizado la técnica del riego refrescante, para anticipar el color y la recolección, con el objetivo de obtener mejores precios (Unrath, 1972a,b; Bru, 1995).

En experiencias donde se aplicó diariamente el riego refrescante de forma continua, desde el momento de alcanzarse las temperaturas máximas hasta la puesta de sol, el color se incrementó notablemente; a pesar de ello, es una técnica no recomendable debido a los problemas que conlleva el exceso de agua para la plantación -asfixia, incidencia de enfermedades, manejo dificil de la plantación, etc.- (Warner, 1995b).

## 1.5.- Significación de factores principales y de sus interacciones

En experiencias para la mejora del color, es de interés calcular la significación de determinados factores principales y sus interacciones. La influencia del factor riego, se ha analizado detalladamente en los apartados anteriores, sin embargo, son de interés algunas interacciones de este factor, dado que aportan información de interés agronómico, sobre la uniformidad del color en árboles, frutos y caras. La no significación de dichos factores y de sus interacciones, indica mayor uniformidad del color y influencia no significativa del factor riego. En el <u>Cuadro 20</u> (tabla 1-19), se ha indicado para el contenido de antocianos, L\*, a\*/b\* y Tono, la interacción de los factores riego, árbol, fruto y cara, y de algunas de sus interacciones, en el momento de la recolección; interacciones que han sido calculadas para todas las fechas de muestreo.

Factores	1992				1993				1994			
EarlyRed One	Anto.	L*	a*/b*	Tono	Anto.	L*	a*/b*	Tono	Anto.	L*	a*/b*	Tono
ARBOLx	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
RIEGO												
AR. x RIE x	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	*	ns	**
FRUTO												
CARA	*	ns	**	ns	ns	**	ns	ns	*	ns	ns	**
RIEGO x	**	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CARA	1.37		IXX //	111		U				l ×	[.]	
Oregón Spur	AWY	-39	17.7%	1.11%	1 7.7	A		-/1			37	
ARBOLx	ns	ns	*	*	ns	*	ns	ns	*	ns	**	*
RIEGO	12:	17	10.00			-77.	ALT.	1		ľŁ.	" AT	
AP, x RIL x	ns	*	**	**	*	*	*	ns	*	ns	**	**
FRUTO	ĺ			1, 11	1 13			1		a	1 Y	
CARA	**	**	**	ns	**	**	**	ns	**	**	**	**
RIEGO x	*	**	*	ns_	ns	ns	ns	*	*	ns	*	ns
CARA					11/1/1							

*Cuadro 20:* Significación de algunos factores y/o de sus interacciones, para el contenido de antocianos, L\*, a\*/b\* y Tono. Variedad *'Topred Delicious', bajo* dos estrategias de riego refrescante por aspersión, en el momento de la recolección, de los años 1993 y 1994. Se indica el nivel de significación de cada factor y/o de sus interacciones.

Anto.: Contenido de antocianos.

ns: no significativo.

(\*),(\*\*): nivel de significación  $\alpha$ =0,05 y  $\alpha$ =0,0 1; respectivamente.

Los resultados obtenidos en los años 1992, 1993 y 1994 han sido similares. Para la variedad 'Early Red One', la interacción de los factores árbol x riego (jerarquizados) no fué significativa para la mayoría de parámetros, lo que indica que los árboles de un mismo tratamiento se comportaron de forma similar con respecto a los parámetros evaluados; mientras que para 'Oregón Spur', hubo significación para alguno de los parámetros, especialmente en 1994, lo que indicaría que el color entre árboles, fué menos homogeneo con respecto a 'Early Red One'; resultados análogos se han obtenido en el Capítulo II.

La interacción triple árbol x riego x fruto, fué significativa para la mayoría de parámetros en la variedad 'Oregón Spur', lo que indica que para los diferentes árboles sometidos a un mismo riego, se dieron diferencias de coloración entre los frutos de un mismo árbol, especialmente en 1994. Ello pone de manifiesto, que la uniformidad del color en el

conjunto del árbol, fué mayor en la variedad 'Early Red One', aspecto observado también visualmente. El factor cara, mostró significación para la mayoría de parámetros en la variedad 'Oregón Spur', y para algunos en la variedad 'Early Red One', lo que indica diferencias de color entre caras, más importantes en la variedad 'Oregón Spur' y en años de poca coloración como 1994. Lo anteriormente expuesto, refleja la uniformidad de la distribución del color en el fruto de 'Early Red One'

(Figura 1-25 y 1-27).

La interacción *riego x cara*, no fué significativa para la mayoría de parámetros y años, por lo que el riego no afectó de forma diferente a la coloración de las dos caras del fruto, incrementando el color de ambas. Estos resultados, son los que cabe esperar en variedades de coloración aceptable o buena, en las cuales la coloración se produce de forma más homogenea en el fruto, que en variedades de menor color como *'Topred Delicious'* o *'Starking Delicious'*.

En base al análisis realizado, puede concluirse, que existieron menos diferencias de color entre caras, en la variedad 'Early Red One' que en 'Oregón Spur'; que el riego no afectó de forma diferente al color de las dos caras del fruto; y que el color fué más homogeneo, entre árboles y dentro de un mismo árbol, en la variedad 'Early Red One'. Sin embargo, en ambas variedades, el color tanto de los frutos, como entre árboles o dentro de un mismo árbol, fué más homogeneo que el obtenido con las variedades 'Starking Delicious' y 'Topred Delicious', en experiencias de riego realizadas en la presente Tesis.

En el apartado siguiente se ha analizado, de forma conjunta para los años 1993 y 1994, la significación de los factores riego, año y variedad, y algunas de sus interacciones con el factor fecha; debido a su influencia en el color de los frutos.

# 1.6.- <u>Análisis conjunto años 1992, 1993 y 1994. Influencia de los factores riego, año y variedad</u>

#### 1.6.1. -Parámetros colorimétricos

Dado que la evolución más importante de los parámetros colorimétricos, tiene lugar mayoritariamente al aproximarse la maduración, se siguió la evolución del color desde los 30 días antes de la recolección. Para evaluar el efecto del tiempo, en el análisis estadístico se introdujo el factor <u>fecha</u>, calculándose para el período 1992-1994 y para los parámetros colorimétricos L\*, a\*, a\*/b\*, Tono y DE\*, la interacción de los factores *fecha x riego* para cada variedad; para lo cual se consideraron las tres fechas de muestreo comunes a 1992, 1993 y 1994.

Como resultado global de la experiencia, interesa comparar de forma conjunta los resultados obtenidos durante los tres años, tanto del efecto del factor riego como del factor año, en los parámetros colorimétricos. Para evaluar el efecto del factor riego, en el <u>Cuadro 21</u> (tabla 1-20), se exponen los resultados obtenidos, correspondientes a los valores medios de los tres años, para las tres fechas de muestreo comunes a los diferentes tratamientos.

Para la variedad 'Early Red One', no hubo diferencias entre tratamientos en ninguno de los parámetros evaluados; tampoco fué significativa la interacción fecha x riego. En la variedad 'Oregón Spur', se detectaron diferencias en L\*, a\*/b\* y Tono, en la fecha previa a la recolección, y para a\*/b\* y Tono en la recolección; siendo los valores similares entre riegos y existiendo diferencias entre el riego al anochecer y el testigo, que indicaban una mayor coloración y precocidad de la misma; resultados que son análogos a los obtenidos en el análisis realizado individualmente para los tres años. La interacción de los factores fecha x

*riego*, solamente fué significativa para el ratio a\*/b\* de la variedad 'Oregón Spur', lo que indica que su evolución a lo largo del tiempo (a medida que se acercaba la recolección), se vió afectada o evolucionó diferente por el sistema de riego.



'EARLY RED ONE'											
	Riego	DETERMI	NACIONES	(FECHAS)	Interacción						
Parámetro	_										
		1: Primera	2: Segunda	3:Recolección	FECHA x RIEGO						
	Noche	54,6 a	50,1 a	42,9 a	ns						
L*	Mediodía	56,5 a	50,7 a	42,1 a							
	Testigo	55,7 a	50,8 a	49,7 a							
	Noche	0,35 a	0,90 a	1,7 a	ns						
a*/b*	Mediodía	0,29 a	0,83 a	1,6 a							
	Testigo	0,40 a	0,76 a	1,4 a							
	Noche	77,0 a	55,2 a	35,8 a	ns						
Tono (')	Mediodía	79,6 a	54,0 a	38,6 a							
	Testigo	75,2 a	58,1 a	41,3 a							
		<b>'0</b> '	REGONSPU	R'							
	Noche	59,1 a	54,7 b	45,8 a	ns						
L*	Mediodía	61,5 a	56,3 ab	48,0 a							
	Testigo	60,4 a	57,2 a	47,1 a							
	Noche	0,04 a	0,60 a	1,42 a							
a*/b*	Mediodía	0,07 a	0,38 b	1,18 b							
	Testigo	0,09 a	0,25 b	0,95 с							
	Noche R	86,6 a	67,4 a	40,8 a	ns						
Tono (°)	Mediodía	91,6 a	72,5 ab	48,1 b	n / O A L						
	Testigo	89,2 a	74,5 b	50,5 b							

*Cuadro 21:* Valores de diferentes parámetros colorimétricos, correspondientes a la media de tratamientos, para los años 1992, 1993 y 1994, y significación de la interacción *fecha x riego*. Variedades Eany *Red One'y 'Oregón Spur'*, bajo dos estrategias de riego refrescante. Tratamientos con la misma letra, no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ =0,05).

(ns): no significativo.

(\*): nivel de significación  $\alpha$ =0,05.

Se dieron diferencias importantes entre <u>años</u> en las temperaturas, tanto máximas como mínimas, siendo 1993 un año con temperaturas mínimas inferiores a las de 1994, año éste con temperaturas propias de un año más caluroso de lo habitual, mientras que 1992 correspondió a un año normal.

Para evaluar el efecto del factor año en la coloración de los frutos, se calcularon los parámetros colorimétricos correspondientes a la media de los diferentes tratamientos (riego al anochecer, al mediodía y testigo) para los años 1992, 1993 y 1994, y para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones.

Para las dos variedades, tanto en el momento de la recolección como en la fecha previa, se dieron diferencias entre años, siendo 1994 el que proporcionó valores que indican una menor coloración de los frutos, siendo 1992 y 1993 similares. En la fecha previa a la recolección, los menores valores de L\*, Tono y DE\*, y los mayores de a\*/b\*, correspondieron a 1992 y 1993; mientras que en la primera fecha de muestreo, se dieron diferencias entre años para las dos variedades, que indican que 1994 fué el año de menor color de partida. La interacción *fecha x año*, fué altamente significativa para todos los parámetros de ambas variedades, lo que indica que su evolución en las diferentes fechas, fué diferente según el año. Dichos resultados, ponen de manifiesto, el efecto de las temperaturas en los parámetros colorímetricos, y por tanto en el color de los frutos.

También es de interés, conocer la significación de la interacción *riego x variedad* para los parámetros evaluados en el período 1992-94, y para las diferentes fechas en que se

realizaron las determinaciones. En el momento de la recolección dicha interacción fué significativa para todos los parámetros evaluados, lo que indica que la respuesta de cada <u>variedad</u> a las diferentes estrategias de riego fué diferente, presentando *'Oregón Spur'*, mayores variaciones de color por el efecto del riego, que *'Early Red One'*.

Si se comparan las dos variedades (datos no expuestos), para el ratio a\*/b\* no se dieron diferencias para el riego de noche, mientras que tanto en el riego de mediodía como en testigo, los valores correspondientes a 'Early Red One', fueron superiores a los de 'Oregón Spur'; con respecto al Tono, los valores obtenidos para 'Early Red One' fueron inferiores, en todos los tratamientos, a los de 'Oregón Spur'.

## 1.6.2. - Contenido de antocianos

Para el contenido de antocianos, se ha realizado un análisis similar al que se acaba de exponer para los parámetros colorimétricos. En los tres años de la experiencia, el incremento más importante de la concentración de antocianos, tuvo lugar durante los 20 días antes de la recolección, que es cuando tiene lugar la coloración de variedades rojas de manzana (Arakawa, 1988b; Saure, 1990; Lancaster, 1992; Singha et al., 1991a,b;1994), lo que se deduce en base la evolución del contenido de antocianos y de los parámetros colorimétricos. También en base a dichas variables, se aprecia una coloración diferencial entre ambas caras del fruto, en especial para la variedad 'Oregón Spur'.

Para evaluar el efecto del tiempo, en el análisis estadístico se introdujo el factor <u>fecha</u>, y se calculó para el período 1992-1994, la interacción de los factores *fecha x riego* para el contenido de antocianos, la cual fué significativa para las dos variedades (*Figura 1-29*), lo que indica que la evolución de los diferentes tratamientos, fué diferente en el tiempo. La representación gráfica de algunas de estas interacciones, permite tener una idea global de la evolución de los valores medios en el período estudiado (*Figura 1-29*).

#### Figura 1-29

Para la variedad 'Early Red One' (recolección), el contenido medio de antocianos de los tres años, fué superior para el riego al anochecer con repecto al de mediodía, siendo este último superior al testigo; mientras que para la muestra previa a la recolección no hubo diferencias entre tratamientos. En la variedad 'Oregón Spur', el riego al anochecer proporcionó un mayor contenido de antocianos, tanto en la recolección como en la fecha previa, lo que pone de manifiesto el efecto del refrescamiento de los frutos en el color; análogo efecto produjeron disminuciones de temperaturas debido al factor año.

Debido a la influencia de las temperaturas en la coloración de los frutos (Walter, 1967; Chalmers et al., 1973; Proctor, 1974; Tan, 1979; Recasens et al., 1983; Saure, 1990), es de interés conocer el efecto del factor <u>año</u>. En las experiencias realizadas <u>durante los años 1992</u>, <u>1993 y 1994</u>, fué 1993 un año con temperaturas mínimas inferiores a las de 1994, mientras que 1992 correspondió a un año normal (Apartado: "Análisis de las condiciones climáticas").

La interacción *año x fecha*, se calculó para la media de riegos y para las dos variedades, y fué significativa, lo indica que la evolución en el tiempo (tres fechas) del contenido de antocianos fué diferente para las años 1992, 1993 y 1994, y dependió del factor año (*Figura 1-30*). Si se analiza el contenido medio de antocianos, tanto en la recolección como en la fecha previa, los valores inferiores corresponden a 1994, seguido por 1992; mientras que en el momento de la recolección, el año 1993, fué el que presentó valores significativamente superiores a 1992 y a 1994, para las dos variedades.

## Figura 1-30

El mayor contenido de antocianos para el año 1993, puede deberse a las diferencias en

las temperaturas mínimas diarias entre ambos años y más concretamente en el período previo a la recolección. En dicho período (21 de agosto-recolección), las temperaturas mínimas correspondientes a 1993, fueron inferiores a las de 1994 y 1992, y es cuando se produjo un incremento importante del contenido de antocianos, reflejado también por una importante evolución de los parámetros colorimétricos (a\*/b\* y Tono); resultados coincidentes con los expuestos por otros autores (Recasens, 1982; Clerinx, 1983; Recasens et al., 1984;1988; Saure, 1990; Singha et al., 1994).

La influencia de un mayor salto térmico (temperaturas máximas-temperaturas mínimas diarias), junto a las bajas temperaturas en el período previo a la recolección, también se ha señalado como favorecedor de la coloración (Blankenship, 1987; Arakawa, 1988b; Tan 1979;1980; Singha et al., 1994). Sin embargo, en las experiencias se dieron mayores diferencias en las temperaturas mínimas entre años (Figura 1-21), que en sus correspondientes saltos térmicos; por lo que puede concluirse que las temperaturas mínimas en 1993, tuvieron un mayor efecto en la síntesis de antocianos, que el salto térmico que se dió en el período previo a la recolección. Las variaciones provocadas por el riego refrescante en la humedad ambiental relativa, no parece que tengan efecto en la síntesis de antocianos.

Finalmente, y dado que en la experiencia se compara la respuesta al riego refrescante de dos variedades, es de interés agronómico, calcular la significación de la interacción *riego x variedad*, especialmente en la recolección, para lo cual se introdujo el factor <u>variedad</u> en el modelo de análisis de la varianza. Considerando el período 1992-1994, la interacción *riego x variedad* fué significativa solamente en el momento de la recolección (*Figura 1-31*), por lo que la respuesta de cada variedad a las diferentes estrategias de riego fué diferente, presentando '*Early Red One*' una menor variación por el efecto del riego, con respecto a '*Oregón Spur*'. En la fecha anterior a la recolección, no se dieron diferencias entre variedades para ninguno de los tratamientos (mediodía, noche, testigo); mientras que en la recolección solamente se dieron diferencias para el testigo, correspondiendo los mayores contenidos a '*Early Red One*' y los menores a '*Oregón Spur*', lo que indica que además de los factores ambientales (Clerinx, 1983; Williams et al., 1989; Saure, 1990; Lancaster, 1992), el genotipo o la variedad, tiene una influencia directa en la síntesis de antocianos y en la coloración de los frutos (Arakawa et al., 1986; Arakawa, 1988b);

#### Figura 1-31

Los resultados obtenidos para los contenidos de antocianos, han sido similares a los expuestos para los parámetros colorimétricos, y ponen de ponen de manifiesto <u>la influencia</u> de los factores fecha, año y variedad, tanto en los parámetros colorimétricos como en el contenido de antocianos del fruto.

El factor fecha, presentó una interacción significativa con el riego, lo que indica la importancia de este factor en la coloración de los frutos; así mismo el factor año, ha tenido una influencia significativa en -:nel color, dado que éste se ha visto incrementado en años como el 1993, con respecto a 1994 y 1992. Con respecto al riego, y analizando conjuntamente los tres años, puede concluirse que los dos tipos de riego, y en especial el riego al anochecer, proporcionó una mayor coloración de los frutos (mayor a\*/b\* y mayor contenido de antocianos, menor Tono) en las dos variedades. La respuesta al riego tambíen diferió entre variedades, produciéndose mayores incrementos de color, especialmente en el riego al anochecer, en la variedad 'Oregón Spur'.

La influencia de dichos factores y de sus interacciones en el color, ha sido puesto de manifiesto en numerosas experiencias, donde se ha evaluado la respuesta al riego refrescante de variedades del grupo '*Red Delicious*' (Chalmers et al., 1973; Recasens, 1982; Recasens et al., 1984; 1988; Arakawa et al., 1986; Arakawa, 1988b; Blizzard et al., 1988; Crassweller et

al., 1989; Fisher et al., 1989; Mayles, 1989; Williams et al., 1989; Williams, 1989;1993; Saure, 1990; Baugher et al. 1990a,b; Lancaster, 1992; Andrews, 1995).

#### 1.7.- Evolución de la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL)

En 1992, y conjuntamente con la variedad 'Starking Delicious', se determinó paralelamente al contenido de antocianos, la evolución de la actividad de la PAL, para los diferentes tratamientos de la variedad 'Early Red One', desde finales de julio hasta la recolección; observándose diferencias entre tratamientos en cuanto a: la actividad enzimática, la fecha en que esta alcanzó su máximo, y su evolución a lo largo del tiempo (Figura 1-32). En el momento de la recolección, los frutos regados al anochecer presentaron una mayor actividad enzimática que el testigo y no significativamente diferente del riego al mediodía; mientras que en la fecha previa a la recolección, el riego al anochecer fué superior al de mediodía y al testigo, siendo estos dos iguales. En la segunda fecha, los dos riegos fueron iguales y superiores al testigo; mientras que en la primera fecha (27 de julio), no existieron diferencias entre tratamientos, al no haberse iniciado aún los riegos refrescantes.

Figura 1-32

La PAL es la primera enzima que actua en la vía sintética de los antocianos, catalizando la desaminación de la L-fenilalanina. Se ha encontrado una estrecha relación, entre la actividad de la PAL y los niveles de antocianos (Faragher et al., 1977a; Harazdina et al., 1979; Blankenship et al., 1988; Cheng et al., 1991; Larrigaudiere, 1995), los cuales se incrementan durante el proceso de maduración; así mismo, a medida que se aproxima la recolección, los frutos tienen una mayor respuesta a la activación de la PAL (Larrigaudiere et al., 1995). Es por ello, que se consideró de interés conocer la relación existente entre la actividad enzimática de la PAL y la síntesis de antocianos, para lo cual, en la Figura 1-32, se ha representado de forma conjunta, la evolución de la actividad enzimática y los correspondientes contenidos de antocianos de la piel del fruto. Al igual que ocurrió en otras experiencias (Hyodo, 1971; Tan, 1979; Arakawa, 1986; Blankenship et al., 1988; Cheng et al., 1991), la síntesis de antocianos continuaba después de que la PAL hubiese ya alcanzado un máximo; observación coincidente con la realizada por otros autores en la variedad 'Starking Delicious' (Larrigaudiere, 1995; Larrigaudiere et al., 1985). La no coincidencia entre ambos máximos, y el desfase existente (de entre 10 y 20 días), puede deberse a que en la síntesis de antocianos se producen 11 reacciones enzimáticas, siendo la primera de ellas catalizada por la PAL, produciéndose por tanto una diferencia en el tiempo, entre el inicio de la síntesis y la producción final de antocianos. Este hecho, ha sido también obsevado por otros autores (Faragher et al., 1977a; Arakawa, 1986; Blankenship et al., 1988; Cheng et al., 1991), e indica que la cinética de evolución de la actividad enzimática de de la PAL, es diferente a la de la síntesis de antocianos, a pesar de de que ambas rutas de síntesis, están estrechamente relacionadas.

La estrecha relación existente, entre la actividad enzimática de la PAL y el contenido de antocianos, se puso de manifiesto estableciendo una relación simple entre ambas variables; la curva de ajuste obtenida y el coeficiente de determiación fueron:

 $y = 0.92 e^{0.72 x} R^2 = 0.98$ 

siendo: |y:contenido de antocianos (nmoles/cm²).

|x:act. enzimática de la PAL (nkat/kg peso fresco).

Puede por tanto concluirse, que las diferentes estrategias de aplicación del riego refrescante por aspersión, actuan promoviendo la actividad de la PAL, y consecuentemente la síntesis de antocianos; de hecho, el incremento de este enzima, ha sido directamente relacionado con la biosíntesis de antocianos (Faragher et al., 1977a,b; Faragher et al., 1984;

Blankenship et al., 1988). En experiencias realizadas en el presente trabajo en 1993, con la variedad *'Starking Delicious'*, de menor coloración que *'Early Red One'*, la actividad enzimática de la PAL fué aproximadamente la mitad (<u>Figura 1-73</u>), lo que indica una relación entre la actividad de dicha enzima y los contenidos finales de antocianos.

#### 1.8.- Relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos del fruto

La medida instrumental del color con un colorímetro portatil, es rápida, no destructiva y permite realizar determinaciones *in situ* del color, en comparación con la determinación cuantitativa del contenido de antocianos de la piel del fruto, que es laboriosa, costosa en tiempo, y destructiva. Además el colorímetro, proporciona el color en forma de las coordenadas propuestas por la C.I.E. en 1976 (CIELAB), aceptadas internacionalmente para la medida del color. En las experiencias realizadas, se determinó para cada uno de los frutos de las diferentes muestras, tanto los valores de cromaticidad como sus correspondientes contenidos de antocianos (realizando las determinaciones de ambas variables en la misma parte del fruto), lo que ha permitido establecer relaciones entre ambas variables. El análisis se ha realizado segun la metodología expuesta en el apartado Material y métodos: *"Tratamiento estadístico"*. Numerosos autores han determinado en variedades *'Red Delicious'*, la relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos o la apreciación visual del color de los frutos, obteniendo valores de los coeficientes de determinación de entre 0,59 y 0,93 (Francis, 1975; 1980; Polesello et al., 1980; Singha et al., 1991a,b; Graell et al., 1993; Lancaster et al., 1994).

El análisis de regresión entre los parámetros colorimétricos (L\*, a\* y b\*), y los derivados a partir de éstos (Tono, Saturación y DE\*), con el contenido de antocianos correspondiente a las mismas, se ha realizado en la <u>recolección</u> de los años 1993 y 1994, para el fruto entero y por caras de cada variedad. En 1992, se realizó el seguimiento del color en el árbol por lo que no se pudo determinar el contenido de antocianos de los mismos frutos. Algunos de los modelos de <u>regresión lineal múltiple</u>, obtenidos para 1993 + 1994 (conjuntamente), 1993, 1994, cara roja (1993+1994) y verde (1993+1994), figuran en el <u>Cuadro 22</u> (tabla 1-21). Todos los modelos de regresión fueron altamente significativos (\*\*: a=0,01).

Período/cara	Ecuación del modelos de regresión: 'EARLY RED ONE'	R <sup>2</sup>
	[Intérvalo de confianza β]*	
1993 + 1994	$y = 6.3 - 0.46 a^* + 24.4 (a^*/b^*)$	0,70
	$a^* = [-0.24 - 0.68]$ ; $a^*/b^* = [$	
	26,6 \( 21,9 \)	
1993	y = -7.6 + 24.8 (a*/b*)	0,85**
	a*/b* = [26,1 + 23,4]	
1994	y = -2,6 + 16,3 L* - 3,9 b* + 11,5 sat17,9 DE*	0,63
	$L^* = [30,3 + 2,3]; b^* [-2,4 + -5,4]; sat. = [$	
	21,2 ◆ 2,8]; DE* = [ 1.0 ↑ 22.0 ].	
Cara roja	DE* = $[-1,9 + 33,9]$ ; y = 4,5 + 20,5 (a*/b*)	0,58 **
Cara roja		0,56
	a*/b* = [ 23,3 ◆ 17,7]	
Cara verde	$y = 21,1 - 1,6 b^* + 1,1 \text{ sat.}$	0,47 **
Cara verde	b* = [-1,37 ♦-1,81]; Sat. =[	0,17
	KIKILDIFCA VIK	TUA
	1,48 ♦ 0,68] 'OREGÓN SPUR'	
1993 + 1994	$y = -31,6 + 1,2 b^* + 27,3 (a^*/b^*)$	0,74**
1555 1 1554	16.3 2011 7.7 3.11	0,74
	b* = [1,7 * • -0,76]; a*/b* =[	
1002	30,9 ◆ 23,6 ]	0.01 **
1993	$y = 20.9 - 2.3 a^{*} - 2.2 b^{*} + 36.1 (a^{*}/b^{*}) - 0.8$ Tono	0,91 **
	$a^* = [-1,5 • -3]; b^* = [3,4 • 0,9]; a^*/b^* = [$	0 1
7	41,2 • 31,1];	- C
	Tono = [-0,26 *◆-1,42]	
1994	y = 10.7 + 12.6 (a*/b*)	0,58**
10.00	a*/b* [14,4 ◆ 10,8 ]	
Cara roja	$y = -58.7 + 2.6 b^* + 32.3 (a^*/b^*)$	0,52 **
	b* = [ 3,7 • 1,4 ]; a*/b*=[	
	39,1 ♦ 25,4 ]	
Cara verde	y = -30.2 + 25.3 (a*/b*) - 0.45 Tono	0,45**
	a*/b* = [30,1 • 20,5]; Tono = [	
	0,57  • 0,33 ]	

Cuadro 22. Modelos de regresión lineal múltiple, intérvalos de confianza de las variables, coeficientes de determinación (R²), y significación de diferentes modelos de regresión lineal múltiple, entre el contenido de antocianos y los correspondientes valores colorimétricos de las variedades 'Early Red One' y 'Oregón Spur 'en el momento de la recolección. Años 1993 y 1994.

En la *variedad <u>'Early Red One</u>*, el valor del coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>),para 1993 y 1994 conjuntamente, fué de 0,70; mientras que considerando unicamente 1993, se elevó a

<sup>(</sup>y): contenido de antocianos.

<sup>(\*)</sup>nivel de significación α=0,05.

<sup>(\*\*):</sup> nivel de significación  $\alpha$ =0,01.

0,85, y fué de 0,63 para 1994. Ello indica que en el año 1993, de mayor coloración, la relación ente las variables colorimétricas y el contenido de antocionos fué mejor que en años de menor coloración como 1994; sin embargo, en las experiencias realizadas con la variedad *'Starking Delicious'*, los mayores valores correspondieron a 1994. Si se consideran los valores conjuntos de los dos años, el R<sup>2</sup> es intermedio a los mismos; con respecto a las caras, la roja, presentó una mejor relación que la verde. Los valores obtenidos con la variedad *'Oregón Spur* 'fueron similares, aunque se observa una mayor diferencia entre años; destaca el elevado valor de R<sup>2</sup> obtenido para 1993 (0,91).

Considerando conjuntamente los años 1993+1994, los valores obtenidos son aceptables ya que oscilan entre 0,70 y 0,74; y son similares a los obtenidos en experiencias similares con variedades 'Red Delicious' (Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991a,b; 1994; Graell et al., 1993). También es importante destacar, que en la mayoría de modelos de regresión lineal múltiple, aparece el ratio a\*/b\*, que se considera que está bien relacionado con la apreciación visual del color, y con los contenidos de antocianos (Singha et al., 1991a,b).

Complementariamente, se realizó un análisis de <u>regresión simple</u> entre el contenido de antocianos y los valores colorímetricos; para cada una de las variables L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*, y en la recolección, se buscó el modelo de regresión simple que proporcionara un mejor ajuste (mayor R²) entre dichas variables; considerando de forma conjunta y de forma separada los años 1993 y 1994, para el fruto entero y por caras de ambas variedades. En la *Figura 1-33*, se han representado las regresiones que presentaron un mejor ajuste, para los valores conjuntos de 1993 y 1994, y que fueron significativas (a 0,05), indicando para cada caso la ecuación y el coeficiente de determinación. El mejor ajuste, correspondió al ratio a\*/b\* y al Tono, obteniéndose coeficientes de determinación similares para las dos variedades, que han oscilado entre 0,74 y 0,80.

## Figura 1-33

Las regresiones simples correspondientes a  $\underline{1993}$  proporcionaron los mejores ajustes; así, para 'Early Red One' los mejores coeficientes de determinación (R²) fueron: L = 0,91; b\*= 0,89; a\*/b\*= 0,89; Tono = 0,89 y DE\*= 0,85. Los correspondientes a 'Oregón Spur' fueron: L = 0,93; b\*= 0,91; a\*/b\*= 0,92; Tono = 0,92 y DE\*= 0,91. En  $\underline{1994}$  para 'Early Red One', los mejores ajustes fueron: L\*= 0,63; a\*= 0,65; b\*= 0,62; a\*/b\*= 0,66 y Tono = 0,69. Para 'Oregón Spur' se obtuvieron los siguientes valores: L\*= 0,55; a\*/b\*= 0,51; Tono = 0,53. Por caras estos valores descendieron para ambas variedades.

Considerando conjuntamente los años 1993 y 1994, además de las regresiones expuestas en la Figura 1-33, se obtuvieron valores ligeramente inferiores para L\*, b\* y DE\*. En todos los casos, el parámetro colorímetrico Saturación, fué el que peor se relacionó con el contenido de antocianos; mientras que para a\*, se obtuvieron valores casi siempre inferiores a a\*/b\* y al Tono. Las mejores ecuaciones de ajuste correspodieron, generalmente, a los tipos exponencial y potencial, y en menores ocasiones a logarítmicos y polinómicos. Destacar finalmente, que los coeficientes de determinación obtenidos con las regresiones simples, fueron superiores a los correspondientes a las regresiones lineales múltiples, tanto para 1993 como para 1994, analizados de forma conjunta o separada.

Para el año 1994, se realizó una estimación visual de la coloración de los frutos, expresando el resultado en una escala hedónica de 0 a 10, correspondiendo los frutos con menor color al valor 0 y los de máximo atractivo o color al valor 10. Posteriomente, se relacionó dicho parámetro con el contenido de antocianos de los mismos, calculando diferentes modelos de regresión simple; los valores de los coeficientes determinación fueron 0,75 y 0,68, para 'Early Red One' y 'Oregón Spur', respectivamente. Cuando el ratio de apreciación visual del color se relacionó con las variables colorimétricas, el mejor ajuste se

obtuvo para a\*/b\* y Tono, oscilando R² entre 0,67 y 0,85; mientras que el peor correspondió a la Saturación. En todos los casos, las ecuaciones de ajuste fueron exponenciales o potenciales.

Los resultados obtenidos, ponen de manifiesto el elevado porcentage de variabilidad explicado por los modelos de regresión para ambas variedades, existiendo una relación lo suficientemente alta, que permite explicar o predecir el contenido de antocianos a partir de uno o varios parámetros colorimétricos, lo que posibilitaría la medición instrumental del color. Análogos resultados se han obtenido con variedades 'Red Delicious' por otros autores, constatándose que en variedades de coloración uniforme (similares a 'Early Red One') o ligeramente estriada ('Oregón Spur'), la relación es mejor que en variedades de color estriado como 'Starking Delicious' (Knee, 1980). Este hecho, se ha puesto en evidencia en los ensayos realizados con la variedad 'Starking Delicious', dado que el mejor valor obtenido del coeficiente de determinación fué solamente de 0,59; mientras que con 'Topred Delicious', dicho valor fué de 0,80; a pesar de ello, no siempre las variedades de más alta coloración han proporcionado los mejores ajustes. En otras experiencias se indica, que los modelos de regresión calculados separadamente para cada variedad, ofrecen mejores ajustes, que los obtenidos de forma conjunta para varias variedades (Singha et al., 1991b).

Figura 1-34 Figura 1-35

Figura 1-36

## 1.9.- Influencia del riego refrescante en los parámetros de calidad del fruto

El efecto del riego refrescante por aspersión en la coloración de los frutos, se ha analizado detalladamente en los apartados anteriores; sin embargo, además del color, otros parámetros como: la firmeza, el contenido de sólidos solubles, la acidez, la relación sólidos solubles/acidez, y el calibre, son determinantes para la valoración final de los frutos. Dichos parámetros, se determinaron en el momento de la recolección de los años 1992, 1993 y 1994, para los diferentes tratamientos (*Cuadro 23 de la tabla 1-22*).

'EARLY RED ONE'												
Parámetro	Riego	1992	1993	1994	Interacción AÑO							
~ ··· 1		<b>5</b> 0.1	7651	00.0.1	x RIEGO							
Calibre <sup>1</sup>	Noche	79,1 a	76,5 b	82,3 ab	ns							
(mm)	Mediodía	81,9 a	77,2 a	83,0 a								
2	Testigo	74,8 b	75,6 e	81,5 b	*							
Firmeza <sup>2</sup>	Noche	7,6 b	7,2 b	6,5 ab								
(kg)	Mediodía	7,8 a	7,4 a	6,6 a								
	Testigo	7,3 c	7,0 c	6,3 b								
Sólidos	Noche	9,9 b	11,6 b	12,8 a	**							
Solubles <sup>3</sup>		40-										
(°Brix)	Mediodía		11, 3 ab	12,6 ab								
3	Testigo	10,5 a	11,7 a	12,4 b								
Acidez 3	Noche	2,6 b	2,4 ab	2,1 a	**							
(g/l)	Mediodía	2,5 b	2,5 a	2,2 a								
	Testigo	2,7 a	2,3 b	2,2 a								
	Noche	3,8 a	4,8 a	6,0 a	**							
Sólidos s./ acidez <sup>3</sup>	Mediodía	4,2 b	4,5 b	5,8 ab								
	Testigo	3,9 a	4,9 a	5,6 b	1 0 7 1							
			NSPUR'	A Y	- 1 K 1 U							
Calibre 1	Noche	79,1 ab	78,9 b	80,1 a	ns							
(mm)	Mediodía		80,3 a	80,9 a	*077							
1 199	Testigo	78,7 b	78,7 b	79,5 a								
Firmeza <sup>2</sup>	Noche	7,8 a	7,0 b	6,6 ab	**							
(kg)	Medíodía	7,7 a	7,2 a	6,7 a	a J.							
8	Testigo	7,3 b	6,7 e	6,4 b								
Sólidos Solubles <sup>3</sup>	Noche	11,4 b	11,6 b	12,8 a	**							
("Brix)	Medíodía	10,8 a	11,7 b	12,6 b	Н а							
DIA	Testigo	11,2 b	11,9a	12,5 b								
Acidez 3	Noche	2,3 b	2,3 b	2,3 b	**							
(g/l)	Mediodía	2,5 b	2,5 a	2,3 b								
(8/1)	Testigo	2,9 a	2,6 a	2,1 a								
	Noche	4,9 a	4,9 a	5,5 b								
Sólidos s./	Mediodía		4,6 b	5,4 b	**							
acidez <sup>3</sup>	Testigo	3,8 c	4,5 b	5,8 a								

*Cuadro 23:* Influencia de dos sistemas de riego refrescante por aspersión, en diferentes parámetros de calidad de los frutos de las variedades *'Early Read One'y 'Oregón Spur'*; años 1992, 1993 y 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0,05$ ). Se indica la significación de la interacción  $a\tilde{n}o\ x\ riego$ .

- (1) Cada valor corresponde a la media de 70 determinaciones.
- (2) Cada valor corresponde a la media de 140 determinaciones.
- (3) Cada valor corresponde a la media de 5 determinaciones.
- (ns) no significativo.
- (\*),(\*\*): nivel de significación  $\alpha$ =0,05 y  $\alpha$ =0,01, respectivamente

Para 'Early Red One', el calibre del fruto presentó diferencias entre tratamientos los tres años, correspondiendo los mayores valores al riego al amanecer y los menores al testigo, obteniéndose con el riego al anochecer valores intermedios; comportamiento similar se obtuvo con el peso del fruto. La firmeza se vió mejorada por el riego refrescante, dado que se

obtuvieron los mayores valores para el riego al mediodía y los menores para el testigo, a excepción de 1994. El contenido de sólidos solubles, fué diferente según los años, obteniéndose valores similares entre el testigo y el mediodía los años 1992 y 1993; mientras que en 1994, hubo diferencias entre el riego al anochecer y el testigo. Mayores valores de acidez se asocian a una mayor calidad gustativa, aunque en este parámetro no hubo un efecto consistente del factor riego, y en 1994 no hubo diferencias entre tratamientos. Para la relación sólidos solubles/acidez, no hubo diferencias entre el testigo y el riego al anochecer en 1992 y 1993, y sí en 1994.

La variedad 'Oregón Spur', presentó diferencias en el calibre entre tratamientos en 1992 y 1993, pero no en 1994; el calibre del riego al mediodía fué superior al testigo, en 1992 y en 1993. El riego al mediodía, mejoró la firmeza con respecto al testigo y al riego al anochecer en 1993. Los contenidos de sólidos solubles y la acidez, no se vieron modificados de una forma consistente por el riego refrescante, mientras que la relación entre dichos parámetros, fué superior en 1992 y en 1993. Para las dos variedades, la interacción año x riego fué significativa para todos los parámetros, a excepción del calibre y del peso de los frutos, lo que indica que la respuesta al riego de los mismos, se vió afectada de forma distinta por el factor año.

Los calibres obtenidos, pueden considerarse adecuados para variedades del grupo 'Red Delicious' en condiciones normales de cultivo, dado que en ambos casos superan los 75 mm. Los valores de firmeza, se encuentran mayoritariamente en el intérvalo 7-7,5 considerado como óptimo (Urbina, 1990), correspondiendo los menores valores a 1994, que fué el año más calido; similares resultados se han obtenido con las variedades 'Starking Delicious' y 'Topred Delicious' en el presente trabjo. El contenido de sólidos solubles fué, para la mayoría de tratamientos, superior a 11º Brix (Urbina, 1990), encontrándose dentro del rango óptimo de 12-14º Brix (Herrero et al., 1992). La acidez, no alcanzó los 3g/l, considerada como adecuada para una buena calidad gustativa (Duran, 1983; Delhom, 1986), lo que puede deberse a que, como característica varietal, tanto 'Early Red One' como 'Oregón Spur', presentan una acidez inferior a otras variedades como 'Topred Delicious' o 'Starking Delicious', consideradas éstas últimas de mayor calidad gustativa. Este hecho, se ha puesto de manifiesto en el Capítulo II, donde se ha realizado un estudio comparativo de 8 variedades del grupo 'Red Delicious'.

El factor año influyó, además de en la coloración de los frutos, en el calibre, firmeza y contenido de sólidos solubles (datos no expuestos). En la variedad 'Early Red One', el menor calibre correspondió para todos los tratamientos a 1993, que fué el año con mayores producciones, no dándose diferencias para 'Oregón Spur'. Con respecto a la firmeza, se dieron diferencias entre años para las dos variedades, correspondiendo los mayores valores a 1992 y los menores a 1994, que fué el año de peor coloración, debido probablemente a que las temperaturas fueron superiores. El contenido de sólidos solubles, también presentó diferencias entre años, correspondiendo los mayores valores a 1994 y los menores a 1992; mientras que para el resto de parámetros no hubo diferencias significativas entre años. Los resultados expuestos indican diferencias, que pueden deberse además de al año, a otros factores como: variedad, edad de los árboles, producción, zona, sistema de riego y probablemente al estado fisiológico del fruto en el momento de la recolección (Crassweller et al., 1989; Baugher et al., 1990a; Williams, 1993).

Teniendo en cuenta, para el período 1992-94, el conjunto de parámetros de calidad del fruto, puede concluirse que la mayoría de éstos se vieron mejorados por el efecto del riego refrescante, siendo la respuesta similar para las dos variedades. De las dos estrategias de riego, fué el aplicado al mediodía el que proporcionó, en general, valores superiores para el

peso del fruto, firmeza, sólidos solubles y acidez; mientras que el aplicado al anochecer, no diferió del testigo en el peso del fruto y la acidez.

Los resultados expuestos, son coincidentes con los obtenidos en trabajos previos con variedades de manzana del grupo 'Red Delicious', donde se aplicaba diariamente el riego refrescante, de forma continua o cíclica, durante las horas de máximo calor. El riego reducía el estrés hídrico y los paros en el crecimiento del fruto cuando se dieron temperaturas elevadas, consecuentemente, tanto las producciones como la calidad de los frutos se incrementaba (Barbee, 1971; Recasens, 1982; Recasens et al., 1984, 1988; Williams, 1993). En la variedad de pera 'Bartlett', el riego refrescante por aspersión redujo la firmeza del fruto, anticipándose la fecha de recolección en una semana, y incrementó su calibre (Lombard et al., 1966).

Sin embargo, en trabajos realizados por Unrath (1972a,b) con la variedad 'Red Delicious', el peso del fruto y la firmeza, no se vieron influenciados de forma consistente por el efecto del riego refrescante, presentando los frutos refrescados un mayor contenido de sólidos solubles. Williams (1993) y Lowell (1981), obtuvieron un mayor contenido de sólidos solubles, y mayor acidez, en los frutos sometidos a riego refrescante, aplicado de forma cíclica al mediodía, cuando las temperaturas eran máximas; retrasándose significativamente la madurez en los frutos refrescados (Williams, 1993). En experiencias con la variedad 'Starking Delicious', el riego refrescante aplicado al alcanzarse las temperaturas diarias máximas, incrementaron el peso del fruto, el contenido en azucares y la acidez, no afectando significativamente a la madurez (Recasens, 1982; Recasens et al., 1988).

Los resultados expuestos, coinciden con los obtenidos en otras experiencias sobre riego refrescante realizadas en climas calurosos, donde la planta está sometida a períodos importantes de estrés hídrico. En estas condiciones, el riego aplicado al mediodía, tiene un efecto en la mejora de los principales parámetros de calidad, al provocar un refrescamiento del ambiente, y proporcionar condiciones ambientales más favorables al desarrollo del fruto.

En el riego aplicado al anochecer, los resultados no difieren en general del testigo, dado que las condiciones ambientales de la plantación, en el momento de aplicarse el riego, son muy diferentes a las que se dan al mediodía.

## 1.10.- Conclusiones

Los resultados obtenidos en las experiencias de riego refrescante por aspersión, con las variedades 'Early Red One' y 'Oregón Spur' durante los años 1992, 1993 y 1994, permiten extraer las siguientes conclusiones:

- ⇒La aplicación del riego refrescante produjo modificaciones de la temperatura y de la humedad relativa ambiental.
- ⇒Para las dos variedades, la aplicación del riego refrescante, tanto al mediodía como al anochecer, modificó los valores de los parámetros colorimétricos de los frutos; la mayor coloración, tanto en la recolección como en la fecha previa, se obtuvo con el riego aplicado al anochecer.
- ⇒En el momento de la recolección, el mayor contenido de antocianos correspondió también al riego aplicado al anochecer, con el que se obtuvo además una mayor precocidad en la síntesis de antocianos.
- ⇒La modificación de los parámetros colorimétricos y de los contenidos de antocianos por el efecto del riego refrescante fué más importante en 1994, año en el que se dieron condiciones climáticas más desfavorables al desarrollo del color que en 1992 y en 1993.

- ⇒El factor año influyó significativamente en la coloración, correspondiendo el mayor color al año 1993, en el que se dieron las temperaturas más bajas. En dichas condiciones, la aplicación del riego refrescante no modificó el color en la variedad 'Early Red One', aunque sí lo incrementó en la variedad 'Oregón Spur'.
- ⇒La acumulación de antocianos y la evolución de los valores de cromaticidad fueron más importantes durante los 20 días previos a la recolección, especialmente en el caso de los frutos tratados con riego refrescante; en dicho período se produjo una evolución diferencial entre los diferentes tratamientos.
- ⇒La distribución del color entre las dos caras del fruto, fué más uniforme en la variedad 'Early Red One' que en 'Oregón Spur'; las diferencias de color entre caras fueron más importantes en 1994.
- ⇒La respuesta al riego refrescante fué más importante en variedades de menor coloración como 'Oregón Spur', con respecto a 'Early Red One', la cual muestra una buena aptitud a la adquisición del color.
- ⇒Las dos estrategias de riego refrescante promovieron la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL), con respecto al testigo. La máxima actividad de la PAL se anticipó con respecto a los contenidos máximos de antocianos, mostrando un desfase de 17 días entre ambos.
- ⇒En la recolección, se puede realizar una buena predicción de los contenidos de antocianos en base a los valores de cromaticidad obtenidos con el colorímetro, siendo los parámetros colorimétricos a\* b\* y Tono, los que proporcionaron el mejor ajuste para las dos variedades.
- ⇒Los parámetros de calidad del fruto se han visto, en general, mejorados por el riego refrescante, en especial la firmeza y el contenido de sólidos solubles, correspondiendo los mejores valores al riego aplicado al mediodía.

## 2.- VARIEDAD 'TOPRED DELICIOUS': AÑOS 1993 Y 1994

'Topred Delicious' es una variedad ampliamente cultivada en la zona frutícola de Lleida, dado que se introdujo como alternativa de mejora a la variedad 'Starking Delicious', en el proceso de renovación de las plantaciones. A pesar de aportar una mejor coloración, ésta es insuficiente muchos años, por lo que es necesaria la recolección en varias pasadas, con el objeto de que condiciones ambientales más favorables (al retrasar la recolección), permitan un color aceptable de los frutos. Es por ello, que en plantaciones establecidas, se ha buscado diferentes alternativas para su mejora, siendo la aplicación del riego refrescante por aspersión, una de las de mayor interés.

Las experiencias de riego refrescante, se realizaron durante los 1993 y 1994. Las fechas de inicio, plena y final de floración de la variedad *'Topred Delicious'*, fueron las siguientes:

1993: 6 de abril, 11 de abril y 20 de abril.

1994: 22 de marzo, 29 de marzo y 5 de abril.

Con las experiencias planteadas durante los años 1993 y 1994, se ha pretendido conocer la respuesta al riego refrescante por aspersión, en lo referido a una posible anticipación del color, y a un incremento del mismo. El riego refrescante, solamente se aplicó con el objetivo de refrescar el ambiente, y no como aporte hídrico, dado que la plantación se regaba periódicamente con el sistema de riego a manta.

Se ha comparado el efecto del riego refrescante por aspersión, aplicado entre 25 y 30 días antes de la recolección de los años 1993 y 1994, durante dos horas diarias, y en dos momentos del día: mediodía (15h a 17 h) y al anochecer (21h a 23h), en la modificación de las condiciones ambientales y consecuentemente en la coloración (parametros colorimétricos medidos con un colorímetro y el contenido de antocianos), y en los parámetros de calidad de los frutos. En 1994, se introdujo una estrategia de riego complementaria, que fué la aplicación del riego refrescante al amanecer (6h a 8h); disponiendo siempre de un testigo sin la aplicación del riego por aspersión. Se desconocía el efecto que pudieran tener dichas estrategias de riego en el color de los frutos, aunque se disponía de experiencias con variedades 'Red Delicious' sometidas a riego refrescante, en diferentes momentos del día, para la mejora del color (Barbee, 1971; Recasens, 1982; Recasens et al., 1981;1988; Lowell, 1981; Evans, 1993a,b; Williams, 1993; Warner, 1995b,d).

Numerosas referencias, evidencian el efecto beneficioso en el color, de la aplicación del riego refrescante, de forma cíclica, en el momento de máximas temperaturas (Williams et al., 1989; Williams, 1993; Warner, 1995b); pero las referencias sobre su aplicación al anochecer y al amanecer, son escasas (Evans, 1993a).

El riego se aplicó de forma ininterrumpida durante 2 horas diarias, aportando unos 8 l/m² y día. En experiencias previas (Lombard et al., 1966; Drake et al., 1981; Recasens et al., 1981), este tipo de riego también se había aplicado de forma continua. En dichos trabajos, se había escogido como duración del período de riego, dos horas, que se considera que es el tiempo necesario para refrescar el fruto en su totalidad (hasta el interior). Este hecho se comprobó en las presentes experiencias, midiendo la temperatura interna del fruto con una sonda de contacto.

## 2.1.- Análisis de las condiciones climáticas de los años 1993 y 1994

En la *Figura 1-37*, se ha representado la evolución de las temperaturas máximas y mínimas correspondientes al período 9 de agosto-11 de septiembre, de los años 1993 y 1994, período que precedió a la recolección de la variedad *'Topred Delicious'*.

#### Figura 1-37

Las temperaturas diferieron de forma importante entre los años 1993 y 1994, especialmente las mínimas diarias en el período 21 de agosto-11 de septiembre. En 1994, tanto las máximas como las mínimas, correspondieron a las típicas de climas calurosos, mientras que en 1993 las mínimas fueron inferiores a las de 1994, con diferencias de hasta 10°C.

Se calculó el salto térmico diario, o diferencias entre temperaturas máximas y mínimas diarias, en el período previo a la recolección de los años 1993 y 1994, por su posible influencia en la síntesis de antocianos (Tan, 1979;1980; Blankenship, 1987; Arakawa, 1988b; Saure, 1990). El resultado se ha expresado como porcentage en forma de área para los años 1993 y 1994 (*Figura 1-38*); la diferencia acumulada entre temperaturas máximas y mínimas, fué poco importante y superior en 1994, en un 6%, con respecto a 1993, a pesar de que en este año, las temperaturas mínimas fueron inferiores; ello se debió, a que también en 1993, las temperaturas máximas fueron inferiores. Puede deducirse, que fué más importante para el color de los frutos, las diferencias entre las temperaturas mínimas diarias correspondientes a los dos años, que el salto térmico acumulado entre los mismos; hecho puesto también de manifiesto por otros autores (Uota, 1952; Unrath, 1972a; Clerinx, 1983; Recasens et al., 1983; Faragher et al., 1984; Williams, 1989; Williams et al., 1989;1993).

Figura 1-38

Si de forma análoga, se analiza la humedad relativa ambiental para el mismo período, se obtienen resultados similares a los expuestos para las temperaturas. La diferencia acumulada, entre la humedad relativa máxima y mínima, fué para 1993 del 48%, y para 1994 del 52%, correspondiendo la mayor diferencia, entre humedades relativas maxima y mínima, al año 1994, que fué cuando se dió el mayor salto térmico.

Variaciones en las temperaturas, han llevado siempre implicitas variaciones en la humedad relativa ambiental. Para ilustrar dicha relación, se realizó el análisis de regresión entre las temperaturas horarias y su correspondiente humedad relativa, en el período 9-31 de agosto de 1994, obteniéndose valores del coeficiente de determinación (R²) = 0,93. Ello indica la extrecha dependencia entre ambas variables, observándose una relación inversa entre las mismas. Estos resultados, son similares a los expuestos en el Apartado 1, para las variedades 'Early Red One' y 'Oregón Spur'

(Figura 1-23).

## 2.2.- <u>Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura y en la humedad relativa ambiental</u>

Durante los años 1993 y 1994, se realizó el seguimiento de las temperaturas y de la humedad relativa ambiental en la plantación, para los diferentes tratamientos de riego y desde el momento en que éstos se iniciaron, mediante la instalación de termohigrógrafos, lo que permitió conocer, las modificaciones ambientales que se producían en el seno de la plantación. En la *Figura 1-39*, se ha representado la evolución de dichas variables a lo largo de los días 15 y 16 de agosto de 1994, en los cuales se aplicaron los riegos refrescantes al mediodía, al anochecer, y al amanecer, con una duración para cada uno de ellos de dos horas.

El riego refrescante al <u>amanecer</u> (6h-8h), permite aprovechar el efecto beneficioso que tiene en el color, la disminución de temperaturas que se produce de forma natural hasta la salida del sol o punto de rocío; disminuyendo la temperatura mínima entre 2 y 4°C, con respecto al testigo, y entre 1 y 3°C, con respecto al riego al anochecer. Así mismo, el fruto se encuentra durante más tiempo a temperaturas más bajas, con respecto al riego aplicado al mediodía y al testigo; la disminución de temperatura, no es tan importante como en el riego al mediodía o el riego al anochecer. Ello es debido, a que existe como factor limitante del enfriamiento, la elevada humedad ambiental, que se aproxima a la saturación; por tanto la evaporación de agua se ve limitada por la capacidad de la atmósfera de absorber más vapor, dado que se alcanzan humedades relativas de entre el 94 y el 98%.

#### Figura 1-39

El efecto de la aplicación del riego al <u>mediodía</u> (15h-17h), y al <u>anochecer</u> (21h-23h), en la temperatura y en la humedad relativa ambiental, es similar al expuesto en el apartado anterior para las variedades *'Early Red One'* y *'Oregón Spur'*, y ambos provocan disminuciones de las temperaturas (más importantes pero de menor duración, en el riego al mediodía), e incrementos de la humedad de entre el 10 y el 50%.

Tanto en el <u>testigo</u>, como en el riego al anochecer, y al amanecer, las temperaturas máximas diarias se alcanzaron alrededor de las 16 horas, y las mínimas entre las 7 y las 8 de la madrugada. En el riego al mediodía, las máximas se dieron alrededor de las 18 horas, y las mínimas igual que en el resto de riegos. Con respecto a la humedad relativa, la evolución es inversa a la seguida por las temperaturas (*Figura 1-39*), alcanzándose la mínima, cuando se dió la temperatura máxima, y viceversa.

El riego refrescante aplicado, ya sea a mediodía, al anochecer o al amanecer, provoca una modificación importante tanto de las temperaturas (máximas y mínimas), como de la

humedad relativa ambiental en el seno de la plantación. La capacidad de refrescamiento, está estrechamente relacionada o condicionada con la humedad relativa, dado que la disminución de la temperatura, implica siempre un incremento de la misma. Desde el punto de vista de la síntesis de antocianos, el efecto del riego radica en la modificación de las temperaturas en los 20 a 25 días previos a la recolección, disminuyendo las temperaturas máximas (riego al mediodía), o las mínimas (riego al anochecer y al amanecer).

Las disminución de las temperaturas, durante la noche ó durante el día, incrementa la síntesis de antocianos, dado que se disminuye la perdida de azucares a lo largo de la noche a traves de la respiración (riego de noche), y se incrementa la actividad fotosintética durante el día, al aliviar el estrés hídrico de la planta (riego al mediodía). En ambos casos, se incrementa la disponibilidad de azucares necesarios para la síntesis de antocianos (Jones, 1973; Faragher et al., 1984; Mayles, 1989; Williams, 1989; Willet, 1989). Es por ello, que modificaciones provocadas por el riego refrescante, o diferencias estacionales entre años, influyen en la síntesis de antocianos

## 2.3.- Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura interna de los frutos

La capacidad de enfriamiento del riego refrescante, se debe a la evaporación del agua de la superficie del fruto, o de cualquier parte mojada del árbol. Se quiso conocer, la modificación de temperaturas que ocasionaba el riego refrescante en el interior del fruto; para ello en el año 1994, y justamente en el momento en que finalizaba la aplicación de cada una de las diferentes estrategias de riego refrescante, se procedió a medir la temperatura interna del fruto utilizando un termómetro digital con sonda de contacto.

Se determinaron, en cuatro fechas, las temperaturas de los frutos correspondientes a los diferentes tratamientos de riego, siempre en comparación con el testigo y para frutos situados a la sombra; para cada determinación se utilizaron 5 frutos, situados en posiciones similares en el árbol y de calibre similar. Los resultados obtenidos se exponen en el <u>Cuadro 24</u> (tabla 1-23).

El riego refrescante, produjo disminuciones de temperatura en el interior del fruto, de entre 3 y 6 °C, dependiendo del momento del día en que se aplicó. La temperatura a las 15 horas, de los frutos situados al sol, era superior en unos 8°C, a la de los frutos situados en la sombra.

Fecha (1994)	T <sup>a</sup> fruto (23 h)				to	T <sup>a</sup> ambiente (17 h)		T <sup>a</sup> fruto (8h)		T <sup>a</sup> ambiente (8h)		
	Noche	Testi.	Noche	Testi.	Medi	Tes.	Medi.	Tes.	Aman	Testi	Aman.	Testi
12 agosto	20,7 *	22,9	20,3	22,6	28,7	34,2	31,1	32,8	16,8	17,6	17,1	19,0
18 agosto	17,5	19,2	17,0	19,4	26,9	30,9	31,6	33,4	14,3	15,5	14,9	15,9
1 septiem.	20,0	22,6	20,5	21,7	29,4	31,8	27,6	29,8	17,0	18,6	17,0	18,3
8 septiem.	13,0	15,2	13,4	15,6	25,7	27,9	25,6	25,8	18,4	20,1	19,2	20,9
MEDIA	17,8	20,0	17,8	19,8	27,6	31,2	28,9	30,4	16,6	18,0	16,9	18,5

Cuadro 24: Valores medios para cuatro fechas, de la temperatura ambiente y de la temperatura interna de los frutos, bajo diferentes estrategias de riego refrescante por aspersión en la variedad 'Topred Delicious'. La temperatura corresponde en cada fecha, al momento en que finalizó la aplicación de cada una de las diferentes alternativas de riego, comparándose en cada momento con el testigo.

(\*): cada valor corresponde a la media de 5 determinaciones.

(Tes.): Testigo.

(Medi.): riego al mediodía.

Todas las estrategias de riego, disminuyeron la temperatura del fruto y del ambiente. Con respecto al riego al <u>anochecer</u>, tanto la temperatura del fruto como la del ambiente, se disminuyó alrededor de 2°C con respecto al testigo, aunque en algunas fechas la disminución en el fruto fué próxima los 3°C; el riego provocó también una disminución más rápida de las temperaturas con respecto al testigo. El riego al <u>mediodía</u>, fué el que originó las mayores disminuciones de temperatura, aproximándose a los 4°C, especialmente en el fruto. Ello pudo ser debido a que provocó una evaporación máxima, y por tanto un mayor refrescamiento, en comparación con los otros tipos de riego (anochecer y amanecer), en los que se alcanzó más rapidamente la humedad relativa máxima, y el refrescamiento se vió limitado. Finalmente el riego al <u>amanecer</u> provocó disminuciones de temperaturas, tanto en el fruto como en el ambiente, próximas a los 2°C.

Si se comparan las diferentes estrategías, se observa, que a pesar de que en los riegos al anochecer y al amanecer, la disminución de la temperatura del fruto es menor, el fruto permanece durante más tiempo a temperaturas más bajas, en comparación con el riego al mediodía. En este caso, una vez finalizado el riego, la temperatura vuelve a incrementarse rapidamente, debido a que las temperaturas a las 17 h son todavía elevadas. Por tanto, es probable que la disminución de la temperatura, pueda actuar de forma diferente en la síntesis de antocianos, según el tipo de riego, dado que en <u>los riegos al anochecer y al amanecer, se disminuye la temperatura mínima, y se aumenta el tiempo en que los frutos se encuentran a más baja temperatura</u>

; mientras que en el riego al mediodía, unicamente se disminuye la temperatura máxima en un período de tiempo más corto. En las experiencias planteadas, se trataba de conocer como dichas modificaciones afectaban a la síntesis de antocianos y, consecuentemente, a la coloración de los frutos. Los resultados expuestos, son similares a los obtenidos en experiencias de riego refrescante, aplicado de forma cíclica, en el momento de máximas temperturas (Gilbert et al., 1970; Proebsting et al., 1984; Williams et al., 1989; Williams, 1993; Andrews, 1995), o al amanecer, y al anochecer (Evans, 1993a).

El efecto de la disminución de las temperaturas máximas alcanzadas al mediodía, en el incremento de la síntesis de antocianos, se debe a que disminuye el estrés de la planta provocado por temperaturas elevadas; por lo que se incrementa la actividad fotosintética, disponiendo de más hidratos de carbono para la síntesis de antocianos. El riego aplicado al anochecer, disminuye la temperatura nocturna y consecuentemente la respiración de la planta, por lo que se consumen menos azucares, que se utilizaran posteriormente en la síntesis de antocianos (Jones, 1973; Williams, 1989; Williams et al., 1989; Willet, 1989; Saure, 1990; Williams, 1993).

Paralelamente a la determinación de la temperatura de los frutos, y en las mismas horas, se determinó la temperatura del agua utilizada en el riego refrescante por aspersión (*Cuadro 25*) (tabla 1-24); procedente de un embalse situado junto a la parcela. Se dieron variaciones entre días, disminuyendo la temperatura de forma importante a medida que se aproximaba la recolección. En las fechas de máximo calor (principios de agosto), la temperatura del agua era elevada (>28°C), y ello probablemente influyó a que el enfriamiento del fruto fuera menor. Sin embargo, y como han indicado diferentes autores, el refrescamiento del fruto dependería en gran medida de la evaporación del agua depositada en los frutos, o evaporada del mismo ambiente antes de alcanzar el fruto (Williams et al., 1989; Williams, 1989;1993; Evans, 1993a,b; Andrews, 1995; Warner, 1995b,d); más que de su temperatura en el momento de aplicarse. Ello es debido, a la gran cantidad de calor que necesita el agua para su

evaporación (584 cal/gr a 1 at y 25°C). La variación de la temperatura del agua de riego a lo largo del día, es poco significativa (entre 1 y 2°C), correspondiendo la mayor temperatura a las 17 horas, y la menor a las 8 horas.



FECHA	Temperatura del agua de riego   a las 23   a las 17   a las 8 horas   MEDIA   horas   horas								
	a las 23	a las 17	a las 8 horas	MEDIA					
	horas	horas							
12- agosto-1994	27,3	28,3	26,8	27,4					
18-agosto-1994	23,4	24,1	21,9	23,1					
1-septiembre-1994	22,4	26,0	24,9	24,4					
8-septiembre-1994	21,4	22,4	24,0	22,6					
MEDIA	23,6	25,2	24,4	24,					

*Cuadro 25:* Valores medios para cuatro fechas, de la temperatura del agua de riego a diferentes horas del día. Las temperaturas corresponden a la hora en que finalizaron los riegos refrescantes en el año 1994.

En la experiencia realizada con la variedad 'Starking Delicious', el agua procedía de un pozo, siendo la temperatura media inferior en 7°C, con respecto a la procedente de embalse.

## 2.4.- <u>Efecto del riego por aspersión en la evolución de los parámetros colorimétricos del</u> fruto

La variedad *'Topred Delicious'*, presenta una coloración con estrías evidentes, especialmente en la cara sombreada del fruto, y en años con condiciones climáticas poco favorables al desarrollo del color; es por ello, que en la experiencia se pretendía conocer, además del efecto del riego refrescante en el color de los frutos, hasta que punto las determinaciones del color con un colorímetro reflejaban la naturaleza del mismo. En diversas experiencias con variedades de coloración estriada, se ha puesto de manifiesto, que la relación entre ambas variables, es inferior con respecto a variedades de coloración uniforme (Singha et al., 1991a,b; Graell et al., 1993).

Se exponen los resultados obtenidos de la determinación de los parámetros colorimétricos mediante el colorímetro portatil triestímulo Minolta CR-200, para las diferentes estrategias de riego refrescante, para las diferentes fechas de muestreo, y para las dos caras del fruto. Posteriormente, y a partir de los valores de ambas caras, se han calculado los correspondientes al fruto entero. Dicha información es complementaria, dado que el análisis por caras, permite conocer la distribución del color en el fruto, y por tanto su uniformidad; mientras que el análisis conjunto del fruto, permite tener una cuantificación global de su color, y posibilita una comparación más facil entre tratamientos.

Las mediciones de color se realizaron en los frutos recolectados, y posteriormente se procedió a la determinación del contenido de antocianos. Las parámetros colorímetricos calculados, para cada fecha y para cada cara del fruto, fueron: L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*. Su interpretación desde el punto de vista de color, y su cálculo, se ha expuesto en el apartado Introducción: "El color y su medida".

Se han analizado de forma separada los años 1993 y 1994, y posteriormente ambos de forma global; su evolución en el tiempo fué la siguiente:

- \* Disminución: L\*, b\*, Tono, Saturación y DE\*.
- \* Aumento: a\* y a\*/b\*.

Los parámetros L\*, a\*/b\*, Tono y DE\*, fueron los que posteriormente en el análisis de regresión proporcionaron los mejores valores de los coeficientes de determinación. Con el parámetro L\* o luminosidad, se ha observado siempre una relación inversa con la coloración, en el sentido que cuanto mayor es ésta (valores altos de a\*/b\* y bajos del Tono), menores son los valores de L\*.

Los coeficientes de variación oscilaron entre el 4,9% y el 39%, correspondiendo los mayores a a\* y a\*/b\*, y los menores a DE\* y L\*. Cuando superaron el 60%, y/o la varianza no fué homogenea (Material y métodos: "Tratamiento estadístico"), se calcularon las medias, pero no se realizó su separación. Comparando los años, y al igual que ocurrió con otras variedades, los menores coeficientes correspondieron a 1993, que fué el año de mejor coloración; la cara verde presentó valores más elevados que la cara roja. De los diferentes parámetros, los menores valores correspondieron a L\* y a DE\* y los mayores a a\* y a\*/b\*.

#### \* Resultados año 1993

Se determinaron los parámetros colorimétricos, para cada cara del fruto, en las siguientes fechas: 12/agosto; 25/agosto y 10/septiembre (recolección). Las resultados obtenidos se exponen en el <u>Cuadro 26</u> (tabla 1-25), donde figura la separación de medias para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones. Los valores correspondientes a la primera fecha de muestreo, no difieren entre los las dos estrategias de riego y el testigo, lo cual es deseable, e indica que al iniciarse la aplicación del riego refrescante, las condiciones de partida eran similares en todos los tratamientos.

1993	12/agos	sto		25/agos	to		10/septi	embre (red	colección)
Pará./	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
Riego		- N/ Y	\ /7"	0 //	TIT			11	
L*	9 7	1.07	N. //II -	n H			_8		
Noche	$60,7^{+}$ a	56,1 <sup>++</sup> a	65,3 <sup>++</sup> a	56,1 <sup>+</sup> b	52,2 <sup>++</sup> b	59,9 <sup>++</sup> a	45,2 •a	42,9 •• b	47,6 •• b
Mediodia	60,5 a	55,8 a	65,2 a	57,7 ab	54,7 a	60,8 a	46,2 a	43,6 ab	48,8 ab
Testigo	61,9 a	55,2 a	64,5 a	58,2 a	53,7 a	62,7 a	47,2 a	44,3 a	50,2 a
a*	- 300	L 100			1/499	F 1/4			A
Noche	-0,35 a	7,9 a	-8,6 a	7,9 a	14,5 a	1,4 a	24,9 a	28,6 a	21,2 a
Mediodia	-0,40 a	8,9 a	-8,1 a	5,4 b	11,8 b	-0,90 a	23,8 a	27,6 ab	20,0 a
Testigo	1,2 a	10,0 a	-7,5 a	5,3 b	12,3 ab	-1,70 a	21,8 b	26,2 b	17,5 b
a*/b*		711m							
Noche	0,05 a	0,36 a	-0,25 a	0,38 a	0,69 a	0,07 a	1,5 a	1,9 a	1,1 a
Mediodia	0,08 a	0,41 a	-0,24 a	0,23 b	0,49 b	-0,02 a	1,4 b	1,6 b	0,90 ab
Testigo	0,14 a	0,50 a	-0,21 a	0,25 b	0,52 b	-0,03 a	1,2 b	1,5 b	0,80 b
Tono (°)									
Noche	87,5 a	71,3 a	103,8 a	72,8 b	60,0 b	85,7 b	38,2 b	31,8 b	44,5 b
Mediodia	85,7 a	68,8 a	102,7 a	78,7 a	66,5 a	91,0 a	40,1 ab	32,6 b	47,7 ab
Testigo	83,9 a	66,0 a	101,8 a	77,5 a	63,1 a	91,9 a	45,6 a	34,9 a	56,3 a

*Cuadro 26:* Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara reja (CR) y cara verde (CR), en diferentes fechas de muestreo y en la recolección. Variedad *'Toprea Delicious'*, bajo dos estrategias de riego refrescante, año 1993. Tratamientos con la misma letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

<sup>(&</sup>lt;sup>+</sup>)Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

<sup>(\*+)</sup>Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.

<sup>(•)</sup>Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.

<sup>(\*\*)</sup>Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

En el momento de la <u>recolección</u> y considerando la cara roja del frutos, se dieron diferencias significativas en la mayoría de parámetros, que indican una mayor coloración de los frutos para el riego al anochecer y al mediodía. El mayor ratio a\*/b\* correspondió al riego al anochecer, mientras que para L\*, a\* y Tono no existieron diferencias entre riegos y si entre el riego al anochecer y el testigo. La aplicación del riego al anochecer, proporcionó siempre valores diferentes al testigo, lo cual no ocurrió con el riego al mediodía. Considerando la cara verde, se obtuvieron resultados similares, que ponen de manifiesto que el riego al anochecer también favoreció el color en la cara verde, y consecuentemente en la totalidad del fruto.

En la <u>fecha previa</u> a la recolección, considerando tanto la cara roja como la totalidad del fruto, los valores de L\*, a\*/b\* y Tono, indican una coloración superior del riego al anochecer con respecto al testigo, no observándose para la mayoría de parámetros diferencias entre riegos. Para la cara verde, la mayoría de parámetros no mostraron diferencias entre tratamientos; lo que evidencia que los riegos refrescantes, y especialmente el aplicado al anochecer, propiciaron una mayor <u>precocidad</u> en la coloración de los frutos, aunque ésta no fué consistente para todos los parámetros.

El análisis de los valores de los parámetros colorímetricos por caras, indica que la distribución del color del fruto en el momento de la recolección fué bastante homogenea dado que las diferencias entre caras fueron poco importantes. Contrariamente, en la fecha previa a la recolección, las diferencias entre caras fueron muy importantes especialmente para a\* y a\*/b\*. Ello pudo ser debido, a que las temperaturas que se dieron entre ambas fechas fueron bajas, y ocasionaron una mayor coloración de los frutos en el momento de la recolección, que incluso atenuaron los efectos del riego refrescante en el color de los frutos, como lo han puesto en evidencia los trabajos realizados por diversos autores (Hulme, 1970; Proctor, 1974; Tan, 1979; Clerinx, 1983; Faragher et al., 1983; Recasens et al., 1983).

## \* Resultados año 1994

En 1994, se añadió una nueva estrategia de riego, que fué el riego refrescante aplicado al amanecer. El inicio de la aplicación delos riegos refrescantes, correspondió al día 6 de agosto, es decir unos 30 días antes de la recolección, la cual se anticipó con respecto a 1993.

Se realizaron 4 muestreos, intercalando uno adicional antes de la recolección (2 de septiembre), dado que en 1993 se observó un incremento importante del color, en los días previos a la recolección. Los muestreos se realizaron en las fechas: 6/agosto, 19/agosto, 2/septiembre y 9/septiembre (recolección). Las valores obtenidos para L\*, a\*/b\*, Tono y DE\*, se exponen en el *Cuadro 27* (tabla 1-26), donde figura la separación de medias para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones. Para la primera fecha de muestreo, que coincidió con el inicio de los riegos, no se detectaron diferencias entre tratamientos.

En el momento de la <u>recolección</u>, y considerando la cara roja, se dieron diferencias significativas para todos los parámetros colorímetricos; el ratio a\*/b\* fué superior tanto para el riego al amanecer como al anochecer, mientras que para L\*, DE\* y Tono, el riego al anochecer fué superior al testigo, y similar a los otros riegos; similares resultados se obtuvieron considerando el fruto entero. Para la cara verde, los valores de L\* y del Tono indican diferencias entre tratamientos. De ello se deduce, que los riegos al amanecer y al anochecer, proporcionaron resultados similares, que indicaban una mayor coloración que el testigo y el riego al mediodía, a pesar de que para algunos parámetros (L\* y Tono) no existieron diferencias entre riegos.

1994	6/agost	D		19/ago	sto		2/septie	mbre		9/septie.	(recolec	ción)
Parám./	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
Riego												
L*												
Noche	64,4 a	58,6 a	70,3 a	61,8 a	55,0 b	68,6 a	57,1 a	48,1 a	66,0 a	54,4 ab	44,2 b	64,4 b
Mediodía	64,8 a	59,5 a	70,2 a	62,2 a	54,2 a	70,2 a	58,4 a	49,2 a	67,6 a	55,7 ab	45,3 ab	66,2 a
Amanecer	64,2 a	57,7 a	70,8 a	62,0 a	54,1 a	69,8 a	55,7 b	46,3 b	65,1 a	51,8 b	38,4 b	65,3 a
Testigo	64,1 a	58,1 a	70,0 a	61,6 a	54,0 a	69,3 a	59,2 a	50,4 a	68,0 a	57,4 a	45,9 a	69,0 a
a*/b*												
Noche	-0,06 a	0,31 a	-0,43 a	0,17 a	0,70 a	-0,35 a	0,57 a	1,30 a	-0,15 a	0,93 a	1,9 a	-0,03 a
Mediodía	-0,13 a	0,19 a	-0,45 a	0,13 a	0,63 a	-0,36 a	0,47 ab	1,10 ab	-0,17 a	0,75 b	1,7 ab	-0,06 a
Amanecer	-0,03 a	0,35 a	-0,42 a	0,12 a	0,56 a	-0,30 a	0,62 a	1,33 a	-0,10 a	0,90 a	1,8 a	0,01 a
Testigo	-0,09 a	0,25 a	-0,44 a	0,08 a	0,54 a	-0,38 a	0,35 b	0,90 b	-0,19 a	0,59 b	1,3 b	-0,11 a
Tono (')												
Noche	95,6 a	77,9 a	113,3 a	87,9 a	66,7 a	109,1 a	70,8 a	43,0 a	98,6 a	59,7 b	29,5 b	91,4 ab
Mediodía	96,0 a	75,0 a	117,0 a	85,8 a	61,3 a	110,4 a	72,8 a	44,5 a	101,1 a	64,8 ab	34,1 ab	95,5 ab
Amanecer	91,9 a	72,4 a	111,5 a	87,1 a	64,8 a	109,3 a	69,4 a	41,0 b	97,8 a	59,0 b	28,0 b	90,1 b
Testigo	95,7 a	76,4 a	115,0 a	87,2 a	63,7 a	110,6 a	76,8 a	49,9 a	104,0 a	68,2 a	39,0a	97,3a
DE*												
Noche	72,8 a	64,6 a	81,0 a	70,2 a	61,9 a	78,4 a	65,8 a	57,7 ab	74,0 a	63,4 ab	54,9 ab	72,6 b
Mediodía	73,7 a	66,0 a	81,4 a	70,9 a	61,1 a	80,8 a	66,4 a	58,0 ab	74,8 a	64,1 ab	54,5 ab	73,8 a
Amanecer	72,9 a	64,3 a	81,5 a	70,3 a	61,6 a	79,0 a	64,0 a	56,1 b	72,0 a	62,1 b	52,8 b	72,0 a
Testigo	73,3 a	65,0 a	81,7 a	70,8 a	60,9 a	80,8 a	66,7 a	58,6 a	74,8 a	65,4 a	56,0 a	74,8 a

*Cuadro 27:* Valores medios y separación de medias, de los parámetros colorímetricos correspondientes al fruto entero (Total), cara reja (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo y en la recolección. Variedad *'Toprea Delicious'*, bajo tres estrategias de riego refrescante, año 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

En la <u>fecha previa</u> a la recolección (2 de septiembre), se obtuvieron valores similares a los de la recolección, aunque no coincidentes, dado que para la mayoría de parámetros, los valores del riego al amanecer, fueron diferentes al resto de tratamientos, indicando por tanto una mayor precocidad de la coloración. Para la cara roja, los menores valores de L\* y del Tono, correspondieron al riego al amanecer; el ratio a\*/b\* no presentó diferencias entre riegos, y sí entre el riego al amanecer y el testigo. Para la cara verde, los parámetros fueron similares entre tratamientos. En la segunda fecha (19 de agosto), tanto en el fruto entero como por caras, no se detectaron diferencias.

En las *Figura 1-40*, para ilustrar la diferencia en los parámetros colorimétricos entre las dos caras del fruto, y entre los años 1993 y 1994, se ha representado la evolución de a\*/b\* correspondientes a la cara roja y a la cara verde. Para la cara roja, se dieron diferencias entre los tratamientos de riego y el testigo, correspondiendo los mayores valores a los riegos al anochecer y al amanecer.

## Figura 1-40

Los valores de a\*/b\*, fueron similares para la cara roja en los años 1993 y 1994; mientras que para la cara verde, las diferencias entre años fueron muy importantes, lo que pone en evidencia la importancia de las temperaturas en la coloración de los frutos. Si se comparan las dos caras del fruto, para 1993, los valores de la cara roja fueron aproximadamente el doble que los obtenidos para la cara verde; mientras que en 1994 fueron entre 15 y 20 veces superiores. Un comportamiento similar se observó con el resto de parámetros colorimétricos. La mejora del color por el efecto del riego, se debió fundamentalmente al incremento de éste en la cara roja, dado que para la cara verde, no existieron diferencias entre riegos para la mayoría de valores de cromaticidad.

El análisis conjunto de los parámetros colorimétricos, en la recolección y en la fecha previa de los años 1993 y 1994, pone de manifiesto que todas las alternativas de riego aplicadas modifican los valores de colorimetría y por tanto el color de los frutos. El riego al anochecer en 1993, y los riegos al amanecer y al anochecer en 1994, fueron los que proporcionaron una mejor coloración; en 1994, el riego al mediodía proporcionó para algunos parámetros valores similares al resto de estrategias de riego. Para todos los parámetros objeto de estudio, tanto en el fruto entero como por caras, se observa que es a partir de la segunda fecha de muestreo, cuando se produce un incremento (a\*, a\*/b\*) o una disminución (L\*, Tono) importante de los mismos, y una evolución diferencial entre riegos y el testigo; debido probablemente a que el desarrollo del color tiene lugar mayoritariamente antes de la recolección (Chalmers et al., 1973; Arakawa, 1988b; Saure, 1990; Singha et al., 1994).

Figura 1-41 Figura 1-42 Figura 1-43

## 2.5.- Efecto del riego por aspersión en el contenido de antocianos del fruto

Los principales pigmentos responsables de la coloración roja de las manzanas son los pigmentos antocianos, y más concretamente el cianidín 3-galactósido. Su determinación cuantitativa, constituye uno de los métodos habitualmente utilizado para la determinación objetiva del color en manzanas, dado que mayores contenidos van asociados a una mayor coloración del fruto (Chalmers et al., 1973; Singha et al., 1991a,b; 1994).

Con respecto a 1993, se añadió una fecha de muestreo (2 de septiembre), y una estrategia de riego refrescante: riego al amanecer (6h-8h). Las determinaciones se realizaron, al igual que los parámetros colorimétricos, para las diferentes fechas de muestreo, y para las dos caras del fruto de los diferentes tratamientos (*Cuadro 28*, *ver tabla 1-27*). Los coeficientes de variación, oscilaron entre el 5,8 y el 43%, siendo mayores para el año 1994, para la cara verde y para las primeras fechas de muestreo.

Año/Riego	12/ago	12/agosto			sto					10/septi	e. (recol	ección)
1993	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
Noche	4,6 <sup>+</sup> a	6,9 <sup>++</sup> a	2,4 <sup>++</sup> a	7,1 <sup>+</sup> a	9,5 <sup>++</sup> a	4,8 <sup>++</sup> a				21,9 •a	26 ••a	17,7 <b>••</b> a
Mediodía	6,3 a	7,9 a	2,9 a	5,5 b	6,9 b	4,0 a				19,1 b	23,6 b	14,7 ab
Testigo	4,7 a	7,4 a	2,0 a	5,6 b	7,7 b	3,5 a				17,7 b	22,3 b	13,2 b
1994	6/agos	to		19/agos	19/agosto			2/septiembre			. (recole	cción)
Noche	2,4 a	4,4 a	0,57 a	4,0 a	7,2 a	0,81 a	8,1 <sup>+</sup> a	113,6 <sup>++</sup> a	2,6 <sup>++</sup> a	14,4 a	23,2a	5,6a
Mediodía	2,3 a	3,9 a	0,69 a	4,3 a	8,1 a	0,57 a	5,3 ab	8,9 bc	1,8 a	11,0 b	18,0 b	4,0 ab
Amanecer	2,7 a	4,9 a	0,42 a	3,5 a	6,6 a	0,46 a	7,1 a	11,7 ab	2,3 a	15,4 a	24,8 a	6,l a
Testigo	2,5 a	4,5 a	0,63 a	3,4 a	6,3 a	0,55 a	3,9 b	6,8 c	1,1 a	7,4 b	12,8 e	2,2 b

*Cuadro 28:* Valores medios y separación de medias de los contenidos de antocianos, correspondientes al fruto entero (Total), cara reja (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo y en la recolección. Variedad *'Topred Delicious'*, bajo diferentes estrategias de riego refrescante, años 1993 y 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ = 0,05). Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

- (<sup>++</sup>) Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.
- ()Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.
- (\*\*)Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

Las condiciones climáticas previas a la recolección del año 1994 se caracterizaron por temperaturas elevadas, siendo más caluroso que 1993. Consecuentemente, las concentraciones de antocianos, tanto en la recolección como en las fechas previas, fueron las más bajas. En el momento de iniciarse los riegos (primera fecha), no existían diferencias entre los diferentes tratamientos.

En la <u>recolección</u> del año <u>1993</u>, los mayores contenidos de antocianos, para la cara roja y para el fruto entero, correspondieron al riego al anochecer; mientras que en <u>1994</u>, se obtuvieron para los riegos al anochecer y al amanecer. Para la cara verde, no existieron en ninguno de los años diferencias entre riegos, siendo los riegos al amanecer y al anochecer, superiores al testigo. La mejora del color por el efecto del riego, se debió -especialmente en 1994- al incremento de éste en la cara roja. Análogamente ocurrió con los parámetros colorimétricos.

En la <u>fecha previa a la recolección</u> (25 de agosto de 1993), el riego al anochecer incrementó el contenido de antocianos con respecto al de mediodía y al testigo, mientras que para la cara verde, no se dieron diferencias entre tratamientos. Análogamente ocurrió en 1994 (2 de septiembre), en que los mayores contenidos correspondieron al riego al amanecer y al anochecer, no existiendo diferencias entre el de mediodía y testigo. Para la cara verde, no existieron diferencias entre tratamientos en ninguno de los dos años. Fué a partir de la segunda fecha de muestreo, cuando se produjo el mayor incremento de los contenidos de antocianos, y una evolución diferencial entre los diferentes riegos y el testigo. Ello probablemente se debió, a que el desarrollo del color (síntesis de antocianos), tiene lugar en las tres semanas previas a la recolección.

La distribución de antocianos en las dos caras del fruto, fué similar a la expuesta para el parámetro a\*/b\*. En 1993, los contenidos de la cara roja fueron superiores, en aproximadamente dos veces, con respecto a la cara verde; mientras que en 1994 lo fueron entre tres y cuatro veces (*Figura 1-44*).

El factor cara fué significativo, tanto para la recolección como para las fechas previas. En 1994, con condiciones poco favorables a la coloración, el color de la cara verde fué casi nulo, a pesar de verse incrementado por el riego, mientras que en 1993 fué muy superior; lo que pone de manifiesto la importancia de los factores año y cara en la coloración de los frutos.

#### Figura 1-44

Las diferencias de color entre caras, más acentuadas en 1994, pueden considerarse normales debido a que 'Topred Delicious' es una variedad de color poco intenso, y éste se ve favorecido por la luz, lo que pone de manifiesto que la síntesis de antocianos es, en la mayoría de variedades, fotodependiente. Este hecho, ha sido también puesto de manifiesto por otros autores (Bishop et al., 1975; Proctor et al., 1976; Mancinelli, 1985). Arakawa et al. (1986) y Arakawa (1988b), señalaron que la respuesta a la luz y la capacidad de coloración dependía además de otros factores de la temperatura y de la variedad. En experiencias expuestas en el presente trabajo con la variedad 'Early Red One', de buena aptitud a la coloración, los contenidos de antocianos fueron muy superiores, y las diferencias entre caras menores; mientras que en la variedad 'Starking Delicious' dichos contenidos fueron todavía inferiores a los de 'Topred Delicious', y las diferencias entre caras mayores (Figura 1-65). Ello pone de manifiesto, que cuanto mayor es la facilidad de coloración de las variedades, menores son las diferencias en el contenido de antocianos entre caras.

En base a los resultados expuestos para los años 1993 y 1994, puede concluirse, que las diferentes estrategias de riego modificaron significativamente los contenidos de antocianos y la coloración de los frutos; siendo los riegos aplicados al anochecer y al amanecer los que proporcionaron los mejores resultados. Estas observaciones, son coincidentes a las expuestas anteriormente para los parámetros colorimétricos, y coinciden con los resultados obtenidos por Evans (1993a); según los cuales, el riego refrescante por aspersión de forma continua mejoró el color, tanto si se aplicaba al anochecer como al amanecer.

En los dos años, fué antes de la recolección, cuando se produjo el mayor incremento de los contenidos de antocianos, y una evolución diferencial entre tratamientos, debido probablemente a que el desarrollo del color (síntesis de antocianos) tiene lugar mayoritariamente durante las dos o tres semanas que preceden a la recolección (Chalmers et al., 1973; Recasens, 1982; Arakawa, 1988b; Singha et al., 1994). Con los riegos al anochecer y al amanecer, se obtuvo una mayor precocidad en la coloración, debido al incremento de los contenidos de antocianos en las fechas previas a la recolección. Dicho incremento se debió a la mayor coloración de la cara roja, dado que para la cara verde no existieron diferencias entre tratamientos, y pone de manifiesto la importancia de la luz en la síntesis de antocianos. De lo expuesto, se deduce que las estrategias de riego que incrementaron el color en la recolección, también lo incrementaron en las fechas previas. Análogos resultados se obtuvieron por Singha et al. (1994) en variedades 'Red Delicious', con respecto a la precocidad del color. Los valores de los parámetros colorímétricos -incremento de a\*/b\*, disminución del Tono- han tenido un corportamiento similar al de los contenidos de antocianos.

El efecto beneficioso del riego refrescante, o de las diferencias entre años, se debería a la disminución de las temperaturas, dado que observaciónes realizadas por diversos autores (Diener et al., 1981; Recasens et al., 1983; Faragher et al., 1984; Williams, 1989; Williams et al., 1989; Saure, 1990; Williams, 1993), indican que las bajas temperaturas durante la noche y/o durante el día tienen un efecto positivo en la síntesis de antocianos. Las bajas temperaturas también estimulan la síntesis de antocianos al incrementar la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa -PAL- (Faragher et al., 1983), enzima que regula el primer eslabón de la síntesis de los antocianos.

## 2.6.- Significación de factores principales y de sus interacciones

La influencia del factor riego se ha analizado detalladamente en los apartados anteriores; sin embargo, la metodología de muestreo, por árboles, frutos y caras, permite obtener información de interés agronómico, acerca de la distribución del color tanto en las caras, como en los frutos y en el conjunto del árbol; y como interacciona el riego con los mismos. La no significación de dichos factores y de sus interacciones, indica mayor uniformidad del color, y una influencia no significativa del factor riego. En el *Cuadro 29* (*tabla 1-28*), se han indicado para el contenido de antocianos, L\*, a\*/b\*, Tono y DE\* la interacción de los factores: riego, árbol, fruto y cara, y de sus principales interacciones, en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994. Dichas interacciones se calcularon para todas las fechas de muestreo.

Factor	1993					1994				
	Anto.	L*	a*/b*	Tono	DE*	Anto.	L*	a*/b*	Tono	DE*
ARBOL x RIEGO	ns	ns	ns	*	ns	ns	*	**	**	ns
ARBOL x RIEGO x	* *	*	**	*	*	*	*	**	**	**
FRUTO										
CARA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
RIEGO x CARA	ns	*	*	*	ns	**	**	**	*	ns

*Cuadro 29:* Significación de algunos factores y/o de sus interacciones, para el contenido de antocianos, L\*, a\*/b\*, Tono y DE\*, de la variedad *'Topred Delicious'*, bajo dos estrategias de riego refrescante por aspersión, en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994. Se indica el nivel de significación de cada factor y/o de sus interacciones.

Anto.: Contenido de antocianos.

ns: no significativo.

(\*), (\*\*) : nivel de significación  $\alpha$ =0,05 y  $\alpha$ =0,0 1; respectivamente.

La interacción de los factores *árbol x riego*, fué significativa para la mayoría de parámetros en 1994, y para algunos en 1993, lo que indica que se dieron diferencias entre los diferentes árboles correspondientes a un mismo riego. En años de más difícil coloración, como 1994, dichas diferencias fueron más importantes. En todos los casos, la significación fué mayor, con respecto a variedades de mayor coloración (*'Early Red One'* o *'Oregón Spur'*).

La interacción triple *árbol x riego x fruto*, fué significativa para la mayoría de parámetros, lo que indica que para los diferentes árboles sometidos a un mismo riego, se dieron diferencias entre frutos. Ello pone de manifiesto, la poca uniformidad del color en el conjunto del árbol, aspecto observado también visualmente; lo que obliga a realizar varias pasadas de recolección para homogeneizar el color. A medida que avanza la edad de los árboles, la irregularidad del color es más manifiesta, debido a la poca estabilidad de algunos mutantes del grupo *'Red Delicious'* como *'Topred Delicious'* (Mol et al., 1988; Fisher et al., 1989; Buscaroli, 1995). Experiencias realizadas por Blizzard et al. (1988), indican la escasa coloración de dicha variedad, con respecto a otras evaluadas en experiencias de riego refrescante en la presente Tesis, como *'Early Red One'* y *'Oregón Spur'*.

El factor cara mostró significación para todos los parámetros, y por tanto existieron diferencias de color entre las dos caras del fruto, más importantes en años de poca coloración como el 1994. Los resultados expuestos en el apartado anterior ponen de manifiesto las diferencias de color entre caras (*Figuras* 1-40 y 1-44). La interacción *riego x cara*, fué significativa para la mayoría de parámetros y para los dos años, e indica que el riego afectó

de forma diferente a la coloración de las dos caras del fruto, incrementando el color principalmente de la cara roja. Estos resultados, difieren de los obtenidos con las variedades 'Early Red One' y 'Oregón Spur', para las cuales dicha interacción no fué, en general, significativa.

En base a lo que se acaba de exponer, puede concluirse, que existieron diferencias en el color de las dos caras del fruto, las cuales presentaron una coloración diferente según el sistema de riego, y que el color fué diferente para los frutos de un mismo árbol y entre los diferentes árboles de un mismo tratamiento.

En el apartado siguiente, se ha analizado la significación de los factores riego y año con el factor fecha, debido a su influencia en el color de los frutos.

## 2.7.- Análisis conjunto años 1993 y 1994. Influencia de los factores riego y año

## 2.7.1. -Parámetros colorimétricos

En los dos años estudiados, el incremento más importante de la concentración de antocianos, y la mayor evolución de los parámetros colorimétricos, tuvo lugar al aproximarse la recolección, lo que pone en evidencia el efecto del tiempo en el proceso de coloración de los frutos (Arakawa, 1988b; Singha et al., 1994). Para evaluar su efecto, en el análisis estadístico se introdujo el <u>factor fecha</u> y se calculó para el período 1993-1994, la interacción de los factores *fecha x riego* para los parámetros colorimétricos L\*, a\*/b\*, Tono y DE\*, y para el contenido de antocianos. Se consideraron las tres fechas de muestreo comunes a 1993 y 1994 para los diferentes tratamientos; los resultados obtenidos se exponen en el <u>Cuadro 30</u> (tabla 1-29).

Parámetro	Riego	DETERMINA	DETERMINACIONES (FECHAS)							
	المالي	1 : Primera	2 : Segunda	3 : Recolección	FECHA x RIEGO					
$L^*$	Noche	62,3 a	58,9 a	50,0 b	*					
	Mediodía	62,9 a	60,5 a	50,6 ab						
	Testigo	61,7 a	59,7 a	52,2 a						
a*/b*	Noche	-0,04 a	0,26 b	1,30 a	*					
	Mediodía	-0,02 a	0,16 a	1,00 b						
	Testigo	0,04 a	0,10 a	0,90 b						
Tono (°)	Noche	92,1 a	79,6 a	49,0 b	ns					
	Mediodía	95,4 a	82,0 a	51,3 a						
	Testigo	89,1 a	84,5 a	58,0 a						
DE*	Noche	52,4 a	50,1 a	48,4 a	ns					
	Mediodía	53,4 a	50,9 a	48,0a						
	Testigo	52,9 a	50,5 a	49,2 a						

Cuadro 30: Valores de los parámetros colorimétricos correspondientes a la media de los años 1993 y 1994 para los diferentes tratamientos, y significación de la interacción fecha x riego, variedad 'Topred Delicious'. Tratamientos con la misma letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ =0,05). ns: no significativo.

Los valores medios de los años 1993 y 1994 para los diferentes tratamientos, no presentaron diferencias entre riegos en la primera y segunda fecha de muestreo, a excepción

<sup>(\*):</sup> nivel de significación  $\alpha$ =0,05.

de a\*/b\*, que en la segunda fecha fué superior para el riego al anochecer. En el momento de la recolección, los mayores valores de a\*/b\* y los menores de L\* y del Tono, correspondieron al riego al anochecer, no existiendo diferencias entres riegos para L\*; mientras que para DE\*, no hubo diferencias entre tratamientos.

Se calcularon también las principales interacciones entre factores principales, y que tienen interés agronómico, concretamente la interacción de los factores *fecha x riego*, que fué significativa para L\* y a\*/b\*, lo que indica que la evolución de dichos parámetros, se vió afectada por el sistema de riego, disminuyendo su valor (L\*), o incrementandolo (a\*/b\*) de forma significativa, el riego al anochecer.

Debido al efecto de las temperaturas en la coloración de los frutos, y teniendo en cuenta que se produjeron variaciones importantes entre los años 1993 y 1994, es de interés conocer el efecto del factor año en la coloración de los frutos. Como se ha expuesto en las *Figuras* 1-40 y 1-44, las diferencias entre 1993 y 1994 fueron especialmente importantes en la cara verde, correspondiendo los menores valores a 1994, año con temperaturas más elevadas que en 1993.

Para conocer el efecto del año, se analizaron conjuntamente los años 1993 y 1994, introduciendo en al modelo de análisis de varianza el factor año. Se calcularon los parámetros colorimétricos, correspondientes a la media de tratamientos para 1993 y 1994, y para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones. Tanto en el momento de la recolección, como en las dos fechas previas, las diferencias entre los dos años fueron significativas para todos los parámetros estudiados. La interacción *fecha x año* fué significativa para todos los parámetros, lo que pone de manifiesto la influencia del factor año en los parámetros colorímetricos; indicando que su evolución para las diferentes fechas, dependió del año. Resultados análogos, se obtuvieron con los contenidos de antocianos.

Lo expuesto anteriormente pone en evidencia, la influencia de los factores <u>fecha y año</u> en los parámetros colorimétricos del fruto. Si éstos se analizan conjuntamente para los dos años, puede concluirse, que los dos tipos de riego refrescante modificaron el color de los frutos; siendo el riego al anochecer, el que proporcionó diferencias significativas para todos los parámetros, cuyos valores (mayor a\*/b\*, menor Tono) indican una mayor coloración, tanto en la recolección como en la fecha previa. Analizando los <u>años</u>, el mayor color correspondió a 1993, en que se dieron temperaturas inferiores y evidencia que la coloración de los frutos se vió afectada por los cambios de temperatura, provocados por el riego refrescante, o por las variaciones estacionales entre años.

## 2.7.2. -Contenido de antocianos

Tanto en 1993 como en 1994, el incremento más importante de la concentración de antocianos, tuvo lugar durante los 20 días antes de la recolección. Así mismo, el contenido de antocianos, indica una menor coloración de la cara sombreada con respecto a la cara más iluminada. Si se comparan los años, los mayores valores correspondieron a 1993, lo que puede deberse a las diferencias en las temperaturas mínimas diarias entre ambos años, en el período previo a la recolección, como se ha expuesto en el Apartado: "Análisis de las condiciones climáticas". La influencia de un mayor salto térmico, junto a las bajas temperaturas, se ha señalado en numerosas referencias, como favorecedor de la coloración (Blankenship, 1987; Tan 1979; 1980). Sin embargo, en las experiencias realizadas, no hubo diferencias importantes entre los dos años, lo que indica que fueron las temperaturas mínimas en 1993 las que tuvieron un efecto importante en la síntesis de antocianos

Por otra parte, el efecto del riego refrescante por aspersión en la mejora del color, se

debe a que su aplicación provoca una disminución de la temperaturas máximas o mínimas de los frutos, durante el período en que es aplicado.

Como resultado global de la experiencia, interesa comparar de forma conjunta los resultados obtenidos durante los dos años del ensayo, y evaluar el efecto de los factores <u>riego</u> <u>y año</u> en el contenido de antocianos, para lo cual se ha calculado su evolución, correspondiente a cada tratamiento, y a la media de tratamientos (*Figura 1-45*).

## Figura 1-45

Si se analiza el efecto del riego, puede observarse que en la recolección, el riego al anochecer proporcionó los valores más elevados de los contenidos de antocianos, siendo superiores a los de mediodía y al testigo. En la fecha previa no hubo diferencias entre tratamientos. Considerando el factor año, y teniendo en cuenta la media de tratamientos, tanto en la recolección como en la primera fecha, los contenidos correspondientes a 1993, fueron superiores a los de 1994. La interacción *fecha x riego*, fué significativa, lo que indica que el contenido de antocianos para las distintas fechas, se vió influenciado de forma consistente por el sistema de riego.

Puede concluirse, que las variaciones de temperatura debidas al riego refrescante y/o a las diferencias entre años, han influido significativamente en la síntesis de antocianos y por tanto en el color de los frutos. Diversos autores han puesto en evidencia, la importancia de las temperaturas en la coloración de los frutos, especialmente en el período previo a la recolección (Tan, 1979; 1980; Clerinx, 1983; Faragher et al., 1984; Williams, 1989; Williams et al., 1989; Saure, 1990; Recasens et al., 1993; Williams, 1993). Los resultados expuestos, son coincidentes con los expuestos por Unrath (1972a,b), Crassweller et al. (1989), Williams (1993) y Evans (1993a), en las que se observó una interacción significativa del color y del contenido de antocianos con el factor año.

## 2.8.- Efecto del riego refrescante en los porcentages de cosecha

Diversos autores han considerado, que la coloración de los frutos estaba relacionada con la maduración de los mismos (Knee, 1972; Chalmers et al., 1973; Faragher, 1983; Faragher et al., 1984; Saure, 1990; Lancaster, 1992), por lo que, si el color se anticipó por el efecto del riego refrescante, podría adelantarse la recolección. Este aspecto es de interés en variedades rojas 'Delicious', dado que, por razones comerciales, existe una demanda de manzana roja en fechas anteriores a su recolección habitual, para la que se obtienen buenas cotizaciones, si la coloración es la adecuada.

Para evaluar este aspecto, en la parcela del ensayo, y al igual que en el resto de la finca, se realizó una pasada 12 días antes de la recolección, para la cual se tuvieron en cuenta los mismos criterios comerciales (calibre > 75 mm, color > 70%), realizándose la recolección también por los mismos operarios. Para evaluar el efecto del riego en la mejora anticipada del color, se calculó el porcentage de fruta recolectada, en la pasada previa a la recolección de los años 1993 y 1994 (*Figura 1-46*).

#### Figura 1-46

En 1993, el mayor porcentage de frutos recolectados en la primera pasada, correspondió al riego al anochecer, siendo la diferencia de porcentages entre éste y el testigo del 10%. En 1994, los mayores porcentages se obtuvieron indistintamente con los riegos al amanecer y al anochecer, seguidos por el riego al mediodía, siendo todas las estrategias de riego superiores al testigo. La diferencia entre el riego al amanecer y el testigo fué del 20%, siendo del 18% entre el anochecer y el testigo, porcentage que es casi el doble al obtenido en 1993; lo que pone de manifiesto las diferencias entre años y entre tratamientos. En 1994, el

riego al mediodía, proporcionó valores superiores al testigo, lo que no ocurrió en 1993, y pudo ser debido, a que las temperaturas más bajas de 1993, enmascararon parcialmente el efecto producido por el riego refrescante por aspersión.

En experiencias realizadas por Unrath (1972a,b) con la variedad 'Red Delicious', se realizaron recolecciones con una periodicidad semanal, obteniendo en la segunda pasada una diferencia acumulada, entre el riego por aspersión y el riego a manta, del 32,1%. En la primera pasada, los porcentages entre riegos fueron similares. Otras referencias, indican también un anticipo del color con el riego refrescante (Gilbert et al., 1970; Williams et al., 1989; Williams, 1993; Evans, 1993a), anticipo que no siempre se tradujo en un adelanto de la maduración.

Complementariamente y para el año 1994, se determinó de forma visual el color de los frutos, como porcentage medio de la superficie del fruto coloreada. Los resultados obtenidos para los diferentes tratamientos fueron: anochecer (85,5%), mediodía (72,7%), amanecer (89,3%) y testigo (62,8%), no existiendo diferencias significativas entre riegos y si entre éstos y el testigo.

## 2.9.- Relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos del fruto

La determinación de los valores de cromaticidad del fruto y de sus correspondientes contenidos de antocianos, permite establecer las relaciones entre ambas variables. Para ello y siguiendo la metodología expuesta en el apartado Material y métodos: "Tratamiento estadístico", se realizó un análisis de regresión lineal múltiple y simple, con el objeto de conocer si las determinaciones realizadas con el colorímetro, podían ser utilizadas para predecir el contenido de antocianos de la piel del fruto.

El análisis de regresión se realizó en la <u>recolección</u> de los años 1993 y 1994, para el fruto entero y para las dos caras. Algunos de los modelos de <u>regresión lineal múltiple</u> obtenidos, figuran en el <u>Cuadro 31</u> (tabla 1-30); siendo todos altamente significativos (\*\*: a=0,01).

Período / cara	Ecuación del modelo de regresión [Intérvalo de confianza β]*	$\mathbb{R}^2$
1993+1994	y=-19,9 -0,34 L*+0,54a* + 13,4 (a*/b*)+0,52 Tono	0,79**
	+	
	0,23 Sat 0,10 DE*	
	$L^* = [-0, 12 • -0, 56]; a^* = [0, 84 • 0,24]; a^*/b^* = [16,6•]$	
	10,3 ];	
	Tono = $[0,69 \ 0,31]$ ; Sat. = $[0,42 \bullet 0,06]$ ; DE* = $[-0,05 \bullet$	
	-0,14]	
1993	$y = -38.4 - 3.3 L^* - 2.4 a^* + 3.6 b^* + 15.9 (a^*/b^*) - 1.7$	0,77 **
	Tono +	
	76,5 Sat. + 80,7 DE*	
	$L^* = [-0.95   -5.7]; a^* 0.1   -4.9]; b^* = [6.4   0.8];$	
	a*/b* = [27,5 • 4,3];	
	Tono = $[-0, 1 \leftarrow -3,3]$ ; Sat. = $[-2,2 \leftarrow -39, 1]$ ; DE* = $[58,7 \leftarrow$	
	[2,7]	
1994	$y = 1.4 - 4 L^* + 7.9 a^*/b^* - 2.1 sat. + 4.6 DE^*$	0,75
	L* = [ -1,4 $ \bullet $ -6,6 ]; a*/b* = [ 10,6 $ \bullet $ 5,2 ]; sat0,7 $ \bullet $	
	[-3,5];	
	DE* = [7,6 • 1,6];	
Cara roja	$y = -52.9 - 0.7 L^* + 5.6 a^* + 17.9 (a^*/b^*) + 2.3 Tono -4.5$	0,66**
	Sat0,22	
	DE*	
	$L^*=[-0.3 - 1.1^*; a^*/b^* = [26.5 - 9.3]: Tono=[3.9 - 0.7];$	
45	Sat. = $[-1,0 \land -7,8]$ ; DE*= $[-0,12 \land -0,28]$	
Cara verde	y= 53,1+1,5 a* -0,5 Tono + 0,75 sat.	0,78**
24 5	$a^*=[1,9 • 0,9]; b^*=[-0,1 • -0,7]; Tono=[0,8 • 0,3]; Sat. =[0,9]$	
	♦ 0,6]	7779

*Cuadro 31:* Modelos de regresión lineal múltiple, intervalos de confianza de las variables, coeficientes de determinación (R<sup>2</sup>), y significación de diferentes modelos de regresión lineal múltiple entre el contenido de antocianos y los valores colorimétricos de la variedad *'Troped Delicious'*, en el momento de la recolección y para los años de 1993 t 1994.

- (y): contenido de antocianos.
- (\*): nivel de significación α=0,05
- (\*\*): nivel de significación  $\alpha$ =0,01.

Los valores del coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>), considerando los valores de 1993 y1994 conjuntamente, fué de 0,79; mientras que si se considera unicamente 1993, el valor fué de 0,77, y de 0,75 para 1994. Los valores obtenidos fueron por tanto similares, cosa que no ocurrió con otras variedades ('Starking Delicious', 'Mondial Gala', etc.), para las cuales, los mayores valores correspondieron a 1993, que fué el año de mayor coloración. El valor de R<sup>2</sup> correspondiente a la roja del fruto, presentó una relación inferior con el contenido de antocianos que la cara verde, hecho éste, que también se dió en 'Starking Delicious'.

Por tanto, los valores obtenidos para la totalidad del fruto, si se consideran conjunta o separadamente los años 1993 y 1994, o bien por caras; indicarían una buena predicción de los contenidos de antocianos en base a los parámetros colorimétricos, ya que han oscilado entre 0,66 y 0,79, y son similares a los obtenidos en experiencias similares con variedades 'Red Delicious' (Crassweller et al., 1991; Singha et al.,; 1994; Graell et al., 1993). También es importante destacar, que en todos los modelos de regresión lineal multiple, a excepción del correspondiente a la cara verde, aparece el ratio a\*/b\*, que en numerosos estudios se considera, que está bien relacionado con la apreciación visual del color (Crassweller et al.,

1991; Singha et al., 1991a,b; Baugher et al., 1995).

Se realizó un análisis de <u>regresión simple</u>, entre el contenido de antocianos y cada uno de los los valores colorímetricos, considerando de forma conjunta y de forma separada los años 1993 y 1994, para el fruto entero y por caras. En la *Figura 1-47*, se han representado las regresiones que presentaron el mejor ajuste para valores conjuntos de 1993 y 1994, y que fueron significativas (a 0,05).

## Figura 1-47

La bondad del ajuste ha sido similar para L\*, a\*/b\*, Tono y DE\*, obteniendo valores de  $R^2$  entre 0,76 y 0,80; las ecuaciónes son de tipo potencial para L\*, Tono y DE\*, y exponencial para a\*/b. Las regresiones simples correspondientes a 1993 y 1994, proporcionaron valores similares de  $R^2$ , aunque fueron ligeramente superiores para 1994. Los mejores coeficientes de determinación ( $R^2$ ) para 1993 fueron: L\* = 0,74; a\*= 0,70; a\*/b\*= 0,73; Tono = 0,74; siendo para 1994, los siguientes: L\*= 0,77; a\*= 0,76; b\*= 0,76; a\*/b\*= 0,77; Tono = 0,77 y DE\*= 0,75.

Si se tiene en cuenta de forma conjunta los años 1993 y 1994, se obtuvieron mejores ajustes para la cara verde que para la cara roja, al igual que ocurrió con las regresiones lineales múltiples (tab 30 Cuadro 31). En todos los casos, el parámetro colorímetrico Saturación, fué el que se relacionó peor con el contenido de antocianos, mientras que para a\*, se obtuvieron valores siempre inferiores a a\*/b\* y al Tono. Las mejores ecuaciones de ajuste, correspodieron a los tipos exponencial y potencial, y en menores ocasiones a logarítmicos y polinómicos.

Las regresiones realizadas, han proporcionado valores de los coeficientes de determinación superiores al 65%, lo que indica que los modelos de regresión explicaron una buena parte de la variabilidad existente, más aún teniendo en cuenta el elevado número de observaciones utilizadas para el ajuste y la significación de las regresiones, por lo que es posible la predicción de los contenidos de antocianos, en base a los parámetros colorimétricos. Han sido los parámetros: L\*, a\*/b\* y Tono, los que han proporcionado los mejores ajustes. Resultados similares han expuesto otros autores (Crassweller et al., 1991; Singha et al.,1991a,b; Graell et al., 1993), al evaluar variedades 'Red Delicious'; se obtuvieron mejores ajustes para a\*/b\* que para a\* o b\* separadamente, a pesar de ser a\* la coordenada que indica el color rojo. Fué también a\*/b\*, el que mejor se relacionó con la apreciación visual del color y con los contenidos de antocianos.

Para el año 1994, se realizó una estimación visual de la coloración de los frutos expresando el resultado en una escala hedónica de 0 a 10, correspondiendo a los frutos con menor color el valor 0, y a los de máximo atractivo y color, el valor 10. Posteriomente, se relacionó dicho parámetro con el contenido de antocianos de los mismos, calculando diferentes modelos de regresión simple, obteniendo valores de los coeficientes determinación próximos a 0,75. Cuando el ratio de apreciación visual del color, se relacionó con las variables colorimétricas, el mejor ajuste se obtuvo para L\*, a\*/b\* y Tono, oscilando R² entre 0,61 y 0,74; mientras que el peor ajuste se obtuvo con la Saturación. Los resultados obtenidos indican que la medición del color con un colorímetro, se apróxima de forma aceptable a la apreciación visual del mismo, y son similares a los expuestos otros autores en variedades 'Red Delicious' (Singha et al., 1991a,b).

## 2.10.- Influencia del riego refrescante en los parámetros de calidad del fruto

Además de la influencia de las diferentes estrategias de riego en el color, es de interés conocer su efecto sobre otros parámetros de calidad de los frutos, como son: la firmeza, el

contenido de sólidos solubles, la acidez, la relación sólidos solubles/acidez, el calibre y el peso del fruto, dado que determinan globalmente la valoración final de los frutos. Dichos parámetros, se determinaron en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994. Los resultados obtenidos se exponen en el el *Cuadro 32 (tabla 1-31)*.

Parámetro	Riego	1993	1994	Interacción AÑOxRIEGO
Peso <sup>1</sup>	Noche Mediodía	257,1 a 253,2 a	182,7 a 176,3 a	
(g)	Amanecer	-	188,8 a	ns
	Testigo Noche	247,7 a 85,5 a	169,3 a 73,3 a	ns
Calibre <sup>1</sup> (mm)	Mediodía Amanecer	84,7 a	71,8 a 72,9 a	
	Testigo Noche	82,6 a 7,5 a	71,0 a 7,1 a	na
Firmeza <sup>2</sup> (kg)	Mediodía Amanecer	7,5 a 7,7 a	7,1 a 7,2 a 7,1 a	ns
(-5)	Testigo Noche	7,0 b 11,8 a	6,6 b 10,9 ab	ne
Sólidos solubles³ (°Brix)	Mediodía Amanecer	11,9 a -	11,6 a 11,7 a	v i ns T U
Acidez <sup>3</sup>	Testigo Noche Mediodía	3,1 ab 3,3 a	10,6 b 2,7 ab 2,8 a	ns
(g/l)	Amanecer Testigo	- 2,8 b	2,5 b 2,6 b	
Sólidos solubles/ acidez <sup>3</sup>	Noche Mediodía Amanecer Testigo	3,7 b 3,6 b - 4,0 a	4,0 b 4,1 b 4,7 a 4,0 b	ns

*Cuadro 32:* Influencia de diferentes estrategias de riego refrescante en los parámetros de calidad de los frutos de variedad *'Troped Delicious'*, años 1993 y 1994. Tratamiento con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ = 0.05). Se indica la significación de la interacción *año* x riego.

- (1) Cada valor corresponde a la media de 70 determinaciones.
- (2) Cada valor corresponde a la media de 140 determinaciones.
- (3) Cada valor corresponde a la media de 5 determinaciones.
- (ns): no significativo

El peso del fruto, no presentó diferencias entre tratamientos, a excepción del testigo, que en 1994, proporcionó valores inferiores a los tratamientos de riego. Respecto al calibre, tampoco hubo diferencias entre tratamientos; los valores, tanto del peso como del calibre, fueron superiores en 1993. Para la firmeza de la pulpa, los menores valores correspondieron al testigo, no existiendo diferencias entre las diferentes estrategias de riego, y siendo los resultados obtenidos en 1993 y 1994 similares.

El contenido de sólidos solubles en 1993, no presentó diferencias entre el riego al mediodía y al anochecer, y sí entre éstos y el testigo. Lo mismo ocurrió en 1994, diferenciándose en que no existieron diferencias entre el testigo y el riego al anochecer. La acidez titulable fué similar para los dos tipos de riego, y superior del riego al mediodía con respecto al testigo. La mayor relación azucares/acidez, correspondió al riego al amanecer, no existiendo diferencias entre el resto de tratamientos. Con el riego al amanecer, evaluado

solamente en 1994, se obtuvieron resultados similares al resto de tratamientos de riego, para todos los parámetros, a excepción de la relación azucares/acidez.

En base a los resultados obtenidos se deduce, que para todas las alternativas de riego, tanto del peso medio del fruto como del calibre, fueron los habituales para la variedad *'Topred Delicious'* en condiciones normales de cultivo. Los valores de firmeza correspondientes a 1993, se encuentran en el intérvalo 7-7,5; considerado como óptimo (Urbina, 1990), mientras que para 1994 fueron inferiores; lo que ocurrió también con otras variedades, debido probablemente, a las elevadas temperaturas que se dieron en el período previo a la recolección. Para el resto de parámetros analizados, los valores obtenidos, se encuentran en los intérvalos considerados como adecuados para variedades *'Red Delicious'*. El contenido de sólidos solubles fué superior a 11º Brix (Urbina, 1990), aunque algunos valores no se encuentran dentro del rango optimo de 12-14º Brix (Herrero et al., 1992). La acidez ha sido, para la mayoría de tratamientos, próxima a 3g/l, y en algunos casos superior, valor éste considerado como adecuado (Duran, 1983; Delhom, 1986).

La interacción *año x riego*, no fué significativa para ninguno de los dos parámetros, lo que indica que el efecto del riego en los mismos no dependió del factor año, al contrario de lo observado en los parámetros colorimétricos, y en el contenido de antocianos. Ello indica, que la respuesta al riego no dependió, o no se vió influenciada por el factor año. En ensayos realizados por Williams (1993) con variedades *'Red Delicious'*, la interacción *riego x año* no fué significativa, pero si hubo significación en la interacción triple *riego x localidad x año*. Considerando conjuntamente los años 1993 y 1994, no sedieron diferencias entre riegos en el peso y el calibre de los frutos. Con respecto a la firmeza, los dos tipos de riego proporcionaron valores similares, y fueron superiores al testigo, mientras que no se detectaron diferencias en el contenido de sólidos solubles, la acidez y la relación sólidos solubles/acidez.

Teniendo en cuenta el conjunto de parámetros de calidad del fruto, puede concluirse, que la mayoría de éstos, en especial la firmeza y el contenido de sólidos solubles, se vieron mejorados por el efecto del riego refrescante. De las tres estrategias de riego evaluadas, fué el riego aplicado al mediodía el que proporcionó valores que evidencian una mayor calidad de los frutos, a pesar de que en muchos parámetros, no hubo diferencias entre las mismas.

Los resultados expuestos, son coincidentes a los obtenidos en trabajos previos con variedades de manzana, donde el riego se aplicaba diariamente, de forma continua o cíclica, durante las horas de máximo calor. El riego reducía el estrés hídrico y los paros en el crecimiento del fruto, al alcanzarse temperaturas elevadas; consecuentemente, tanto las producciones como la calidad de los frutos, se incrementaba (Barbee, 1971; Unrath, 1972b; Recasens, 1982; Recasens et al., 1984;1988; Lowell, 1989; Williams, 1993). En trabajos realizados por Unrath (1972a,b) con la variedad 'Red Delicious', el peso del fruto, no se vió influenciado de forma consistente por el efecto del riego refrescante, presentando los frutos refrescados un mayor contenido de sólidos solubles. Williams (1993) obtuvo un mayor contenido de sólidos solubles, y mayor acidez en los frutos sometidos a riego refrescante aplicado al mediodía. En experiencias con variedades 'Delicious', el riego refrescante aplicado al alcanzarse las temperaturas diarias máximas, incrementó el peso del fruto, el contenido de azucares y la acidez (Barbee, 1971; Recasens, 1982; Recasens et al., 1984, 1988; Williams, 1993).

En base a las refencias disponibles, y a los resultados obtenidos, parece lógico que el riego aplicado al mediodía tenga un efecto en la mejora de la calidad, dado que al aplicarse en el momento de máximas temperaturas disminuye el estrés de la planta y se incrementa la actividad fotosintética, lo cual es favorable para el desarrollo del fruto y del color. En los

riegos aplicados al anochecer y al amanecer, los resultados no difieren, para algunos parámetros, del testigo; dado que las condiciones ambientales de la plantación en el momento en que se aplican dichos riegos, pueden considerarse más idoneas para el desarrollo del fruto, y por tanto difieren en gran medida de las que se dan al mediodía. El efecto del factor año ha tenido también un efecto en algunos parámetros de calidad del fruto, observándose diferencias entre años.

## 2.11.- Conclusiones

En base a los resultados que se acaban de exponer, donde se ha evaluado la respuesta a diferentes estrategias de riego refrescante con la variedad *'Topred Delicious'* durante los años 1993 y 1994, se exponen las siguientes conclusiones:

- ⇒Las diferentes estrategias de riego refrescante por aspersión evaluadas, modificaron sustancialmente la temperatura del fruto, así como la temperatura y la humedad relativa ambiental.
- ⇒En base a los parámetros colorimétricos L\*, a\*, a\*/b\* y Tono, fueron los riegos refrescantes aplicados al anochecer y al amanecer, los que proporcionaron -tanto en la recolección como en la fecha previa- el mayor color de los frutos. Con el riego aplicado al amanecer se obtuvieron, en 1994, valores intermedios entre las otras estrategias de riego y el testigo.
- ⇒El mayor contenido de antocianos, tanto en la recolección como en las fechas previas, correspondió también a los riegos aplicados al anochecer y al amanecer. Tratamientos que proporcionaron una mayor coloración en la recolección, originaron también un anticipo o una mayor precocidad de la misma.
- ⇒La modificación de los parámetros colorimétricos y de los contenidos de antocianos, es decir, la respuesta al riego refrescante, fué más importante en 1994, año en que se dieron condiciones climáticas más desfavorables para el desarrollo del color que en 1993.
- ⇒El factor año influyó significativamente en la coloración, correspondiendo el mayor color al año 1993, en que se dieron las temperaturas más bajas, las cuales favorecieron una mayor uniformidad del color y enmascararon parcialmente el efecto del riego por aspersión en el color de los frutos.
- ⇒La acumulación de antocianos y la evolución de los valores de cromaticidad fueron más importantes durante los 20 días previos a la recolección, especialmente en los frutos tratados con riego refrescante. Fué en dicho período cuando se produjo una evolución diferencial entre los diferentes tratamientos.
- ⇒La distribución del color en el fruto muestra importantes diferencias entre las dos caras del fruto, especialmente en 1994, lo que indica la poca uniformidad del color de la variedad *'Topred Delicious'*.
- ⇒En la recolección, se puede realizar una predicción aceptable de los contenidos en antocianos en base a los valores de cromaticidad obtenidos con el colorímetro, siendo el parámetro a\*/b\* el que proporcionó el mejor ajuste.
- ⇒Los parámetros de calidad del fruto se han visto, en general, mejorados por todas las estrategias de riego refrescante, en especial la firmeza y el contenido de sólidos solubles, correspondiendo los mejores valores al riego aplicado al mediodía.

# 3.- VARIEDAD 'MONDIAL GALA': AÑOS 1993 Y 1994

Las variedades del grupo 'Gala', han conocido durante los últimos años una notable expansión en todas las zonas frutícolas. Para variedades de recolección estival, el problema del color en zonas cálidas y calurosas se acentua, dado que la recolección se realiza en el período en que se alcanzan temperaturas máximas, y por tanto más desfavorables para la coloración de los frutos. Actualmente, es la variedad 'Mondial Gala', la que ofrece mayor interés dado que aporta una mejor coloración con respecto a 'Royal Gala'. A pesar de ello, la recolección debe realizarse habitualmente en varias pasadas, con los consecuentes problemas de falta de calidad, ligados a la sobremaduración. La introducción de nuevas variedades de mayor coloración, puede constituir una alternativa de interés en las nuevas plantaciones; mientras que en plantaciones ya existentes una de las pocas alternativas para la mejora del color, lo constituye la aplicación del riego refrescante por aspersión.

Las experiencias de riego refrescante se realizaron durante los 1993 y 1994, con la variedad 'Mondial Gala'. Las fechas de inicio, plena y final de floración, no presentaron diferencias entre variedades y fueron las siguientes:

- \* 1993: 9 de abril, 16 de abril y 26 de abril.
- \* 1994: 24 de marzo, 1 de abril y 10 de abril.

Con las experiencias planteadas durante los años 1993 y 1994, se ha pretendido conocer la respuesta al riego refrescante de la variedad 'Mondial Gala', en lo referido a una posible anticipación del color y al incremento del mismo. Así como en variedades 'Red Delicious', se dispone de abundante información sobre el efecto del riego refrescante, en la mejora del color (Lowell, 1981; Recasens, 1982; Recasens et al., 1988; Mayles, 1989; Williams et al., 1989; Willet, 1989; Evans, 1993a; Williams, 1993; Andrews, 1995; Warner, 1995 b,d), en las variedades del grupo 'Gala', la información es escasa. Experiencias realizadas en el sur de Francia, indican una mejora del color por la aplicación del riego refrescante por aspersión (Bru, 1995).

Se ha comparado el efecto del riego refrescante por aspersión, aplicado 25 días antes de la recolección de los años 1993 y 1994, y en dos momentos del día: mediodía (15h a 17 h) y al anochecer (21h a 23h), en la modificación de las condiciones ambientales (humedad y temperatura), en la coloración (parámetros colorimétricos medidos con un colorímetro y el contenido de antocianos), y en los parámetros de calidad de los frutos. Se dispuso siempre de un testigo, sin la aplicación del riego por aspersión.

El hecho de escoger dichos momentos del día, se debe a que según experiencias realizadas por otros autores con riego refrescante, tanto la aplicación en el momento de máximas temperaturas, como al anochecer o amanecer mejoraron el color de los frutos. En parcelas de fruticultores se ha observado durante varios años, que la aplicación del riego refrescante al anochecer, mejoraba el color tanto de 'Royal Gala' como de 'Mondial Gala'.

El riego se aplicó de forma ininterrumpida durante 2 horas diarias, aportando unos 8 l/m² y día. En experiencias previas, también se había escogido como período de riego dos horas ya que se considera que es el tiempo necesario para refrescar el fruto en su totalidad. Este hecho se comprobó, midiendo la temperatura interna del fruto con una sonda de contacto. También es preciso recordar, que el riego refrescante, solamente se aplicó con el objetivo de disminuir la temperatura de los frutos y no como aporte hídrico, dado que en toda la parcela, se utilizó el riego localizado para satisfacer las necesidades hídricas.

# 3.1.- Análisis de las condiciones climáticas de los años 1993 y 1994

Debido a la influencia de la temperatura en la síntesis de antocianos, y por tanto en la coloración de los frutos (Proctor, 1974; Tan, 1979; Recasens et al., 1983; Saure, 1990), se realizó un seguimiento de las temperaturas máximas y mínimas, debido a las variaciones que pueden existir entre años. En la *Figura 1-48*, se han representado las temperaturas máximas y mínimas, correspondientes al período 12 de julio-9 de agosto de los años 1993 y 1994, período que precede a la recolección de la variedad *'Mondial Gala'*. Las temperaturas fueron elevadas, con máximas que superaron los 35°C; tanto las máximas como las mínimas fueron inferiores en 1993.

## Figura 1-48

Las temperaturas correspondieron las típicas de climas calurosos, con temperaturas máximas entre 27 y 41°C y con mínimas entre 13 y 22°C, poco favorables para el desarrollo del color. Las temperaturas máximas y mínimas correspondientes al período previo a la recolección de las variedades 'Red Delicious' fueron inferiores (Figura 1-49), siendo las diferencias entre 1993 y 1994 más importantes, correspondiendo las menores a 1993. Por tanto, las temperaturas fueron más favorables para la coloración en dichas variedades, que para las del grupo 'Gala', de recolección anterior.

También es de interés conocer el salto térmico diario, o diferencias entre temperaturas máximas y mínimas diarias, en el período previo a la recolección, por su posible influencia en la síntesis de antocianos (Tan, 1979;1980). En la *Figura 1-49*, se ha representado en forma de área dicha diferencia, para cada uno de los dos años estudiados. La diferencia acumulada, o lo que es lo mismo, el área formada por el salto térmico fué superior en 1994 en un 6%, con respecto a 1993, a pesar de que en 1993, las temperaturas tanto máximas como mínimas fueron inferiores. Ello se debe, a que también en 1993, las máximas fueron inferiores, por lo que el salto térmico no se incrementó respecto a 1994. A la vista de lo que se acaba de exponer, puede deducirse que para el período estudiado y comparando los años 1993 y 1994, pudo ser más importante para el color de los frutos la diferencia entre temperaturas mínimas diarias correspondientes a dichos años, que el salto térmico acumulado; aunque estas diferencias fueron menos importantes que en variedades del grupo '*Red Delicious'*; lo que explicaría las menores diferencias observadas entre años, en la coloración de los frutos en la variedad '*Mondial Gala'*.

## Figura 1-49

Si se analiza la humedad relativa mínima para el mismo período, las diferencias entre los años 1993 y 1994, son menos relevantes en comparación con las temperaturas mínimas. La diferencia acumulada entre la humedad relativa máxima y mínima, fué para 1993 del 47%, y para 1994 del 53%, siendo por tanto similares, y correspondiendo la mayor diferencia entre humedades maxima y mínima al año 1994, que fué cuando se dió también el mayor salto térmico.

Analizando la evolución de la temperatura y de la humedad relativa, se observó una extrecha dependencia entre ambas variables, observándose una relación inversa entre las mismas; por lo que disminuciones de temperatura, estuvieron siempre asociadas a incrementos de humedad relativa. Ello es debido, a que la disminución de las temperaturas está originada por la evaporación del agua a la atmósfera, con el consecuente incremento de humedad relativa ambiental. En la *Figura 1-50*, se ha representado la ecuación de ajuste entre ambas variables, obteniendo un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>)=0,87; que indica la estrecha dependencia entre las mismas.

# Figura 1-50

# 3.2.- Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura y en la humedad

## ambiental

Durante los años 1993 y 1994, se realizó el seguimiento de las temperaturas y de la humedad relativa ambiental, mediante la colocación de termohigrógrafos en cada uno de los diferentes tratamientos, en el momento en que se iniciaron los riegos. Ello permitió conocer las modificaciones ambientales que se producían en el seno de la plantación, por el efecto del riego refrescante. En la *Figura 1-51*, se ha representado la evolución de dichas variables, a lo largo de dos de los días en los cuales se aplicaron los riegos al mediodía y al anochecer.

## Figura 1-51

La aplicación del riego a mediodía (15h-17h), provoca una disminución importante de la temperatura mientras dura el riego, posteriormente, ésta se incrementa hasta alcanzar un máximo que es inferior entre 3 y 5°C con respecto al testigo y al riego al anochecer; la humedad relativa ambiental se incrementa con respecto al testigo entre un 30% y un 55%. El hecho de que en el momento de iniciarse el riego, la humedad relativa sea mínima, es sumamente beneficioso, dado que la evaporación del agua y consecuentemente la capacidad de enfriamiento, no se ve limitada por la humedad atmosférica.

El riego aplicado al <u>anochecer</u> (21h-23h), acelera la disminución de la temperatura, siendo la mínima alcanzada inferior al testigo entre 2 y 4°C. La humedad relativa ambiental se incrementa también de forma más rápida, siendo el máximo alcanzado alrededor de un 10% superior con respecto al testigo. En este tipo de riego, la humedad máxima se mantiene en porcentages elevados (entre el 90 y el 95%) durante un mayor período de tiempo, que en el el riego al mediodía y que en el testigo. Al igual que ocurrió con el riego al amanecer en otras experiencias, en el riego al anochecer, la disminución de la temperatura depende de la evaporación del agua, que se ve condicionada o limitada por la elevada humedad ambiental ya de por si existente (vease testigo -<u>Figura 1-51</u> -) e incrementada por el efecto del riego.

Tanto en el <u>testigo</u> como en el riego al anochecer, las temperaturas máximas diarias se alcanzan alrededor de las 16 horas, y las mínimas entre las 7 y las 8 de la madrugada. Con respecto a la humedad relativa ambiental, la evolución es inversa a la seguida por las temperaturas, alcanzándose la mínima cuando se da la temperatura máxima y viceversa.

En base a lo expuesto anteriormente, puede concluirse, que el riego refrescante produce una modificación sustancial, tanto de las temperaturas (máximas y mínimas) como de la humedad relativa en el seno de la plantación. Estos resultados, son análogos a los obtenidos por Unrath (1972a,b), Williams et al. (1989) y Williams (1993), los cuales indican que la capacidad de refrescamiento está estrechamente relacionado con la humedad relativa, dado que la disminución de la temperatura implica siempre un incremento de la misma. Desde el punto de vista de la síntesis de antocianos, el efecto del riego radica en la modificación de las temperaturas durante los 20 a 25 días previos a la recolección, disminuyendo las temperaturas máximas (riego al mediodía), o las mínimas (riego al anochecer y al amanecer).

## 3.3.- Efecto del riego refrescante por aspersión en la temperatura interna de los frutos

Para conocer la modificación de temperaturas que ocasionaba el riego refrescante en el interior del fruto, en 1994 y justamente en el momento en que finalizó la aplicación de cada una de las diferentes estrategias de riego refrescante, se procedió a medir la temperatura interna del fruto, utilizando un termómetro digital con sonda de contacto. Análogamente se había realizado en otras experiencias con riego refrescante (Unrath, 1972a,b; Lowel, 1981; Williams, 1989;1993).

Se determinaron, en tres fechas, las temperaturas de cada tratamiento de riego, siempre

en comparación con el testigo y para frutos situados a la sombra. Para cada determinación, se utilizaron 5 frutos situados en la misma orientación en el árbol y de calibre similar. El riego refrescante, produjo disminuciones de temperatura en el interior del fruto de entre 3 y 6 °C, dependiendo del momento en que se aplicó el riego (*Cuadro 33*, *ver tabla 1-32*).

La mayor diferencia se dió entre el testigo y el riego al mediodía, detectándose diferencias en las temperaturas interna del fruto de 7,4°C. Dichos resultados, son coincidentes a los expuestos por Williams et al. (1989), Proebsting et al. (1984) y Andrews (1995).



Fecha	T <sup>a</sup> fruto	(23h)	$T^a$ ambie	ente (23h)	T <sup>a</sup> fruto (17	<sup>7</sup> h)	T <sup>a</sup> ambient	e (17h)
(1994)	Noche	Testigo	Noche	Testigo	Mediodía	testigo	Mediodía	Testigo
19 julio	20,4 <sup>a</sup>	23,2	20,4	22,3	28,1	35,5	32,2	35,9
28 julio	19,6	22,5	19,2	21,2	27,1	34,1	32,1	35,8
5 agosto	17,6	20,7	18,3	20,1	25,6	29,7	29,3	31,6
MEDIA	19,2	22,1	19,3	21,2	26,9	33,1	31,1	34,5

Cuadro 33: Valores medios, para cuatro fechas, de la temperatura ambiente y de la temperatura interna de los frutos bajo dos estrategias de riego refrescante por aspersión en la variedad 'Mondial Gala'. La temperatura corresponde en cada fecha al momento en que finalizaron las diferentes alternativas de riego, comparándose en cada momento con el testigo.

(a): cada valor corresponde a la media de 5 determinaciones.

En el testigo la temperatura de frutos expuestos directamente a los rayos solares fué superior en 6°C con respecto a frutos situados en la sombra. Las dos estrategias de riego refrescante, disminuyeron la temperatura del fruto y del ambiente. Con respecto al riego al anochecer, tanto la temperatura del fruto como la del ambiente, se disminuyó entre 2 y 3°C; lo que indica, que el riego provoca una disminución más rápida de las temperaturas con respecto al testigo. El riego al mediodía es el que provoca las mayores disminuciones de temperatura en el fruto (de hasta 8°C), debido a que provoca una evaporación máxima y por tanto un mayor refrescamiento en comparación con los otros tipos de riego, en los que se alcanza más rapidamente la humedad máxima y el refrescamiento se ve limitado.

Si se comparan las diferentes estrategías de riego refrescante, puede deducirse que a pesar de que en el riego al anochecer la disminucíon de la temperatura del fruto es menor, el fruto permaneció durante más tiempo a temperaturas más bajas, en comparación con el riego a mediodía. En este caso, una vez finalizado el riego, la temperatura del fruto vuelve a incrementarse rapidamente debido a que las temperaturas a las 17 h son todavía elevadas, por lo que, en comparación con los otros riegos, el período de modificación de la temperatura es menor. Así mismo, es probable que el efecto refrescante del fruto en la síntesis de antocianos pueda actuar de forma diferente según el tipo de riego, dado que en el riego al anochecer se disminuye la temperatura mínima y se aumenta el tiempo en que los frutos se encuentran a más baja temperatura, mientras que en el riego al mediodía unicamente se disminuye la temperatura máxima en un período de tiempo más corto. En la experiencia se trata por tanto de conocer como dichas modificaciones afectan a la síntesis de antocianos y consecuentmente a la coloración de los frutos.

El efecto de la disminución de la temperatura al mediodía en el incremento de la síntesis de antocianos, se debe a que disminuye el estrés de la planta provocado por temperaturas elevadas, consecuentemente se incrementa la actividad fotosintética y se dipone de más hidratos de carbono para la síntesis de antocianos. El riego aplicado al anochecer disminuye la temperatura nocturna y consecuentemente la respiración de la planta, por lo que se consumen menos azucares que se utilizaran posteriormente en la síntesis de antocianos (Saure, 1990; Williams, 1989; Williams, 1989; Williams, 1989; Williams, 1993).

El agua utilizada para el riego refrescante procedía de un embalse situado junto a la parcela, oscilando la temperatura de la misma en el período en que se aplicó el riego entre 23,6 y los 26,4°C, correspondiendo la máxima temperatura a finales de julio de 1993 y 1994. Diariamente la temperatura del agua experimentó variaciones de entre 1 y 3°C. La máxima temperatura se alcanzó alrededor de las 18 horas, y la mínima a las 8 horas. A pesar de ser la temperatura del agua elevada, el riego refrescante provocó una disminución importante de la

temperatura del fruto; lo que induce a suponer, como han indicado diferentes autores (Evans, 1993; Williams et al., 1989; Mayles, 1989; Willet, 1989; Williams, 1993a,b), que el refrescamiento dependería en gran medida de la evaporación del agua depositada en los frutos, o de su evaporación a la atmósfera antes de alcanzar el fruto (refrescamiento del fruto por convección del aire refrescado).

# 3.4.- <u>Efecto del riego por aspersión en la evolución de los parámetros colorimétricos del fruto</u>

'Mondial Gala' es una variedad bicolor, que presenta una coloración con estrías poco evidentes en la cara más coloreada, y más evidentes o sin color en la cara sombreada del fruto. En la experiencia, se pretendía conocer, además del efecto de las dos estrategias de riego refrescante: aplicado al mediodía (15 a 17h) y al anochecer (21 a 23 h), en el color de los frutos; hasta que punto, las determinaciones del color con un colorímetro reflejaban la naturaleza del mismo y se relacionaban con los contenidos de antocianos de la piel del fruto. En diversas experiencias con variedades de coloración estriada, se ha puesto de manifiesto que la relación entre dichas variables es inferior con respecto a otras de color uniforme (Crassweller et al., 1985; 1991; Singha et al., 1991a,b; Graell et al., 1993).

A continuación, se exponen los resultados obtenidos en la determinación de los parámetros colorimétricos mediante el colorímetro portatil triestímulo Minolta CR-200, para las diferentes estrategias de riego refrescante, para las diferentes fechas de muestreo y para las dos caras del fruto y del fruto entero.

Dicha información es especialmente interesante, al permiter conocer la distribución y la uniformidad del color en el fruto, dado que en variedades bicolores, se dan mayores diferencias de color entre caras que en variedades 'Red Delicious'.

El análisis conjunto del fruto, permite tener una cuantificación global de su color y posibilita una comparación más facil entre tratamientos.

Las mediciones de color se realizaron en los frutos recolectados, posteriormente se procedió a la determinación del contenido de antocianos. Las parámetros colorímetricos calculados para cada fecha, y para cada cara del fruto fueron: L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*. Su interpretación desde el punto de vista de color, y la metodología de cálculo, se ha expuesto en el apartado Introducción: "El color y su medida".

Se han analizado de forma separada los años 1993 y 1994, y posteriormente ambos de forma global; su evolución en el tiempo fué la siguiente:

- \* Disminución: L\*, b\*, Tono, Saturación y DE\*.
- \* Aumento: a\* y a\*/b\*.

De los diferentes parámetros L\*, a\*, a\*/b\* y Tono, han sido los que posteriormente en el análisis de regresión han proporcionado los mejores valores de los coeficientes de determinación. Con el parámetro L\* o luminosidad, se ha observado siempre una relación inversa con la coloración, dado que cuanto mayor es ésta (valores altos de a\*/b\* y bajos del Tono), menores son los valores de L\*.

Los coeficientes de variación, oscilaron mayoritariamente entre el 4,3% y el 37%, correspondiendo los mayores a a\* y a\*/b\*, y los menores a DE\* y L\*. Cuando superaron el 60%, y/o la varianza no fué homogenea (vease en Material y métodos: "Tratamiento estadístico"), se calcularon las medias pero no se realizó su separación. Comparando los años, y al igual que ocurrió con otras variedades, los menores coeficientes correspondieron a 1993, que fué el año de mejor coloración. La cara verde, presentó siempre valores más elevados que la cara roja. De los diferentes parámetros, los menores valores correspondieron

a L\*, saturación y DE\*, mientras que los mayores fueron para a\* y a\*/b\*.

## \* Resultados año 1993

Se determinaron los parámetros colorimétricos colorimétricos, para cada cara del fruto en las siguientes fechas: 21/julio, 30/julio, y 9/agosto (recolección). Las resultados obtenidos para los parámetros L\*, a\*, a\*/b\* y Tono, se exponen en el <u>Cuadro 34</u> (tabla 1-33), donde figura la separación de medias, para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones. Los riegos refrescantes se iniciaron el día 20 de julio.

Los valores correspondientes a la primera fecha de muestreo no presentaron diferencias entre las dos estrategias de riego y el testigo, lo que indica que en el momento de iniciarse los riegos, no existían diferencias entre tratamientos.



1993		21/julio	)		30/julio			9/agosto	(recolecció	ón)
Parámetro	Riego	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
	Noche	70,3 <sup>+</sup> a	64,8 <sup>++</sup> a	75,8 <sup>++</sup> a	72,3 <sup>+</sup> b	65,7 <sup>++</sup> b	79,0 <sup>++</sup> b	64,0°a	57,8•• a	71,8••a
L*	Mediodía	69,3 a	64,0 a	74,6 a	81,8 a	78,1 a	85,5 a	71,9 a	64,3 a	78,5 b
	Testigo	70,6 a	64,3 a	77,0 a	75,4 ab	67,5 b	83,3 a	69,0 a	61,8 a	75,2 a
	Noche	-2,2 a	8,8 a	-13,2 a	16,5 a	20,9 a	12,1 a	17,4 a	24,2 a	10,7 a
a*	Mediodía	-4,7 a	5,4 a	-14,8 a	6,4 b	16,4 b	-3,5 b	9,0 b	12,0 b	6,0 ab
	Testigo	-3,6 a	7,4 a	-14,6 a	6,6 b	15,1 ab	-1,9 b	10,3	17,2 b	3,5 b
	Noche	-0,03 a	0,31 a	-0,38 a	0,61 a	0,79 a	0,44 a	1,1 a	1,47 a	0,55 a
a*/b*	Mediodía	-0,04 a	0,26 a	-0,33 a	0,13 b	0,42 b	-0,16 b	0,42 b	0,84 b	0,01 b
	Testigo	-0,5 a	0,21 a	-0,30 a	0,27 b	0,57 b	-0,03 b	0,64 b	1,10 ab	0,18 b
	Noche	90,8 a	74,2 a	107,4 a	59,8	52,7 b	66,9 a	54,9 b	43,3 b	66,5 b
Tono (°)	Mediodía	96,6 a	81,0 a	112,2 a	88,4 a	72,9 a	104,0 a	85,2 a	65,0 a	105,4 a
	Testigo	93,2 a	76,6 a	109,8 a	81,5 a	65,3 a	97,8 a	77,1 a	58,1 a	96,1 a

Cuadro 34: Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara roja (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo. Variedad 'Modial gala', bajo dos estrategias de riego refrescante, año 1993. tratamiento con la misma letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ =, 0,05).

- (<sup>+</sup>) Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.
- (<sup>++</sup>) Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.
- (•) Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.
- (••) Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

En el momento de la <u>recolección</u>, y considerando el fruto entero, se dieron diferencias significativas para los parámetros a\*, a\*/b\* y Tono. Considerando la cara roja, no existieron diferencias para el parámetro L\*, mientras que para a\*, el menor valor correspondió al riego al mediodía. El mayor ratio a\*/b\*, se obtuvo con el riego al anochecer. Con respecto al Tono, el menor valor correspondió al riego al anochecer, no existiendo diferencias entre el testigo y el riego al mediodía.

En la <u>fecha previa</u> a la recolección (30 de julio), y considerando la cara roja no existieron diferencias entre el riego al anochecer y el testigo para L\*; mientras que el resto de parámetros, indican una mejor coloración de los frutos bajo el riego al anochecer, y similar entre el testigo y el riego al mediodía. Para la cara verde, el riego al amanecer proporcionó valores de L\*, a\* y a\*/b\*, diferentes al resto de tratamientos.

Lo anteriormente expuesto indica que, tanto en el momento de la recolección como en la fecha previa (30 de julio), los frutos sometidos al riego al anochecer presentaron una coloración significativamente mayor (mayores valores de a\* y de a\*/b\*, menores valores de L\* y del Tono), con respecto al riego al mediodía y el testigo, lo que indica también una mayor precocidad en la adquisicíon del color. En algunos casos, y contrariamente a lo que cabría esperar, con el testigo se obtuvieron valores que indican una mayor coloración que el riego al mediodía.

#### \* Resultados año 1994

En 1994 se aplicaron las mismas estrategias de riego refrescante que en 1993. El inicio de la aplicación del riego refrescante correspondió al día 13 de julio, es decir unos 25 días antes de la recolección, realizándose las determinaciones de color en las siguientes fechas:

14/julio, 25/ julio, 2/agosto, 6/agosto (recolección), añadiéndose una fecha de muestreo con respecto a 1993. Los resultados obtenidos para L\*, a\*, a\*/b\* y Tono, se exponen en el <u>Cuadro 35</u> (tabla 1-34); donde figura la separación de medias, para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones.

1994	14/julio			25/julio			2/agosto	)		6/agost	o (recolec	ción)
Parám./	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
Riego												
L*												
Noche	71,8 <sup>+</sup> a	69,8 <sup>++</sup> a	73,8 <sup>++</sup> a	67,6 <sup>+</sup> a	61,8 <sup>++</sup> a	73,5 <sup>++</sup> a	61,3 <sup>+</sup> b	51,1 <sup>++</sup> b	71,5 <sup>+</sup> a	53,5° b	35,1 " b	72 " b
Mediodía	72,2 a	70,2 a	74,3 a	68,6 a	63,2 a	74,0 a	65,0 ab	56,4 ab	73,6 a	56,3 a	39,4 a	73,2 a
Testigo	72,7 a	70,7 a	74,7 a	70,4 a	65,8 a	75,1 a	65,7 a	57,1 a	74,2 a	57,3 a	40,9 a	73,7 a
a*												
Noche	-13,0 a	-7,3 a	-18,7 a	0,99 a	10,9 a	-8,9 a	13,8 a	27,5 a	0,10 a	20,6 a	30,9 a	10,3 a
Mediodía	-15,2 a	-11,9 a	-18,5 a	-2,10 a	2,7 a	-7,0 a	11,4 a	24,4 a	-1,51 a	16,8 b	27,5 ab	6,2 a
Testigo	-14,0 a	-10,1 a	-17,9 a	-4,85 a	3,4 a	-13,1 a	7,1 b	19,5 b	-5,33 a	16,7 b	29,2 b	4,2 a
a*/b*												
Noche	-0,33 a	-0,26 a	-0,41 a	0,12 a	0,45 a	-0,21 a	0,68 a	1,26 a	0,10 a	1,22 a	2,2 a	0,25 a
Mediodía	-0,29 a	-0,18 a	-0,40 a	-0,02 b	0,24 a	-0,29 a	0,44 ab	1,00 ab	-0,11 a	0,97 b	1,8 ab	0,14 a
Testigo	-0,36 a	-0,33 a	-0,39 a	-0,08 b	0,14 a	-0,31 a	0,29 b	0,72 b	-0,14 a	0,86 b	1,6 b	0,12 a
Tono												
Noche	171,9a	165,0 a	178,8 a	105,5 a	62,0 a	149,1 a	66,6 b	43,1 b	90,0 b	49,9 b	25,7 b	74,2 b
Mediodía	175,la	171,3 a	178,9 a	127,0 a	89,8 a	164,2 a	76,9 a	55,7 a	98,2 a	53,4 b	27,9 b	79,0 a
Testigo	177,4a	178,1 a	178,7 a	125,1 a	79,1 a	171,0 a	76,2 a	50,5 a	101,9 a	61,2 a	38,0 a	84,5 a

**Cuadro 35:** Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara roa (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo. Variedad 'Mondial Gala', bajo dos estrategias de riego refrescante, año 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

En el momento de la <u>recolección</u>, se dieron diferencias significativas para L\*, a\*, a\*/b\* y Tono. Considerando la cara roja, los menores valores de L\* y del Tono correspondieron al riego al anochecer, no existiendo diferencias entre riegos para el Tono. Para a\* y a\*/b\*, existieron diferencias entre el riego al anochecer y el testigo, correspondiendo los mayores valores al riego al anochecer, no detectándose diferencias entre riegos. Para la cara verde solamente existieron diferencias para L\* y el Tono, correspondiendo los menores valores al riego al anochecer, y no existiendo diferencias entre el riego al mediodía y el testigo.

En la <u>fecha previa</u> a la recolección (2 de agosto), el riego al anochecer proporcionó los menores valores de L\* y del Tono, y el mayor de a\*/b\*, no existiendo diferencias entre riegos. Para a\*, no hubo diferencias entre riegos, y sí entre estos y el testigo. Para la cara verde, el menor valor del Tono correspondió al riego al anochecer, no existiendo diferencias en el resto de parámetros. En la segunda fecha de muestreo (25 de julio), para ninguno de los parámetros estudiados, existieron diferencias entre tratamientos. Las temperaturas correspondientes al mes de julio de 1994, fueron extremadamente calurosas.

El análisis conjunto de los parámetros colorimétricos, tanto en la recolección como en la fecha previa, pone de manifiesto que los dos tipos de riego refrescante modificaron los valores de los parámetros colorimétricos con respecto al testigo; en base a los cuales, fué el riego al anochecer el que proporcionó de una forma global la mejora más significativa del color.

El hecho de tratarse de una variedad bicolor, lleva implícito que las <u>diferencias de color</u> <u>entre caras</u> sean importantes. Para evaluar dicho aspecto, en la *Figura 1-52*, se ha

representado la evolución de a\*/b\*, parámetro bien relacionado con la apreciación visual del color, correspondiente a la cara roja y a la cara verde, para los años 1993 y 1994, y para los diferentes tratamientos. En la cara roja, los valores de a\*/b\* en el momento de la recolección, no diferieron entre el testigo y el riego al mediodía, siendo superiores para el riego al anochecer. Considerando la cara verde, se obtuvieron los mismos resultados para 1993, mientras que para 1994, no existieron diferencias entre tratamientos.

Para la cara roja, los mayores valores de a\*/b\* correspondieron a 1994, mientras que para la cara verde se dieron en 1993.

Los valores de la cara roja fueron superiores, entre 2 y 10 veces, con respecto a la cara verde, y pone de manifiesto la poca uniformidad de la distribución del color en el fruto. De ello se deduce, que la coloración de los frutos dependió del factor cara, y se vió favorecida por la exposición de los frutos a la luz. En variedades 'Red Delicious' de buena coloración ('Early Red One', 'Oregón Spur', etc.), los parámetros colorimétricos han presentado pocas diferencias entre caras (Figura 1-26), mientras que en las de menor color ('Starking Delicious, 'Topred Delicious'), el comportamiento ha sido similar al expuesto para 'Mondial Gala'.

Para todos los parámetros colorimétricos objeto de estudio, y al igual que ocurrió con variedades 'Red Delicious', se produjo un incremento progresivo (a\*, a\*/b\*) o una disminución (L\*, Tono), desde la primera fecha de muestreo; y una evolución diferencial entre riegos y el testigo. En variedades 'Red Delicious' dicho incremento fué especialmente importante a partir de mediados de agosto. Ello indica, que es en las últimas fases de desarrollo del fruto, cuando tiene lugar la coloración de los frutos.

## Figura 1-52

En base a los resultados obtenidos durante los años 1993 y 1994, para los parámetros colorimétricos: L\*, a\*, a\*/b\* y Tono, puede concluirse, que tanto en la recolección como en la fecha previa, los dos tipos de riego refrescante modificaron los valores de los parámetros colorimétricos con respecto al testigo; especialmente en 1994. Fué el riego al anochecer el que proporcionó de una forma global la mejora más significativa del color, que se tradujo en una mayor precocidad del mismo. Las diferencias de color entre caras fueron importantes los dos años, mientras que entre años existieron pocas diferencias. La evolución del parámetro a\* fue similar a la de a\*/b\*, indicando por tanto una mayor coloración de los frutos refrescados. Sin embargo, en experiencias realizadas por Singha et al. (1991a,b; 1994), los mayores valores de a\* correspondieron a variedades de menor color; siendo a\*/b\* el parámetro que mejor se relacionó con la apreciación visual del color, y con el contenido de antocinos del fruto.

Los resultados expuestos, son similares a los obtenidos en experiencias realizadas por otros autores en variedades de recolección a final de agosto, donde el riego refrescante aplicado al mediodía mejoró el color, al igual que el aplicado a la puesta del sol (Proebsting et al., 1984; Mayles, 1989; Evans, 1993a); mejora que fué atribuida a la disminución de las temperaturas provocada por el riego refrescante. El hecho de que el riego al mediodía haya proporcionado un incremento de color inferior al riego al anochecer, puede deberse a que en el momento de aplicación del riego se dieron temperaturas elevadas (final de julio-principios de agosto); por lo que la temperatura del fruto, una vez finalizado el riego volvió a ascender rapidamente; mientras que el riego al anochecer, produjo una disminución menor de temperaturas pero de mayor duración.

# 3.5.- Efecto del riego por aspersión en el contenido de antocianos del fruto

El contenido de antocianos se determinó, al igual que los parámetros colorimétricos, para las diferentes fechas en que se realizaron los controles y para las dos caras del fruto (*Cuadro 36*, *ver tabla 1-35*). Los coeficientes de variación fueron más elevados que los obtenidos para los parámetros colorimétricos, oscilando entre el 17 y el 41%, siendo mayores para 1994, para las primeras fechas de muestreo y para la cara verde.

Año/Riego	21/julio	)		30/julio	)		-			9/agosto (recolección)		
1993	Total	CR	CV	Tota	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
Noche	2,7 <sup>+</sup> a	4,2 <sup>++</sup> a	1,1 <sup>++</sup> a	7,8 <sup>+</sup> a	12,1 <sup>++</sup> a	3,0 <sup>++</sup> a	-	-	-	10,4°a	15" a	5,2 "a
Mediodía	2,6 a	3,9 a	1,3 a	4,8 b	7,6 b	1,9 a	-	-	-	8,5 b	12,8 b	4,1 a
Testigo	3,2 a	4,9 a	1,5 a	5,2 b	8,4 b	2,1 a	-	-	-	8,1 b	11,-9 b	4,3 a
1994	14/julio	)		25/julio	)		2/agos			6/agost	o (recolec	ción)
Noche	0,89 a	1,1 a	0,68 a	5,1 a	7,7 a	2,6 a	8, 6 <sup>+</sup> a	13,4 <sup>++</sup> a	35 <sup>++</sup> a	9,3 a	14,4 a	4,l a
Mediodía	0,61 a	0,78 a	0,90 a	4,2 a	6,4 b	2,0 a	6,9 b	11,1 ab	2,8 a	7,4 b	11,9 ab	2,9 a
Testigo	0,84 a	0,88 a	0,80 a	3,9 a	5,6 b	2,3 a	6,1 b	9,0 b	3,1 a	6,4 b	9,4 b	3,3 a

*Cuadro 36:* Valores medios y separación de medias de los contenidos de antocianos, correspondientes al fruto entero (Total), cara reja (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo y en la recolección. Variedad '*Mondial Gala'*, bajo dos estrategias de riego refrescante, años 1993 y 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ = 0,05).

- (<sup>+</sup>)Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.
- (++)Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.
- (\*)Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.
- (")Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

En la <u>recolección</u> del año 1993, y considerando tanto el fruto entero como la cara roja, el riego al anochecer proporcionó un mayor contenido de antocianos que el riego al mediodía y el testigo; para la cara verde, no se dieron diferencias entre tratamientos. En el año 1994, se añadió una fecha de muestreo; en la recolección, el riego al anochecer proporcionó valores superiores al testigo y no diferentes del riego al mediodía, no existiendo diferencias entre tratamientos para la cara verde.

Teniendo en cuenta la cara roja y el fruto entero, en la <u>fecha previa</u> a la recolección (25 de agosto de 1993), el riego al anochecer incrementó el contenido de antocianos con respecto al de mediodía y al testigo, no existiendo diferencias entre tratamientos para la cara verde. En 1994 (2 de agosto), para la cara roja, los mayores contenidos correspondieron a los riegos al anochecer y al mediodía, no existiendo diferencias entre el riego al mediodía y el testigo, y sí entre éste y el riego al anochecer. Considerando la cara verde, no se dieron diferencias entre tratamientos, como tampoco las hubo en la segunda fecha (25 de julio).

Para ilustrar las diferencias de color entre las dos caras del fruto, en la *Figura 1-53*, se ha representado la evolución en el tiempo del contenido de antocianos de la cara roja y de la cara verde, para las diferentes fechas de muestreo y para los años 1993 y 1994; puede observarse que los correspondientes a la cara roja son superiores, entre 3 y 4 veces, con respecto a los de la cara verde, existiendo significación para el factor cara en todas las fechas, a excepción del 14 de julio de 1994.

Resultados similares se han obtenido con los parámetros colorimétricos L\*, a\*, a\*/b\* y Tono. Al tratarse de una variedad bicolor, la distribución del color depende en gran medida de la cara, siendo por tanto favorecido por la luz, lo que pone de manifiesto que la síntesis de antocianos en esta variedad es fotodependiente. Este hecho, ha sido también expuesto por otros autores (Proctor et al., 1976; Mancinelli, 1985). Arakawa et al. (1986) y Arakawa (1988b), que señalaron que la respuesta a la luz y la capacidad de coloración, dependía

además de otros factores como la temperatura, de la variedad.

## Figura 1-53

Al igual que en 1993, en 1994, el incremento de los contenidos de antocianos y las evoluciones diferenciales entre tratamientos, se produjeron gradualmente desde la primera o segunda fecha de muestreo, es decir unos 15 días antes de la recolección, dado que la síntesis de antocianos y el desarrollo del color tiene lugar mayoritariamente en dicho período. Modificaciones de la temperatura provocadas en dicho período por efecto del riego refrescante, influyen positivamente en la coloración de los frutos, tanto en la recolección como en las fechas previas. Es por ello, que las estrategias de riego que proporcionaron mayor color en la recolección, también lo adquirieron más precozmente, lo que se traduce en una anticipación del color, puesta de manifiesto, por la evolución de los parámetros colorimétricos. Resultados similares se obtuvieron respecto a la precocidad de la coloración en variedades 'Red Delicious' por Singha et al. (1994).

Los resultados expuestos para los años 1993 y 1994, indican que la coloración de los frutos, tanto en la recolección como en la fecha previa, se incrementó por la aplicación de los riegos refrescantes. Esta mejora del color, se ha puesto de manifiesto por los contenidos de antocianos y por los valores de los parámetros colorímétricos. Fué el riego al anochecer, el que proporcionó de una forma global, la mejora más significativa del color, que se tradujo en una mayor precocidad del mismo. Las diferencias de color entre caras fueron significativas los dos años, mientras que entre años existieron pocas diferencias, como se expone en los apartados siguientes.

Los resultados expuestos, son concordantes a los obtenidos en experiencias realizadas en el sur de Francia con la variedad 'Mondial Gala', en las cuales se aplicó el riego refrescante al mediodía o al anochecer, obteniéndose un incremento del color con respecto al testigo (Bru, 1995). En la variedad bicolor 'Fuji', de recolección tardía, el riego refrescante aplicado de forma cíclica en el momento de las máximas temperaturas incrementó la coloración de los frutos (Andrews, 1995), aunque en menor medida que en variedades 'Red Delicious' (Robinson, 1995). Con estas variedades y según han expuesto otros autores (Recasens et al., 1981; 1984; 1988; Proebsting et al., 1984; Mayles, 1989; Willet, 1989; Evans, 1993a; Williams, 1993; Warner, 1995b), se obtuvo una mejora sustancial del color por la aplicación del riego refrescante por aspersión a diferentes horas del día.

## 3.6.- Significación de factores principales y de sus interacciones

Mediante el análisis de la varianza, se calculó la significación de factores principales y de sus interacciones. El efecto del factor riego en el color de los frutos se ha analizado en los apartados anteriores; sin embargo, otros factores y sus interacciones son de interés agronómico, dado que aportan información acerca la uniformidad del color en los frutos, entre árboles y como pueden éstos verse afectados por el riego. Es por ello, que en la metodología de muestreo se incluyeron factores como la cara, el árbol y el fruto, entre otros. En el *Cuadro 37 (tabla 1-36)*, se han indicado para el contenido de antocianos, L\*, a\*/b\*, Tono y DE\*, la significación de los factores riego, árbol, fruto y cara, y algunas de sus interacciones en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994. Dichas interacciones, se calcularon para todas las fechas de muestreo, obteniendo resultados similares en la segunda fecha de muestreo y en la recolección. Conocer la significación de dichos factores y la de sus interacciones, permite obtener información acerca de la distribución del color tanto en las caras, como en los frutos y en el conjunto del árbol; y como ésta se vió afectada por el riego refrescante.

BIBLIOTECA VIRTUAL



Factor			1993			1994					
	Anto.	L*	a*/b*	Tono	DE*	Anto.	L*	a*/b*	Tono	DE*	
ARBOL x RIEGO	ns	ns	ns	ns	*	ns	*	ns	**	*	
AR.x RIEGO x	**	*	**	**	**	*	**	**	*	ns	
FRUTO											
CARA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
RIEGO x CARA	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	*	

*Cuadro 37:* Significación de algunos factores y/o de sus interacciones, para el contenido de antocianos, L\*, a\*/b\* y Tono, de la variedad *'Mond*ial *Gala*' bajo dos estrategias de riego refrescante por aspersión, en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994. Se indica el nivel de significación de cada factor y/o de sus interacciones.

Anto.: Contenido de antocianos.

ns: no significativo.

(\*), (\*\*): nivel de significación  $\alpha$ =0,05 y  $\alpha$  =0,01; respectivamente.

Los resultados obtenidos para 1993 y 1994 han sido similares. Para la mayoría de parámetros, la interacción doble *árbol x riego* (factores jerarquizados) no fué significativa, especialmente en 1993 que fué el año de mejor coloración, lo que indica que los árboles correspondientes a un mismo tratamiento no presentaron diferencias en dichos parámetros. La interacción triple *árbol x riego x fruto*, fué en general significativa, lo que indica, que para los diferentes árboles sometidos a un mismo riego, se dieron diferencias entre frutos. Ello pone de manifiesto, la poca uniformidad del color en el conjunto del árbol, aspecto observado también visualmente; y obliga a realizar varias pasadas de recolección para su homogeneización. A medida que avanza la edad de los árboles, la irregularidad del color es aún más manifiesta, debido a la poca estabilidad de algunos de los mutantes del grupo 'Gala', y a las reversiones observadas, que pueden afectar a árboles enteros, ramas o frutos; aspecto éste puesto en evidencia por otros autores (Walsh et al., 1991; Kappel et al., 1992; Buscaroli, 1995).

El factor cara, fué altamente significativo para todos los parámetros, por lo que existieron diferencias de color entre las dos caras del fruto, lo cual es lógico en variedades bicolores o en variedades de coloración deficiente. Este hecho, se había puesto ya en evidencia, al realizar el análisis del fruto por caras los años 1993 y 1994 (*Figuras* 1-52 y 1-53). La interacción *riego x cara*, no fué significativa para la mayoría de parámetros e indica que el riego no afectó de forma diferente a la coloración de las dos caras del fruto.

En base a los resultados expuestos, puede concluirse, que existieron diferencias de color entre las dos caras del fruto y entre los frutos de un mismo árbol, lo que implicó poca regularidad en su distribución. Sin embargo, no se dieron diferencias importantes de color entre los diferentes árboles de un mismo tratamiento, especialmente en 1993.

En el apartado siguiente se ha analizado la significación de los factores riego y año con el factor fecha, debido a su influencia en el color de los frutos.

## 3.7.- Análisis conjunto años 1993 y 1994. Influencia de los factores riego y año

## 3.7.1. - Parámetros colorimétricos

En experiencias sobre coloración de los frutos, es de interés comparar de forma conjunta los resultados obtenidos durante los años del ensayo, tanto del efecto del factor riego como del factor año en los parámetros colorimétricos. Para evaluar el efecto del tiempo, en el análisis de la varianza se introdujo el <u>factor fecha</u> y se calculó para el período 1993-1994, la

interacción de los factores *fecha x riego*, tanto para los parámetros colorimétricos L\*, a\*, a\*/b\*, Tono y DE\*, como para el contenido de antocianos; considerándose las tres fechas de muestreo comunes a 1993 y 1994 (*Cuadro 38. tabla 1-37*).

Los valores medios de los parámetros colorimétricos, no presentaron diferencias entre riegos para la primera fecha de muestreo; en la segunda fecha, hubo diferencias entre el riego al anochecer y el resto de tratamientos para a\*/b\* y Tono, lo que indica una mayor precocidad de coloración; mientras que en la recolección, para la mayoría de parámetros fué también el riego al anochecer el que proporcióno una mayor coloración, correspondiendo el menor valor de L\* al riego al anochecer.

Se calcularon también, las principales interacciones entre factores principales y que son interés agronómico, concretamente la interacción de los factores *fecha x riego*, la cual fué significativa para el parámetro a\*/b\* (*Cuadro 38 de la tabla 1-37*), lo que indica que su evolución a lo largo del tiempo, se vió afectada por el sistema de riego.

Parámetro		DETERMIN	DETERMINACIONES (FECHAS)							
	Riego	1 : Primera	2: Segunda	3 Recolección	FECHA x RIEGO					
L*	Noche	70,2 a	70,8 a	62,7 b	ns					
	Mediodía	70,7 a	75,4 a	68,7 a						
	Testigo	71,5 a	69,9 a	67,4 ab	427					
a*/b*	Noche	-0,15 a	0,35 a	1,1 a	*					
	Mediodía	-0,11 a	0,04 b	0,40 b						
	Testigo	-0,19 a	0, 12 b	0,32 b	11.17					
Tono	Noche	123,9 a	77,2 b	56,7 b	ns					
	Mediodía	136,6 a	107,9 a	76,2 a						
	Testigo	133,5 a	102,5 a	70,0 a						
DE*	Noche	82,1 a	84,3 a	75,7 b	ns					
	Mediodía	83,7 a	86,9 a	79,9 a						
	Testigo	82,7 a	82,3 a	78,6 a						

Cuadro 38: Valores de los parámetros colorimétricos correspondientes a la media de los años 1993 y 1994 para los diferentes tratamientos, y significación de la interacción fecha x riego, variedad 'Mondial Gala'. Tratamientos con la misma letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes (α =0,05). ns: no significativo.

(\*): nivel de significación  $\alpha$ =0,01.

Debido al importante el efecto de las temperaturas en la síntesis de antocianos, y teniendo en cuenta que se produjeron variaciones entre años, es de interés conocer el efecto del <u>factor año</u> en la coloración de los frutos. En las experiencias realizadas <u>durante los años 1993 y 1994</u>, se dieron diferencias en las temperaturas, siendo 1993 un año con temperaturas mínimas inferiores a las de 1994 (<u>Figura 1-48</u>). En 1994, al igual que ocurrió en el período previo a la recolección de las variedades '*Red Delicious*', las condiciones climaticas fueron las propias de un año más caluroso de lo habitual.

Se calcularon los parámetros colorimétricos correspondientes a la media de los dos sistemas de riego, para los años 1993 y 1994, y para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones. En el momento de la recolección, el menor valor de L\* correspondió a 1994, no existiendo diferencias entre años en la primera y segunda fecha. Para el parámetro a\*, existieron diferencias en la primera fecha. Para a\*/b\*, solamente existieron diferencias entre años en la primera fecha de muestreo, siendo superiores los valores

correspondientes a 1993. El menor valor del Tono, tanto en la primera como en la segunda fecha, correspondió a 1993, no existiendo diferencias en el momento de la recolección. La interacción de los factores *fecha x año* unicamente fué significativa para a\*/b\*.

Lo anteriormente expuesto, indica que se dieron diferencias entre tratamientos, siendo el riego al anochecer el que proporcionó un mayor incremento del color. Comparando los años, la mayoría de parámetros indican una mayor coloración en 1993; a pesar de ello, el factor año no afectó de forma significativa a la coloración, siendo el incremento a lo largo del tiempo, similar para los dos años

Figura 1-54 Figura 1-55 Figura 1-56

## 3.7.2. - Contenido de antocianos

Como resultado global de la experiencia, y al igual que con los valores colorimétricos, interesa comparar de forma conjunta los resultados obtenidos durante los dos años del ensayo y evaluar el efecto de los factores <u>riego y año</u> en el contenido de antocianos. Es por ello, que se calculó la concentración de antocianos correspondiente a la media de los años 1992 y 1993, para los diferentes tratamientos, y la media entre tratamientos para los años 1993 y 1994. La evolución de dichos parámetros se ha representado en la *Figura 1-57*, donde también se ha indicado la significación de las interacciones *fecha x riego* y *fecha x año*.

Figura 1-57

La interacción *fecha x riego* fué significativa, lo que indica que el contenido de antocianos para las distintas fechas se vió influenciado por el sistema de riego. Considerando la media de tratamientos, la concentración de antocianos para las diferentes fechas no se vió influenciada de forma significativa por el año, al no ser significativa la interacción *fecha x año*, lo que indica que la evolución de antocianos en el tiempo no dependió del año.

Si se analiza el efecto del riego, puede observarse que en la recolección, el riego al anochecer proporcionó los valores más elevados del contenido de antocianos, siendo superiores al resto de tratamientos, no existiendo diferencias entre el testigo y el riego al mediodía. En la fecha previa a la recolección, no hubo diferencias entre tratamientos. Teniendo en cuenta el factor año, y considerando la media de tratamientos, solamente en la primera fecha de muestreo existieron diferencias entre años, correspondiendo el mayor contenido de antocianos al año 1993. Dichos resultados, son similares a los obtenidos con los parámetros colorimétricos.

Puede por tanto concluirse, que las modificaciones de temperatura, debidas al riego refrescante han influido significativamente en la síntesis de antocianos y por tanto en el color de los frutos. Diversos autores han señalado la importancia de las temperaturas en la coloración de los frutos, especialmente en el período previo a la recolección de variedades 'Red Delicious' (Tan, 1979; 1980; Faragher et al., 1984; Williams, 1989; Williams et al., 1989; Saure, 1990; Williams, 1993). Una respuesta similar se ha obtenido con la variedad 'Mondial Gala' en la presente experiencia, siendo los resultados similares a los expuestos por Unrath (1972a,b), Evans (1993a) y Bru (1995). Con respecto al factor año, los resultados difieren de los obtenidos en la presente Tesis con variedades 'Red Delicious', en las cuales la coloración se vió influenciada por el año. Ello pudo deberse a que las temperaturas mínimas de 1993 y 1994, no diferieron considerablemente en el período previo a la recolección de la variedad 'Mondial Gala', de recolección estival, expuesta habitualmente a temperaturas más elevadas y con menores variaciones entre años.

## 3.8.- Efecto del riego refrescante en los porcentages acumulados de cosecha

Como se acaba de exponer, el riego refrescante supuso una mejora del color en el momento de la recolección y también en el muestreo realizado previamente, lo que indica una mayor precocidad en la adquisición de color.

Diversos autores han considerado que la coloración de los frutos estaba relacionada con la maduración (Knee, 1972; Chalmers et al., 1973; Faragher, 1983; Faragher et al., 1984; Lichou et al., 1990; Saure, 1990; Lancaster, 1992), por lo que si el color se anticipa por el efecto del riego refrescante, podría anticiparse la recolección. Este aspecto es notable interés en las variedades de verano del grupo 'Gala', dado que la precocidad en la recolección, determina en gran medida su valor comercial. Es por ello, que las primeras pasadas de recolección suelen alcanzar precios superiores en una media de 20 pta/kg, con respecto a segundas o terceras pasadas.

Para evaluar la mejora anticipada del color, en la parcela del ensayo y en árboles diferentes a los de muestreo para la determinación del color; se realizó la recolección en tres pasadas. La primera y segunda pasada se realizaron 12 y 6 días, respectivamente, antes de la fecha de recolección, determinada ésta en base a los parámetros de calidad de los frutos. Los criterios tenidos en consideración para realizar la recolección, fueron los mismos que en la parcela comercial (calibre > 70 mm, color > 70%), realizándose también la recolección por los mismos operarios. Para evaluar el efecto del riego en la mejora anticipada del color, se calculó el porcentage de fruta recolectada en cada pasada con respecto a la producción total. Los resultados obtenidos para los año 1993 y 1994, se exponen en la *Figura 1-58* 

## Figura 1-58

En 1993, el mayor porcentage de frutos recolectados en la primera pasada correspondió al riego al anochecer, seguido por el riego al mediodía y el testigo. En la segunda pasada, no existieron diferencias entre el anochecer y el testigo, y tampoco entre éste y el riego al mediodía. Los mayores porcentages acumulados, considerando la primera y segunda pasada, se obtuvieron con el riego al anochecer (43%), seguido por el riego al mediodía (29%) y finalmente por el testigo (26%). En la tercera y última pasada, el menor porcentage correspondió al riego al anochecer, no existiendo diferencias entre el testigo y el riego al mediodía. En 1994 no hubo diferencias entre riegos en la primera pasada, pero sí entre éstos y el testigo, mientras que en la segunda los mayores porcentages se obtuvieron con el riego al anochecer. Al finalizar la segunda pasada, los porcentages de producción acumulados fueron: riego al anochecer (40%), riego al amanecer (30%) y testigo (18%). En la recolección, los menores porcentages correspondieron al riego al anochecer, seguido por el riego al mediodía y por el testigo.

Las diferencias entre el riego al anochecer y el testigo, en los porcentages de cosecha acumulados al finalizar la segunda pasada, fueron del 17 y del 22%, para 1993 y 1994, respectivamente. El mayor porcentage correspondió a 1994, lo que indica que en años de menor coloración, el riego refrescante produjo un mayor incremento de la cosecha recolectada en las primeras pasadas. En experiencias realizadas por Unrath (1972a,b) con la variedad 'Red Delicious', se realizaron, desde tres semanas antes de la recolección, recolecciones con una periodicidad semanal, obteniendo una diferencia acumulada en la segunda pasada entre el riego refrescante por aspersión y el testigo del 31%.

Puede por tanto, concluirse, que el riego refrescante, especialmente el aplicado al anochecer, incrementó el porcentage de cosecha recolectado en la primera pasada y el acumulado en la segunda pasada, lo que implica una mayor precocidad en la coloración de

los frutos. Este hecho ha sido puesto también de manifiesto, en el análisis de los parámetros colorimétricos y del contenido de antocianos. Complementariamente, y para el año 1994, se determinó de forma visual el color de los frutos, como porcentage de la superficie del fruto con presencia de color (*Figura 1-59*).

# Figura 1-59

La evolución de los porcentages de superficie coloreada, fueron similares a las del contenido de antocianos y del parámetro a\*/b\* (*Figuras* 1-52 y 1-53), produciéndose un mayor incremento a partir de la segunda fecha de muestreo (25 de julio). El porcentage medio de color de los frutos en la recolección osciló entre el 50% y el 66%. Tanto en la recolección como en la fecha previa, no existieron diferencias entre el riego al anochecer y el riego al mediodía, y sí entre el testigo y el riego al anochecer, correspondiendo los mayores porcentages al riego al anochecer.

Se cálculo la relación entre los porcentages unitarios de superficie coloreada con los correspondientes contenidos de antocianos, estableciendo diferentes modelos de regresión simple. El mejor valor del coeficiente de determinación fué de 0,57, y se obtuvo para un ajuste exponencial, siendo la regresión significativa. Cuando el porcentage de apreciación visual del color, se relacionó con las variables colorimétricas, el mejor ajuste se obtuvo para a\*/b\* y Tono, oscilando R² entre 0,52 y 0,63 (modelos exponenciales); mientras que el peor se obtuvo con b\* y Saturación. Resultados análogos, han sido obtenidos por otros autores en variedades 'Red Delicious' (Singha et al., 1991a,b).

## 3.9.- Efecto de las condiciones ambientales en la síntesis de antocianos

Al tratarse de una variedad de verano las temperaturas presentaron menor variación que en el período previo a la recolección de las variedades 'Red Delicious', por lo que el factor año tuvo menor influencia en la coloración de los frutos. Sin embargo, considerando de forma global los diferentes parámetros evaluados la mayor coloración correspondió a 1993. En el período 20 de julio-recolección, las temperaturas mínimas correspondientes a 1993 fueron inferiores a las de 1994 (Figura 1-48), y fué cuando se produjo un mayor incremento del contenido de antocianos (Figura 1-60); incremento menos importante que en las variedades 'Red Delicious'. Las diferencias entre temperaturas máximas y mínimas diarias en dicho período (salto térmico) fueron similares, por lo que habrían tenido poca influencia en el color.

Para ilustrar la influencia de las temperaturas en la síntesis de antocianos, se ha representado gráficamente la evolución de las temperaturas mínimas con sus correspondientes contenidos de antocianos (del testigo), en cuatro fechas, correspondientes al período 14 de julio-9 de agosto de los años 1993 y 1994 (*Figura 1-60*).

## Figura 1-60

Al igual que ocurrió con variedades 'Red Delicious', temperaturas mínimas más bajas, estuvieron relacionadas con mayores contenidos de antocianos. Además del efecto del factor año en los contenidos de antocianos; la disminución de las temperaturas, debido a la aplicación del riego refrescante, tendría un efecto similar al originado por las variaciones estacionales de temperaturas entre años. Todo ello indica una estrecha dependencia, entre la síntesis de antocianos y la evolución del color, con las temperaturas (Chalmers et al., 1973; Tan, 1979; Williams et al., 1989; Williams, 1993). Este hecho, ha sido puesto también en evidencia con las variedades del grupo 'Gala', las cuales manifiestan importantes incrementos de color por el efecto de una tormenta, ocurrida en los días previos a la recolección, al provocar una disminución de las temperaturas e incrementar el porcentage de radiación UV (Proctor, 1974, Clerinx, 1983; Mayles, 1989).

## 3.10.- Relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos del fruto

En las experiencias, se determinó para cada uno de los frutos de las diferentes muestras, tanto los valores de cromaticidad como sus correspondientes contenidos de antocianos, con el objeto de establecer las relaciones entre ambas variables. Numerosos autores han determinado en variedades 'Red Delicious', la relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos o la apreciación visual del color de los frutos; sin embargo, en variedades del grupo 'Gala', no se dispone de referencias acerca de dicha relación, aunque por las características de su coloración (estriada), es de esperar que su comportamiento sea similar a 'Topred Delicious' o 'Starking Delicious'. Uno de los objetivos del presente trabajo ha sido conocer dichas relaciones, mediante un análisis de regresión.

El análisis de regresión entre las variables de colorimétricas y el contenido de antocianos, se realizó unicamente en la <u>recolección</u> de los años 1993 y 1994, para el fruto entero y para las dos caras. Algunos de los modelos de <u>regresión lineal múltiple</u> obtenidos, figuran en el <u>Cuadro 39</u> (tabla 1-38), siendo todos los modelos altamente significativos (\*\*: a=0,01).

Período/cara	Ecuación del modelo de regresión [ Intérvalo de confianza β] *	R <sup>2</sup>
1993+1994	$y = 9.05 - 0.20 a^* - 0.10 b^* + 10.3 (a^*/b^*)$	0,44 **
W 1	$a^* = [-0.10   -0.30]; b^* = [-0.04   -0.16]; a^*/b^* = [$	)
	[13,2 ♦ 7,4]	/
1993	$y = 16,1 - 0,48 L^* + 3,4 (a^*/b^*) + 0,33 Sat 0,69 DE^*$	0,49**
	L*= $[0.84 • 0.12]$ ; a*/b*= $[3.6 • 2.3]$ ; Sat.= $[0.55 • 0.11]$ ; DE*= $[0.84 • 0.12]$	67
\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\	-,0,27 \[ \display-1,1]	
1994	y=23,7 -0,28 L* -0,23 a*+23,4 a*/b*	0,52**
	L*=[-0,14 $\spadesuit$ -0,42]; a*=[-0,09 $\spadesuit$ -0,37]; a*/b*=[17,7 $\spadesuit$ 4,3]	
Cara roja	y=14,9-2,1L*-1,1 Sat.+2,3 DE*	0,41**
- 1000	L*=[-1,4 $\spadesuit$ -2,8]; Sat.= [-0,62 $\spadesuit$ -1,6]; DE*=[3,1 $\spadesuit$ 1,5]	
Cara verde	y=11,3+0,03 <sup>a</sup> *-0,08 DE*	0,30**
	a*=[0.046 • 0.01];b*=[-0.054 • -0.12]	

*Cuadro 39:* Modelos de regresión lineal múltiple, intervalos de confianza de las variables coeficientes de determinación (R<sup>2</sup>) y significación de diferentes modelos de regresión lineal múltiple entre el contenido de antocianos y los colorimétricos de la variedad '*Mondial Gala*', en el momento de la recoleción de los años de 1993 y 1994.

- (y): contenido de antocianos.
- (\*): nivel de significación  $\alpha$ = 0,05.
- (\*\*): nivel de significación  $\alpha$ = 0,01.

El coeficiente de determinación (R²), para 1993+1994 conjuntamente, fué de 0,44; mientras que si se considera unicamente 1993, fué de 0,49, y de 0,52 para 1994; siendo por tanto superior en 1994, lo que también ocurrió con la variedad 'Starking Delicious', mientras que con variedades de mayor coloración como 'Oregón Spur' o 'Early Red One', los mayores valores se obtuvieron en 1993, que fué el año de mejor coloración. El valor de R² correspondiente a la cara más roja del fruto, presentó una mejor relación con el contenido de antocianos que la cara verde, contrariamente ocurrió con las variedades 'Starking Delicious' y

'Topred Delicious'.

Los valores de R<sup>2</sup> obtenidos para la totalidad del fruto, por años o por caras, indican una predicción medianamente aceptable de los contenidos de antocianos en base a los parámetros colorimétricos. Es importante destacar, que en todos los modelos de regresión lineal múltiple, a excepción del correspondiente a la cara verde, aparece el ratio a\*/b\* que en numerosos estudios se considera que esta bien relacionado con la percepción visual del color (Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991a,b; Baugher et al., 1995).

Como complemento a las regresiones lineales múltiples, se realizó un análisis de regresión simple entre los parámetros colorímetricos (L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*) y el contenido de antocianos, buscando los modelos que proporcionaran el mejor ajuste, considerando de forma conjunta y de forma separada los años 1993 y 1994, para el fruto entero y por caras. En la *Figura 1-61*, se han representado las regresiones que proporcionaron un mejor ajuste, para valores conjuntos de 1993 y 1994, y que fueron significativas (a 0,05); indicando en cada caso la ecuación de ajuste y el coeficiente de determinación.

## Figura 1-61

Se obtuvieron valores de  $R^2$  entre 0,47 y 0,59; similares por tanto a los expuestos para las regresiones múltiples. Las ecuaciónes de ajuste fueron de tipo polinómico para L\*, a\* y a\*/b\*, y logarítmico para el Tono. Los valores obtenidos para b\* y DE\*, fueron 0,31 y 0,37, respectivamente. Las regresiones simples correspondientes a 1994 proporcionaron, para todos los parámetros colorimétricos, valores de  $R^2$  superiores a los de 1993, siendo para este año los más altos: L\* = 0,34; a\*= 0,46; a\*/b\*= 0,44; Tono = 0,48; mientras que para 1994 fueron: L\*= 0,71; a\*= 0,67; a\*/b\*= 0,65; Tono= 0,64 y DE\* = 0,40.

Considerando separadamente 1993 y 1994, tanto en el fruto entero como <u>por caras</u>, los valores correspondientes a la cara roja, fueron superiores a los de la cara verde. Si se tiene en cuenta de forma conjunta los dos años, se obtuvieron mejores ajustes para la cara roja que para la cara verde, al igual que ocurrió con las regresiones lineales múltiples. De forma general, los parámetros colorímetricos b\* y Saturación, fueron los que peor se relacionaron con el contenido de antocianos, mientras que para a\* se obtuvieron valores inferiores a a\*/b\* y al Tono. Las mejores ecuaciones de ajuste correspodieron, generalmente, a los tipos polinómico y potencial y en menores ocasiones a exponencial y logarítmico.

El análisis de regresión realizado, pone de manifiesto que en variedades bicolores y concretamente en 'Mondial Gala', la medición del color con un colorímetro no se apróxima de una forma óptima a la apreciación visual del mismo, debido probablemente a la coloración parcialmente estriada de los frutos. Consecuentemente, la predicción del contenido de antocianos en base a los parámetros colorimétricos, es menos fiable que en variedades de coloración uniforme, debido al porcentage de variabilidad (< 60%) explicado por los modelos de regresion. Análogamente ha ocurrido en las experiencias realizadas con la variedad 'Starking Delicious', de coloración estriada. Si embargo, el elevado número de valores utilizados en las regresiónes, así como la significación de la mismas, indica una mayor validación de la hipótesis de significación (Baugher et al., 1995). Los valores de R² obtenidos, no difieren considerablemente de los expuestos por otras autores para variedades 'Red Delicious' (Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991b;1994; Graell et al., 1993); aunque son inferiores a los obtenidos en la presente Tesis con las variedades 'Early Red One', 'Oregón Spur', 'Red Chief' y 'Topred Delicious', dado que frecuentemente fueron superiores a 0,70.

# 3.11.- Influencia del riego refrescante en los parámetros de calidad del fruto

Además del color, otros parámetros de calidad como: la firmeza, el contenido de sólidos solubles, la acidez, la relación sólidos solubles/acidez, y el calibre del fruto, son determinantes para la valoración final de los frutos y pueden verse afectados por el riego refrescante. Dichos parámetros, se determinaron en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994; los resultados se exponen en el *Cuadro 40* (tabla 1-39).

Tanto el peso como el calibre de los frutos no presentaron diferencias en 1993, mientras que en 1994 no hubo diferencias entre riegos, y sí entre el riego al anochecer y el testigo, correspondiendo los mayores valores al riego al anochecer. Los valores obtenidos, evidencian que se trata de una variedad de calibre pequeño, en comparación con las del grupo 'Red Delicious', que habitualmente sobrepasaron los 200 g por fruto y los 80 mm de calibre. Con respecto a la firmeza de la pulpa, en 1993 no se dieron diferencias entre el riego al anochecer y al mediodía, mientras que en 1994 los mayores valores correspondieron al riego al mediodía.

Parámetro	Riego	1993	1994	Interacción AÑO x RIEGO
Peso <sup>1</sup>	Noche	172,5 a	169,3 ab	ns
(g/fruto)	Mediodía	175,2 a	178,2 a	VIRT
	Testigo	170,0 a	159,1 b	
Calibre <sup>1</sup>	Noche	76,3 a	76,8 ab	ns
(mm)	Mediodía	77,1 a	78,9ª	ľ.
	Testigo	74,6 a	73,2 b	:
Firmeza <sup>2</sup>	Noche	7,3 ab	7,4 b	ns
(kg)	Mediodía	7,6 a	7,9 a	
	Tesfigo	7,2 b	7,3 b	
Sólidos <sup>3</sup> solubles	Noche	12,8 ab	12,5 b	**
(°Brix)	Medíodía	12,9 a	12,8 a	A TT .
	Testigo	12,6 b	12,1 c	
Acidez <sup>3</sup>	Noche	3,5 c	3,7 c	**
(gr/1)	Mediodía	3,9 b	4,3 a	
	Testigo	4,2 a	4,1 b	
Sólidos /acidez <sup>3</sup>	Noche	3,6 a	3,4 a	**
	Mediodía	3,3 b	3,0 ab	
	Testigo	3,0 c	2,9 b	

*Cuadro 40*: Influencia de dos estrategias de riego refrescante por aspersión, en los parámetros de calidad de los fiutos de la variedad ¿Mondial Gala', años 1993 y 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ). Se indica la significación de la interacción *año x riego*.

- (1) Cada valor corresponde a la media de 70 determinaciones.
- (2) Cada valor corresponde a la media de 140 determinaciones.
- (3) Cada valor corresponde a la media de 5 determinaciones.
- (ns) no significativo.
- (\*\*) nivel de significación  $\alpha$ =0,01.

El contenido de sólidos solubles en 1993, fué similar entre el riego al mediodía y al anochecer, siendo el testigo inferior al riego al mediodía. En 1994, el mayor contenido correspondió al riego al mediodía, seguido por el riego al anochecer y por el testigo. Los valores obtenidos son superiores a 11º Brix (Urbina, 1990), y se encuentran dentro del rango óptimo de 12-14º Brix (Herrero et al., 1992). La mayor acidez se obtuvo con el testigo

(1993), y con el riego al mediodía (1994); superando en todos los tratamientos los 3g/l, considerada como adecuada para una buena calidad gustativa (Duran, 1983; Delhom, 1986). Finalmente, la mayor relación sólidos solubles/acidez en 1993, correspondió al riego al anochecer, seguido por el riego al mediodía y por el testigo; mientras que en 1994 los mayores valores correspondieron a los riegos al anochecer y al mediodía, seguidos por el testigo. Son de destacar los resultados obtenidos con los parámetros de calidad, que evidencian que se trata de una de las mejores variedades de verano, por su excelente calidad gustativa.

El factor año no tuvo una influencia significativa, ni en el peso del fruto, ni en el calibre, ni en la firmeza, por lo que la interacción *año x riego* no fué significativa para ninguno de dichos parámetros; y sí lo fué para los sólidos solubles, la acidez y la relación sólidos solubles/acidez, lo que indica que para estos últimos la respuesta al riego se vió influenciada por el factor año. Considerando conjuntamente los años 1993 y 1994, se dieron diferencias entre riegos en la firmeza, proporcionando el riego al mediodía valores superiores al riego al anochecer y al testigo, no existiendo diferencias significativas entre años para el resto de parámetros de calidad. En ensayos realizados por Unrath (1972b), Willet (1989) y Williams (1993), con variedades 'Red Delicious', para el calibre, el contenido de sólidos solubles y la acidez, la respuesta al riego refrescante se vió influenciada por el año y por la localidad.

Puede concluirse, que la firmeza, el contenido de sólidos solubles y la relación sólidos solubles/acidez, se vieron mejorados por el efecto del riego refrescante aplicado al mediodía y al anochecer, respectivamente. Otros parámetros como: peso del fruto, calibre o acidez titulable, no se vieron afectados de forma significativa por el efecto del riego refrescante.

Los resultados expuestos, son coincidentes a los obtenidos en trabajos previos con variedades de manzana del grupo 'Red Delicious', donde se aplicaba diariamente, de forma continua o cíclica, durante las horas de máximo calor. El riego redujo el estrés hídrico y los paros en el crecimiento del fruto cuando se dieron temperaturas elevadas, consecuentemente, tanto las producciones como la calidad de los frutos se incrementaba (Barbee, 1971; Recasens, 1982; Recasens et al., 1984, 1988; Lowell, 1981; Williams, 1993).

En trabajos realizados por Unrath (1972a,b) con la variedad 'Red Delicious', el peso del fruto no se vió influenciado de forma consistente en los dos años de ensayo por el efecto del riego refrescante, presentando los frutos refrescados un mayor contenido de sólidos solubles; en los años en que el calibre se vió incrementado por el riego refrescante, la firmeza fué menor. Williams (1993) obtuvo un mayor contenido de sólidos solubles y mayor acidez, en los frutos sometidos a riego refrescante aplicado al mediodía. Sin embargo, en base a la firmeza, la madurez del fruto se retraso entre 7 y 10 días en los frutos refrescados, resultados que no coinciden con los expuestos por otros autores. En experiencias con la variedad 'Starking Delicious', el riego refrescante aplicado al alcanzarse las temperaturas diarias máximas incrementaron el peso del fruto, el contenido en azucares y la acidez (Recasens, 1982; Recasens et al., 1988).

En base a las referencias disponibles y a los resultados obtenidos, parece lógico que el riego aplicado al mediodía tenga un efecto en la mejora de los principales parámetros de calidad, al reducir el estrés de la planta y proporcionar condiciones ambientales más favorables al desarrollo del fruto, especialmente en la variedad 'Mondial Gala' de recolección estival y sometida por tanto a condiciones de elevadas temperaturas (más desfavorables que en variedades 'Red Delicious') en el período previo a la recolección. En frutos refrescados al anochecer, no han existido en general diferencias con respecto al testigo; debido a que las condiciones ambientales de la plantación en el momento que se aplica el riego, son más

adecuadas para el desarrollo del fruto (incluso en el testigo), en comparación con las que se dan a mediodía en el testigo y en el riego al anochecer.

## 3.12.- Conclusiones

Las experiencias realizadas con la variedad 'Mondial Gala', durante los años 1993 y 1994, para evaluar el efecto del riego refrescante por aspersión aplicado al mediodía y al anochecer, permiten extraer las siguientes conclusiones:

- ⇒La aplicación del riego refrescante al mediodía y al anochecer, ocasionó modificaciones importantes, tanto en la temperatura de los frutos como en la temperatura y la humedad relativa ambiental.
- ⇒Los valores de los parámetros colorimétricos L\*, a\*, a\*/b\* y Tono, se modificaron por el efecto del riego refrescante, especialmente en el aplicado al anochecer, tanto en la recolección como en las fechas previas. Análogos resultados se han obtenido con el análisis de los pigmentos antocianicos.
- ⇒La estrategia de riego que proporcionó una mayor coloración en la recolección originó también una mayor precocidad de la misma, lo que se tradujo en un mayor porcentaje de frutos recolectados en las primeras pasadas.
- ⇒En el momento de la recolección, el factor año no influyó significativamente en los contenidos de antocianos ni en los parámetros colorimétricos.
- ⇒ La acumulación de antocianos y la evolución de los valores de cromaticidad fueron más importantes durante los 20 días previos a la recolección, especialmente en los frutos sometidos a riego refrescante, como lo evidencia la significación de la interacción *fecha x riego*. Fué en dicho período cuando se produjo una evolución diferencial entre los diferentes tratamientos.
- ⇒La distribución del color muestra importantes diferencias entre las dos caras del fruto, especialmente en 1994, lo que indica la poca uniformidad del mismo en la variedad 'Mondial Gala'.
- ⇒En la recolección, no se puede realizar una buena predicción de los contenidos de antocianos en base a los valores de cromaticidad. Fueron los parámetros Tono, L\* y a\*/b\* los que proporcionaron el mejor ajuste.
- ⇒Los parámetros de calidad del fruto se han visto en general mejorados por las dos estrategias de riego refrescante, en especial la firmeza, correspondiendo los mejores valores al riego aplicado al mediodía.

# 4.- <u>VARIEDAD 'STARKING DELICIOUS'</u>: AÑOS 1993 Y 1994

'Starking Delicious' es la variedad que actualmente ocupa, en la zona de Lleida, la mayor superficie dentro del grupo de las 'Red Delicious', aunque en clara regresión por la deficiente coloración de los frutos. Es de destacar la coloración estriada del fruto y su buena calidad gustativa, siempre y cuando el momento de recolección sea el adecuado. Las fechas de inicio, plena y final de floración fueron las siguientes:

- \* 1993: 7 de abril, 12 de abril y 21 de abril.
- \* 1994: 24 de marzo, 30 de marzo y 7 de abril.

Las experiencias se realizaron durante los años 1993 y 1994 y se ha comparado el efecto de dos sistemas de riego: "manta" y "aspersión", en los siguientes aspectos:

modificación de las condiciones ambientales, coloración de los frutos, actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL), y en los parámetros de calidad de los frutos.

La aplicación y características de dichos sistemas de riego se ha expuesto en el apartado Material y métodos: "Características del riego". Señalar que en esta experiencia el riego a manta se aplicó solamente en la parte de la parcela denominada en adelante "manta", mientras que en la denominada "aspersión", el único riego aplicado fué por aspersión, con una periodicidad aproximada de 7 días. Este sistema de riego se utilizó para el aporte de las necesidades hídricas del manzano y no con el objetivo de refrescar el ambiente. Por tanto, este tratamiento difiere del riego refrescante por aspersión aplicado únicamente los 25-30 días antes de la recolección, con una periodicidad diaria y con el único objetivo de refrescar el ambiente (no como aporte hídrico), cuyos resultados en las variedades 'Early Red One', 'Oregón Spur', 'Topred Delicious' y 'Mondial Gala', se han expuesto en los apartados anteriores.

Al igual que en el resto de experiencias, el color se ha medido intrumentalmente con un colorímetro. Paralelamente se ha determinado el contenido de antocianos y la actividad enzimática de la fenilalanina amonioliasa (PAL).

# 4.1.- Análisis de las condiciones climáticas de los años 1993 y 1994

En el apartado Resultados y discusión: "2.1.-Análisis de las condiciones climáticas", del presente capítulo, se ha realizado un análisis detallado de las condiciones ambientales acaecidas en el período previo a la recolección de las variedades del grupo 'Red Delicious' (21 de agosto-11 de septiembre), y por tanto de 'Starking Delicious', durante los años 1993 y 1994. El hecho más destacable, es que las temperaturas tanto máximas como mínimas, presentaron diferencias importantes entre 1993 y 1994, siendo en 1993 cuando se dieron las temperaturas mínimas diarias más bajas, lo que podría explicar la mayor coloración de los frutos con respecto a 1994, debido al efecto de las temperaturas en la síntesis de antocianos (Proctor, 1974; Tan, 1979; Saure, 1990).

# 4.2.- <u>Efecto del riego por aspersión en la temperatura y en la humedad relativa</u> ambiental

Durante el período comprendido entre el 9 de julio y la recolección de los años 1993 y 1994, se realizó un seguimiento de la temperatura y humedad relativa ambiental en la plantación, mediante termohigrógrafos colocados en cada una de las parcelas donde se aplicaron los dos sistemas de riego. Para ilustrar el efecto del riego por aspersión en la modificación de la temperatura y humedad relativa ambiental, en la *Figura 1-62*, se refleja la evolución horaria de las mismas0 1durante los días 28, 29 y 30 de agosto de 1994. El riego por aspersión se aplicó con una periodicidad semanal, a partir de las 14:30h y durante 8 horas.

#### Figura 1-62

El riego por aspersión produjo una modificación sustancial de las condiciones ambientales; la temperatura máxima fué inferior a la del testigo en unos 4°C, mientras que la mínima fué también inferior (entre 2 y 4,5°C).

La humedad ambiental experimentó una modificación importante, incrementándose entre un 30 y un 45% por efecto del riego por aspersión, el cual ejerció una influencia en la temperatura y humedad ambiental hasta unas horas después de finalizar su aplicación.

Así como el riego por aspersión modificó la temperatura y la humedad relativa

ambientales, el riego a manta apenas influyó en dichos parámetros. En la *Figura 1-63*, se ha representado la evolución horaria de la temperatura y de la humedad relativa ambiental, después de un riego a manta aportado el día 26 de julio de 1994 a las 20 horas, y puede observarse que no se produjo una modificación sustancial de las mismas; solamente se observó un ligero incremento de la humedad relativa después del riego a manta.

El efecto de la disminucíon de las temperaturas máximas alcanzadas al mediodía en el incremento de la síntesis de antocianos, se debe a que disminuye el estrés de la planta provocado por temperaturas elevadas; consecuentemente se incrementa la actividad fotosintética, disponiéndo de más hidratos de carbono para la síntesis de antocianos. Sin embargo, por el hecho de no aplicarse con una periodicidad diaria, como en el resto de experiencias de riego refrescante, puede ocasionar que el efecto en el incremento de la síntesis de antocianos no sea tan importante, como lo indican diversos trabajos realizados en condiciones climáticas difíciles a la coloración (Jones, 1973; Williams, 1989; Williams et al., 1989; Willet, 1989; Saure, 1990; Williams, 1993), donde el riego se aplicó con una periodicidad diaria y en el momento de máximas temperaturas.

## Figura 1-63

Se determinó de forma periódica la temperatura de los frutos correspondientes a los dos sistemas de riego, y en el momento de finalizar la aplicación de los mismos, detectándose diferencias máximas entre tratamientos de 7,8°C. Esta diferencia, al proceder el agua de pozo, con una temperatura próxima a los 18°C, fué mayor que en las experiencias expuestas en los apartados anteriores, en las que el agua procedía de embalses, y por tanto, con una mayor temperatura (21,4-28,3°C). En experiencias realizadas con variedadades 'Red Delicious', donde se aplicó el riego de forma continua o cíclica, se provocaron descensos en la temperatura de los frutos de entre 3 y 6°C (Recasens, 1982; Proebsting et al., 1984; Williams et al., 1989; Williams, 1993; Andrews, 1995).

# 4.3.- <u>Efecto del riego por aspersión en la evolución de los parámetros colorimétricos del fruto</u>

La variedad 'Starking Delicious' presenta una coloración irregular, observándose diferencias importantes de color entre la cara más expuesta a la iluminación y la sombreada. Además, el fruto presenta una coloración típicamente estriada, por lo que frecuentemente, determinaciones instrumentales del color mediante el colorímetro no reflejan con exactitud la naturaleza del mismo, en comparación con variedades de color uniforme. Fué por ello, que en la experiencia se pretendía conocer, además del efecto del riego refrescante en el color de los frutos, hasta que punto las determinaciones del color con un colorímetro reflejaban la naturaleza del mismo.

Se exponen a continuación, los resultados obtenidos de la determinación de los parámetros colorimétricos mediante el colorímetro triestímulo Minolta CR 200, para cada uno de los sistemas de riego. La medición del color se realizó en las dos caras del fruto, para cada fecha de muestreo y en los mismos frutos en que se determinó el contenido de antocianos. Posteriormente, y a partir de los valores de ambas caras, se calcularon los correspondientes al fruto entero. El análisis por caras permite conocer la distribución del color en el fruto, y por tanto su uniformidad; mientras que el análisis conjunto del fruto, permite tener una cuantificación global del mismo y posibilita una comparación más facil entre sistemas de riego.

Las coordenadas colorímetricas calculadas para cada fecha y para cada cara del fruto fueron: L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*. Su interpretación desde el punto de vista

de color y su cálculo se ha expuesto en el apartado Introducción: "El color y su medida".

Se han analizado de forma separada los años 1993 y 1994, y posteriormente ambos de forma global. De los diferentes parámetros a\*, b\*, a\*/b\* y Tono, han sido los que en el análisis de regresión han proporcionado los mejores valores de los coeficientes de determinación. Con el parámetro L\* o luminosidad, se ha observado siempre una relación inversa con la coloración, dado que cuanto mayor es ésta (valores altos de a\*/b\* y bajos del Tono), menores son los valores de L\*. Resultados análogos han sido expuestos por otros autores (Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1994), al determinar el color en variedades 'Red Delicious'.

Los coeficientes de variación correspondientes a cada parámetro y fecha, se obtuvieron al realizar el nálisis de la varianza, y oscilaron mayoritariamente entre el 2,4% y el 41%, aunque para algunos parámetros colorimétricos como a\* -en determinadas fechas y años-superaron el 60%. Cuando ello ocurrió y/o la varianza no fué homogenea (vease en Material y métodos: "Tratamiento estadístico"), se calcularon las medias pero no se realizó su separación, lo cual ocurrió en algunas fechas y años con a\*, a\*/b\* y Saturación. Comparando los años, los menores coeficientes correspondieron a 1993 que fué el año de mejor coloración. La cara verde presentó también valores más elevados que la roja. Para los diferentes parámetros los menores valores correspondieron a DE\* y L\*, y los mayores a a\*.

## \* Resultados año 1993

Los valores medios de los parámetros colorimétricos se exponen en el <u>Cuadro 41</u> (tabla 1-40), donde se ha procedido a la separación de medias en cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones: 9/agosto; 26/agosto y 13/septiembre (recolección). En el mismo cuadro, se exponen los valores correspondientes al fruto entero, a la cara roja y a la cara verde.

1993	3336	9/agosto	)	////	26/agos	to		13/septi	e. (recole	eción)
Parámetro	Riego	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
$L^*$	Aspersión	96,6 <sup>+</sup> a	95,0 <sup>++</sup> a	98,3 <sup>++</sup> a	88,8 <sup>+</sup> a	86,3 <sup>++</sup> a	91,3 <sup>++</sup> a	71,9 b	65,1 " b	79 " a
	Manta	94,4 a	92,2 a	96,7 a	90,9 a	89,1 a	92,7 a	84,9 a	82,2 a	87,6 a
a*	Aspersión	-17,6 a	-17,2 a	-18,0 a	-3,0 a	9,4 a	-15,4 a	15,9 a	30,4 a	1,5 a
	Manta	-19,2 a	-19,5 a	-18,9 a	-5,5 a	6,1 a	-17,1 a	11,9 a	23,2 a	0,60 a
b*	Aspersión	37,2 a	35,3 a	39,2 a	33,5 a	33,3 a	33,8 b	20,9 a	19,6 a	22,3 a
	Manta	37,4 a	36,1 a	38,7 a	36,1 a	35,6 a	36,6 a	22,2 a	20,5 a	23,6 a
a*/b*	Aspersión	-0,51 a	-0,45 a	-0,57 a	-0,04 a	0,28 b	-0,37 a	0,82 a	1,6 a	0,04 a
	Manta	-0,52 a	-0.55 a	-0,50 a	-0,17 a	0,13 a	-0,47 a	0,45 b	0,9 b	0,01 a
Tono (°)	Aspersión	115,5 a	114,1 a	117,0 a	81,5 a	75,2 a	87,9 a	76,9 b	33,6 b	120,2 a
	Manta	117,1 a	118,1 a	116,2 a	86,1 a	82,1 a	90,1 a	84,4 a	44,l a	124,8 a
DE*	Aspersión	98,0 a	112,1 a	83,9 a	97,8 a	92,5 a	103,2 a	92,3 b	85,1 b	99,5 a
	Manta	100,1 a	117,2 a	83,1 a	99,1 a	94,1 a	104,1 a	99,9 a	98,3 a	101,8 a

*Cuadro 41:* Valores medios y separación de medias de los parámetros colorimétricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara reja (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo y en la recolección. Variedad *'Starking Delicious'* bajo dos sistemas de riego, año 1993. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ = 0,05).

- (<sup>+</sup>) Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.
- (\*\*) Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.
- (\*) Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.
- (\*) Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

En la <u>recolección</u>, y teniendo en cuenta tanto la cara roja del fruto como la media de caras, se detectaron diferencias significativas para L\*, a\*/b\*, Tono y DE\*. Los mayores valores de a\*, a\*/b\*, y los menores del Tono y DE\*, indican una mayor coloración de los frutos regados por aspersión, a los cuales correspondieron los menores valores de L\*. La cara verde no presentó diferencias entre tratamientos. Para un mismo riego y fecha, se dieron importantes diferencias entre caras, especialmente en L\*, a\*, a\*/b\* y Tono, lo que indica que la cara verde presentó siempre menor color que la cara roja.

En la <u>fecha previa</u> a la recolección (26/agosto), el mayor valor de a\*/b\* para la cara roja correspondió al riego por aspersión, lo que indicaría una mayor precocidad en la coloración de los frutos. Sin embargo, para el resto de parámetros no se dieron diferencias entre riegos, como tampoco las hubo en la primera fecha de muestreo. Es por ello, que las diferencias entre riegos se produjeron en los días previos a la recolección.

## \* Resultados año 1994

En 1994 se realizaron 4 muestreos, intercalando uno adicional antes de la recolección, dado que en 1993 se observó que en los días previos a la recolección se producía un incremento importante del color. Las fechas de muestreo se adelantaron, dado que la floración se anticipó con respecto a 1993, realizándose los días: 6/agosto; 21/agosto, 29/agosto y 6/septiembre. Los valores medios de los parámetros colorimétricos correspondientes a los diferentes tratamientos y fechas, se exponen en el *Cuadro 42* (tabla 1-41).

1994	6/agosto	14.6F	11 .	21/agos	sto .	\\ //.A	29/agoste	0		6/septie	. (recole	ección)
Pará./ Riego	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
L*	30 m	j/										
Aspersión	69,5 <sup>+</sup> a	66,8 <sup>++</sup> a	72,3 <sup>++</sup> a	61,8 <sup>+</sup> a	53, 1 <sup>++</sup> b	$70,5^{++}$ a	63,5 b+	58 <sup>++</sup> b	69 <sup>++</sup> a	59,5° b	54" b	65"a
Manta	69,7 a	67,4 a	72,0 a	63,5 a	57,5 a	69,6 a	66,2 a	61,6 a	70,8 a	63,3 a	59,0 a	67,6 a
a*	! -	70.55			7/1///							
Aspersión	-14,1 a	-11,2 a	-17,1 a	4,2 a	16,5 a	-8,1 a	1,8 a	11,0 a	-7,3 a	9,6 a	18,3 a	0,90 a
Manta	-13,3 a	-8,6 a	-18,1 a	0,40 a	9,9 b	-9,1 a	-3,3 a	3,1 b	-9,8 a	5,9 a	12,2 b	-0,37 a
b*												
Aspersión	37,3 a	35,2 a	39,4 a	31,9 a	27,7 a	36,0 a	30,9 a	27,5 a	34,3 a	30,5 a	27,1 b	34,0 a
Manta	37,9a	36,8 a	39,0 a	33,9 a	29,1 a	38,6 a	32,5 a	29,3 a	35,7 a	32,7 a	30,6 a	34,9 a
a*/b*							-					ĺ
Aspersión	-0,35 a	-0,23 a	-0,47 a	0,22 a	0,60 a	-0,15 a	0,20 a	0,52 a	-0,11 a	0,39 a	0,74 a	0,05 a
Manta	-0,37 a	-0,32 a	-0,42 a	0,05 b	0,35 b	-0,25 a	-0,06 b	0,14 b	-0,27 b	0,17 b	0,33 b	0,01 a
Tono (°)												
Aspersión	107,6 a	102,5 a	113,2 a	72,6 a	50,1 b	95,1 a	81,5 b	67,0 b	96,1 b	72,5 b	57,0 b	88,1 a
Manta	114,4 a	107,8 a	115,0 a	86,2 a	72,4 a	100,2 a	93,8 a	82,5 a	105 a	80,1 a	69,1 a	91,2 a
DE*					-							
Aspersión	80,0 a	76,3 a	83,7 a	71,0 b	61,8 b	80,2 a	72,0 a	65,0 b	79,1 a	68,7 a	63,1 b	74,4 a
Manta	81,1 a	78,1 a	84,2 a	73,9 a	66,8 a	81,1 a	74,9 a	69,8 a		72,2 a	67,6 a	76,8 a

*Cuadro 42:* Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara roja (CR) y cara verde (CV), en diferentes lechas. Variedad '*Starking Delicious*' bajo dos sistemas de riego, año 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

Los valores correspondientes a la primera fecha de muestreo, no presentaron

diferencias entre los dos sistemas de riego, y fueron similares a los de 1993. Si se analiza el efecto del riego, en el momento de la <u>recolección</u> y teniendo en cuenta la cara roja, se dieron diferencias significativas para todos los parámetros, lo que indica que en base a dichas variables los frutos regados por aspersión tuvieron una mayor coloración. Para la cara verde, no se dieron diferencias significativas en ninguno de los parámetros colorimétricos en la recolección, lo que indicaría que el incremento de color, se debió fundamentalmente a la mayor coloración de la cara roja en los frutos regados por aspersión.

En los dos <u>fechas previas a la recolección</u>, se detectaron diferencias significativas para todos los parámetros colorimétricos, a excepción de b\*, lo que evidencia una mayor coloración de los frutos bajo riego por aspersión (color más intenso), especialmente en la cara más roja, y una mayor <u>precocidad</u> de la misma. El incremento de color, se debió a los mayores contenidos de antocianos de la cara más iluminada, y pone de manifiesto que la luz favorece su desarrollo, especialmente en variedades de poca coloración como *'Starking Delicious'*.

Para todos los parámetros colorimétricos, tanto en el fruto entero como por caras, se observa, que es a partir de la segunda fecha de muestreo, cuando se produce una evolución importante y diferencial entre los dos sistemas de riego, debido a que la síntesis de antocianos, y consecuentemente la coloración de los frutos, tiene lugar mayoritariamente en el período previo a la recolección. Estos resultados coinciden parcialmente con los obtenidos en 1993, dado que en dicho año, en la recolección no existieron diferencias significativas para todos los parámetros analizados y en la fecha previa ningún parámetro presentó diferencias. Contrariamente en 1994, tanto en la recolección como en las dos fechas previas se dieron diferencias para la mayoría de parámetros. Ello puede ser debido, a que las temperaturas antes de la recolección fueron más bajas en 1993 y por tanto pudieron enmascarar el afecto del riego en el color de los frutos.

Considerando cojuntamente los dos años, puede concluirse que el sistema de riego por aspersión favoreció un mejor desarrollo del color que el riego a manta. En años más secos y calurosos, como 1994, el riego por aspersión produjo una mayor modificación de los parámetros colorímetricos, que en años con condiciones más favorables al desarrollo del color, como 1993.

Para una misma fecha y riego, se dieron diferencias significativas en los parámetros colorimétricos de ambas caras del fruto; la significación del factor cara se analiza en apartados posteriores. El estudio de los parámetros colorimétricos correspondientes a las dos caras del fruto y a los dos años, aporta información sobre la intensidad del color, su distribución y uniformidad. En la *Figura 1-64*, se ha representado la evolución de a\*/b\* correspondientes a la cara roja y a la cara verde para los años 1993 y 1994. Los mayores valores del ratio a\*/b\* para la cara roja, correspondieron a 1993; mientras que para la cara verde se obtuvieron valores similares en 1993 y 1994.

## Figura 1-64

Para los dos años existieron diferencias importantes entre caras, siendo los valores de a\*/b\* de la cara roja, entre 10 y 15 veces superiores a los de la cara verde, lo que indica que la distribución del color en el fruto es poco uniforme. Este hecho se da habitualmente en variedades de poca coloración como 'Starking Delicious' o en variedades bicolores, viéndose favorecido el color en la cara más expuesta a la iluminación. En otras experiencias de riego refrescante, se ha observado (variedad 'Early Red One') una mayor uniformidad e intensidad de color (Figura 1-26).

El resto de parámetros colorimétricos expuestos en los <u>Cuadros 41</u> y <u>42</u> (ver tablas\\tab 40 1-40\\ y \\tab 41 1-41\\), indican un comportamiento similar al expuesto para a\*/b\*, y

ponen de manifiesto las diferencias entre caras. El parámetro a\*, siempre fué superior en la cara roja, dado que indica el grado de coloración roja. Sin embargo, en experiencias realizadas por otros autores, variedades con una mayor coloración roja proporcionaron menores valores de a\*, lo que no ocurrió con el ratio a\*/b\*, que se considera que está bien relacionado con la percepción visual del color (Singha et al., 1991a,b; 1994).

## 4.4.- Efecto del riego por aspersión en el contenido de antocianos del fruto

La determinación cuantitativa de los pigmentos antocianos se realizó, al igual que los parámetros colorimétricos, para ambas caras del fruto, para las diferentes fechas en que se realizaron los controles, y para los dos sistemas de riego. Los coeficientes de variación fueron mayores que para los parámetros colorimétricos, y oscilaron alrededor del 29%, correspondiendo los mayores a 1994, a las primeras fechas de muestreo y a la cara verde. En el <u>Cuadro 43</u> (tabla 1-42), se han expuesto los resultados obtenidos para los años 1993 y 1994.

Año/	9/agosto			26/agosto			-			13/septie. (recolección)			
Riego													
1993	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	
Aspersión	3,6 <sup>+</sup> a	5,0 <sup>++</sup> a	4,8 <sup>+</sup> a	7,9 <sup>++</sup> a	1,8++		-	-	-	28,4 •a	40,1••a	16,7 <b>••</b> a	
Manta	2,4 a	3,9 a	0,90 a	3,7 a	6,1 a	1,3 a	-	-	-	23,3 b	32.2 b	14,5 a	
1994	6/agosto			21/agosto			29/agosto			6/septie. (recolección)			
Aspersión	1,2 a	1,6 a	0,90 a	6,7 a	11,6 a	1,8 a	$6,2^{+}$ a	10,6 <sup>++</sup> a	1,9 <sup>++</sup> a	12,8 a	19,8 a	5,8 a	
Manta	0,90 a	1,1 a	0,70 a	3,3 b	5,4 b	1,2 a	3,2 b	5,4 b	1,1 a	8,7 b	12,7 b	4,8 a	

*Cuadro 43:* Valores medios y separación de medias de los contenidos de antocianos (expresados en nmoles/cm $^2$ ), correspondientes al fruto entero (Total), cara reja (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo. Variedad *'Starking Delicious'*, bajo dos sistemas de riego, años 1993 y 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

- (<sup>+</sup>)Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.
- (++)Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.
- (\*)Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.
- (")Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

Tanto en 1993 como 1994, se dieron diferencias significativas en el momento de la recolección para la cara roja y para la totalidad del fruto, correspondiendo los mayores contenidos de antocianas al riego por aspersión; para la cara verde no existieron diferencias entre tratamientos. En las fechas previas a la recolección, no hubo diferencias entre riegos en 1993, mientras que en 1994, tanto en la segunda como en la tercera fecha de muestreo (21 y 29 de agosto), los mayores contenidos correspondieron al riego por aspersión, no existiendo diferencias en la primera fecha.

Los valores correspondientes a las dos <u>caras</u> del fruto, presentaron en todas las fechas diferencias importantes, lo que indica que la distribución de antocianas depende de la cara y es por tanto fotodependiente (Bishop et al., 1975; Proctor et al., 1976; Clerinx, 1983; Mancinelli, 1985). En la recolección, las diferencias entre riegos se mantuvieron, siendo mas importantes en 1994, año al que correspondió la menor coloración. Dichos resultados son similares a los expuestos para los parámetros colorimétricos y evidencian la <u>poca uniformidad</u> del color del fruto y que la distribución de antocianos está determinada en gran parte por la cara. Además de la poca uniformidad, es de destacar los bajos contenidos de antocianos de la cara verde en 1994, lo que indica la escasa coloración de la variedad

'Starking Delicious'. Resultados opuestos se han obtenido con la variedad 'Early Red One' en la presente Tesis, para la cual los contenidos de antocianos fueron de hasta 10 veces superiores a los de 'Starking Delicious'.

En la *Figura 1-65*, se ha representado la evolución del contenido de antocianos para los años 1993 y 1994, para los dos sistemas de riego, y para las dos caras del fruto. En la recolección, las diferencias entre años fueron considerables, siendo los valores de 1993 entre 2 y 3 veces superiores con respecto a los de 1994. Ello pudo ser debido al efecto de las temperaturas, que fueron más bajas en 1993 y por tanto más favorables a la síntesis de antocianos (Hulme, 1970; Proctor, 1974; Tan, 1979; Faragher et al., 1983; Recasens et al., 1983). En el tercer muestreo de 1994 se produjo una ligera disminución, para después incrementar de forma importante.

## Figura 1-65

Las diferencias entre caras fueron importantes los dos años, siendo los contenidos de la cara roja entre 2 y 4 veces superiores a los de la cara verde. En 1994, con condiciones menos favorables a la coloración, las diferencias fueron mayores, siendo los valores correspondientes a la cara verde muy bajos (< 6 nmoles/cm^2), lo que indica la escasa coloración de los frutos.

Los resultados obtenidos son análogos a los expuestos para los parámetros colorimétricos. Fué a partir de la segunda fecha de muestreo cuando se produjo, especialmente en 1993, el mayor incremento y una evolución diferencial entre los dos sistemas de riego, debido a que la síntesis de antocianos tiene lugar mayoritariamente en el período previo a la recolección.

Estos resultados confirman las observaciones realizadas por otros autores según los cuales el desarrollo del color se produce fundamentalmente durante las 2 o 3 semanas previas a la recolección (Chalmers et al., 1973; Arakawa, 1988b; Saure, 1990; Singha et al., 1994). Sería también en dicho período cuando se produciría la transición de estados inmaduros a maduros, tanto desde el punto de vista de la coloración, como de la maduración (Chalmers et al., 1973).

Considerando globalmente los dos años, puede concluirse, que el sistema de riego por aspersión favoreció un mejor desarrollo del color que el riego a manta, debido a la disminución de las temperaturas y su efecto en la síntesis de antocianos (Chalmers et al., 1973; Mayles, 1989; Williams, 1989a; Saure, 1990). Así mismo, en años más calurosos como 1994, el riego por aspersión produjo modificaciones más importantes -tanto del contenido de antocianos como de los parámetros colorimétricos- que en años con condiciones más favorables al desarrollo del color.

Los resultados obtenidos son coincidentes a los expuestos por otros autores (Unrath 1972a,b; Gilbert et al., 1970; Recasens et al., 1981; 1988; Recasens, 1982; Proebsting et al., 1984; Ferree et al., 1988; Willet, 1989; Williams, 1989; Evans, 1993a; Williams, 1993; Andrews, 1995), que indicaban una mayor coloración para el riego por aspersión, aunque en dichas experiencias el riego por aspersión se aplicó diariamente como riego refrescante y no como aporte hídrico, por lo que las experiencias no son directamente comparables. Se dispone de pocas referencias donde se comparan sistemas de riego y su influencia en el color, dado que la mayoría de experiencias con respecto al riego por aspersión, se refieren a su utilización como riego refrescante aplicado diariamente de forma cíclica o continua.

Complementariamente, y para el año 1994, se determinó de forma visual el color de los frutos, como porcentage de la superficie del fruto con presencia de color (*Figura 1-66*). La evolución es similar a la expuesta para el contenido de antocianos y a\*/b\*, produciéndose un incremento importante a partir de mediados de agosto. El porcentage medio de color en la

recolección fué bajo y osciló entre el 32% y el 50%, detectándose diferencias significativas entre riegos, correspondiendo la mayor coloración a los frutos regados por aspersión.

## Figura 1-66

Posteriormente, se estableció la relación entre entre el contenido de antocianos y la apreciación visual del porcentage del fruto coloreado, expresado éste como porcentage unitario del área del fruto con presencia de color, en una escala de 0 a 10. Se obtuvo un valor del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) = 0,60; con una regresión simple de ajuste exponencial. En otras experiencias con variedades *'Red Delicious'*, se han relacionado los valores de colorimetría con la apreciación visual o el atractivo del color de los frutos, estableciendo para ello una escala hedónica de 0 (color no atractivo) a 10 (color muy atractivo), obteniéndose valores de  $R^2$  de entre 0,55 y 0,73 (Singha et al., 1991a,b).

Cuando el ratio de apreciación visual del color se relacionó con las variables colorimétricas el mejor ajuste relativo se obtuvo para el Tono (R<sup>2</sup>=0,53). En experiencias con otras variedades 'Red Delicious' de mayor coloración (Singha et al., 1991a,b), se obtuvieron valores próximos a 0,80. Los resultados obtenidos indican que la medición del color con un colorímetro en la variedad 'Starking Delicious', se relaciona de una forma medianamente aceptable con la apreciación visual del mismo.

# 4.5.- Significación de factores principales y de sus interacciones

En los apartados anteriores, se ha estudiado la influencia del factor riego en el contenido de antocianos y en los parámetros colorímetricos de los frutos. Otros factores como: el árbol, el fruto, la cara y sus interacciones, son de interes agronómico, dado que aportan información sobre la influencia del sistema de riego en la distribución del color, tanto en las caras como en los frutos, y en el conjunto del árbol; determinado éste en base a los contenidos de antocianos y a los parámetros de colorimetría.

En el <u>Cuadro 44</u> (tabla 1-43), se han indicado para el contenido de antocianos, L\*, a\*/b\* y Tono, la interacción de los factores riego, árbol, fruto y cara, y de algunas de sus interacciones, en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994. En variedades rojas como 'Starking Delicious', la no significación de dichos factores, indica mayor uniformidad del color y una influencia no significativa del factor riego. Es por ello, que <u>conocer su significación es de interés agronómico dado que permite obtener información acerca de la distribución del color</u>.

Factor		1993		•	1994					
	Anto.	L*	a*/b*	Tono	DE*	Anto.	L*	a*/b*	Tono	DE*
ARBOL x RIEGO	ns	ns	**	*	ns	ns	*	**	*	*
ARBOL x RIEGO x	*	ns	*	*	*	*	*	*	**	ns
FRUTO										
CARA	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
RIEGO x CARA	*	**	*	*	**	**	**	**	**	**

*Cuadro 44:* Significación de algunos factores y/o de algunas de sus interacciones para el contenido de antocianos, L\*, a\*/b\*, Tono y DE\*, de la variedad *'Starking Delicious'* bajo dos sistemas de riego, en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994.

Anto.: Contenido de antocianos.

ns: no significativo.

(\*), (\*\*): nivel de significación  $\alpha$ =0,05 y  $\alpha$ =0,01; respectivamente.

La interacción árbol x riego (factores jerarquizados), fué significativa para la mayoría de parámetros, lo que indica que se dieron diferencias en la coloración entre los árboles de un mismo tratamiento; lo mismo ocurrió con la interacción triple árbol x fruto x riego, por lo que hubo diferencias en el color de los frutos de los árboles de un mismo tratamiento. El factor cara mostró significación para todos los parámetros, lo que indica que existieron diferencias entre las dos caras del fruto, correspondiendo la mayor coloración a la cara más iluminada. Variedades de mejor coloración como 'Early Red One' y 'Oregón Spur', presentaron una mayor uniformidad de color tanto en el fruto como en el árbol (Cuadro 20, ver \\tab 19 tabla 1-19\\)). La interacción riego x cara, fué significativa para los diferentes parámetros y para los dos años, por lo que el riego afectó de forma diferente a la coloración de las dos caras del fruto, incrementando el color principalmente de la cara roja.

A continuación se analiza la significación de los factores <u>riego y año</u> con el factor fecha, debido a su influencia en el color de los frutos.

#### 4.6.- Análisis conjunto años 1993 y 1994. Influencia de los factores riego y año

#### 4.6.1. - Parámetros colorimétricos

Como resultado global de la experiencia, interesa comparar de forma conjunta los resultados obtenidos durante los dos años del ensayo, tanto del efecto del factor riego como del factor año, en los parámetros colorimétricos. Para ello, se ha considerado la media de las tres fechas comunes en que se realizaron las determinaciones. Con respecto al <u>factor riego</u> (<u>Cuadro 45</u>, tabla 1-44), existieron diferencias significativas para el parámetro a\*/b\*, tanto en la recolección como en la fecha previa, y para el Tono en la recolección; resultados que indicaban una mayor coloración para el riego por aspersión. No se dieron diferencias en el resto de parámetros.

Parámetro	Año	DETERMIN	NACIONES (1	FECHAS)	Interacción FECHA x RIEGO	
		1 : Primera	2 : Segunda	3 : Recolección		
L*	Aspersión Manta	75,2a 88,1 a	78,6a 84,1 a	71,la 75,3 a	ns	
a*/b*	Aspersión Manta		0,19a 0,09 b	0,55a 0,15 b	ns	
Tono (°)	Aspersión Manta	/	81,la 85,3a	75,1 b 84,2a	ns	
DE*	Aspersión Manta	86,6a 99,3a	86,4a 90,la	79,2a 82,5a	ns	

*Cuadro 45:* Valores de los parámetros colorimétricos correspondientes a la media de los años 1993 y 1994 para los dos sistemas de riego, y significación de la interacción *fecha x riego*, variedad '*Starking Delicious*'. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0,05$ ). (ns): no significativo.

La interacción *fecha x riego* no fué significativa para ninguno de los parámetros evaluados, lo indica que la evolución de dichos parámetros colorimétricos a lo largo del tiempo, no se vió afectada significativamente por el sistema de riego.

Debido al efecto de las temperaturas en la síntesis de antocianos, y teniendo en cuenta

<sup>(\*):</sup> nivel de significación  $\alpha$ =0,05.

que se produjeron variaciones importantes entre años, es de interés conocer el efecto del factor <u>año</u> en la coloración de los frutos. En las experiencias realizadas durante los años 1993 y 1994, se dieron diferencias importantes en las temperaturas, siendo 1993 un año con temperaturas mínimas inferiores a las de 1994, mientras que en 1994, las condiciones climáticas fueron las propias de un año más caluroso de lo habitual. Se calcularon los parámetros colorimétricos correspondientes a la media de los dos sistemas de riego, para los años 1993 y 1994, y para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones, con el objeto de estudiar el efecto del factor año. En el momento de la recolección las diferencias entre los dos años fueron significativas para todos los parámetros.

La significación de la interacción *fecha x año* para los parámetros a\*/b\* y Tono, indica que la evolución de a\*/b\* y Tono para las diferentes fechas dependió del factor año, y pone de manifiesto la influencia las temperaturas en los parámetros colorímetricos.

#### 4.6.2. -Contenido de antocianos

Tanto en 1993 como en 1994, el incremento más importante de la concentración de antocianos tuvo lugar al aproximarse la recolección, lo que indica la importancia del tiempo, evaluado éste en base a los diferentes muestreos o factor <u>fecha</u>. Por otra parte, la influencia de las temperaturas en la coloración de los frutos, durante los dos años de la experiencia, se evaluó con el factor <u>año</u>.

La evolución de los contenidos de antocianos correspondientes a cada sistema de riego, y para los valores medios de los años 1993 y 1994, se ha representado en la *Figura 1-67*.

Tanto en la segunda fecha como en la recolección, los contenidos correspondientes al riego por aspersión fueron superiores a los del riego a manta. En la misma figura se refleja también la evolución del contenido de antocianos para los años 1993 y 1994, y para la media de los dos sistemas de riego. Los valores de 1993 fueron superiores a los de 1994, para la segunda fecha de muestreo y para la recolección.

Figura 1-67

Considerando de forma conjunta los años 1993 y 1994, la interacción *fecha x riego* no fué significativa, lo que indica que el contenido de antocianos para las distintas fechas no se vió influenciado de forma consistente por el sistema de riego, a pesar de que fué superior para el riego por aspersión. Teniendo en cuenta la media de ambos sistemas de riego, la concentración de antocianos para las diferentes fechas se vió influenciada de forma significativa por el año (interacción *fecha x año*); siendo en el año 1993 cuando el contenido fué superior, debido a que las temperaturas en el período previo a la recolección diferieron considerablemente entre años. Estos resultados son coincidentes a los obtenidos por otros autores (Unrath,1972a,b; Saure, 1990; Clerinx, 1983; Crassweller et al., 1989; Williams, 1993), según los cuales existe una interacción significativa del color y del contenido de antocianos con el factor año.

Figura 1-68 Figura 1-69

Figura 1-70

#### 4.7.- Relación entre las condiciones ambientales y la síntesis de antocianos

Las condiciones ambientales se modificaron por el riego por aspersión y también presentaron diferencias entre años. Las temperaturas mínimas en el período previo a la recolección de 'Starking Delicious' fueron muy inferiores en 1993 (Figura 1-37). Fué en

dicho período, cuando se produjo el incremento más importante del contenido de antocianos, reflejado también por una evolución de los parámetros colorimétricos (figuras <u>1-64</u> y <u>1-65</u>); resultados que son coincidentes con los expuestos por otros autores (Recasens, 1982; Recasens et al., 1984;1988). El salto térmico para dicho período fué similar en los años 1993 y 1994 (<u>Figura 1-38</u>), por lo que puede afirmarse que las temperaturas mínimas en 1993, tuvieron un efecto más importante en la síntesis de antocianos que el salto térmico.

El efecto del riego por aspersión en la mejora del color, se debe a que provoca una disminución de la temperaturas máximas y mínimas durante el período en que es aplicado (8-9 horas). El hecho de no aplicarse con una periodicidad diaria, pudo haber ocasionado que el efecto del riego en la mejora del color no fuera tan importante como en las experiencias de riego refrescante. El riego a manta, no influyó en la mejora del color; de hecho su aplicación no modificó la temperatura y la humedad relativa ambientales (Figura 1-63) de la plantación.

El incremento de la humedad relativa que provocó el riego por aspersión, alrededor de un 30%, no parece que pueda tener una influencia directa en la síntesis de antocianos (Gilbert et al., 1970), aunque según Saure (1990), existiría una correlación entre la baja humedad relativa y el incremento del color rojo. Sin embargo, los resultados obtenidos indican una mayor coloración de los frutos sometidos a riego por aspersión, que son los que se encuentran bajo condiciones de mayor humedad relativa ambiental.

Para ilustrar la influencia de las temperaturas en la síntesis de antocianos, en la *Figura 1-71*, se ha representado gráficamente la evolución de las temperaturas mínimas con sus correspondientes contenidos de antocianos (correspondientes al riego por aspersión) en cuatro fechas, del período 9 de agosto-7 de septiembre.

#### Figura 1-71

En 1993 que se dieron, a partir del día 20 de agosto, temperaturas mínimas inferiores a las de 1994, el contenido de antocianos fué superior, existiendo por tanto una relación inversa entre dichas variables. Creasy (1968), Tan (1979;1980), Faragher, 1983; Arakawa (1988b) y Singha et al. (1994), pusieron en evidencia que la cantidad de pigmentos sintetizada antes de la recolección, estaba inversamente relacionada con la temperatura.

#### 4.8.- Evolución de la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL)

Durante los años 1993 y 1994 se determinó, paralelamente al contenido de antocianos, la evolución de la actividad de la PAL para los dos sistemas de riego aplicados. Se observaron diferencias entre tratamientos en cuanto a la actividad enzimática, a la fecha en que ésta alcanzó su valor máximo, y a su evolución a lo largo del tiempo. En los frutos regados por aspersión, la actividad fué superior con respecto a los regados a manta, lo que puede deberse al efecto refrescante del riego, aspecto éste ya mencionado en otros trabajos donde se aplicaron productos nutricionales y fitoreguladores, los cuales incrementaron la actividad de la PAL (Faragher et al., 1984; Blankenship et al., 1988).

La actividad enzimática de la PAL correspondiente a los años 1993 y 1994, y para los dos sistemas de riego, se ha representado en la *Figura 1-72*, observándose diferencias significativas entre riegos, las cuales fueron más importantes en 1994. Ello pudo deberse, al igual que ocurrió con los antocianos, a que las temperaturas en el período previo a la recolección fueron inferiores en 1993, y enmascararon parcialmente el efecto del riego por aspersión.

## Figura 1-72

La evolución de la actividad enzimática de la PAL fué similar en los años 1993 y 1994, presentando un máximo previo a la recolección y posteriormente una disminución. Las

diferencias entre años fueron importantes, siendo la actividad máxima de 1993 más del doble que la de 1994. Los niveles tanto de partida como finales fueron también superiores en el año 1993, lo que pone de manifiesto la influencia positiva de las bajas temperaturas promoviendo la actividad de la PAL (Creasy, 1974; Faragher, 1983; Faragher et al., 1984). En experiencias realizadas con la variedad *'Starking Delicious'* en la zona de Lleida, donde se aplicaron diferentes productos nutricionales y reguladores de crecimiento para la mejora del color, se obtuvieron valores de actividad enzímatica de la PAL similares a los expuestos (Larrigaudiere, 1995; Larrigaudiere et al., 1995).

Faragher et al. (1977), Blankenship et al. (1988), y Cheng et al. (1991), encontraron una estrecha relación entre la actividad de la PAL, y la producción y acumulación de antocianos en la piel del fruto, los cuales se incrementaban durante el proceso de maduración. Por otra parte, a medida que se aproxima la recolección, los frutos tienen una mayor respuesta a la activación de la PAL (Larrigaudiere et al., 1995), tanto por factores endógenos al fruto (etileno, giberelinas, etc.), como externos (aplicación de reguladores de crecimiento, temperatura, luz, etc.). Es por ello, que se consideró de interés conocer la relación existente entre la actividad enzimática de la PAL y los correspondientes contenidos de antocianos, así como su evolución, para los años 1993 y 1994 (*Figura 1-73*).

#### Figura 1-73

Al igual que ocurrió en otras experiencias (Hyodo, 1971; Arakawa, 1986; Blankenship et al., 1988; Cheng et al., 1991; Guiwen et al., 1991), la síntesis de antocianos continuó después de que la actividad de que la PAL hubiese ya alcanzado un máximo. La misma observación ha sido realizada por otros autores con la variedad 'Starking Delicious' (Larrigaudiere, 1995; Larrigaudiere et al., 1985), lo que indica que la cinética de evolución de la actividad enzimática de de la PAL es diferente a la de la síntesis de antocianos, a pesar de de que ambas rutas de síntesis están estrechamente relacionadas.

El máximo de la actividad de la PAL no coincide con la máxima acumulación de antocianos, sino que se produce un desfase de entre 10 y 20 días entre ambos; diferencia que puede explicarse, dado que en la biosíntesis de antocianos se producen 11 reacciones enzimáticas, siendo la primera de ellas catalizada por la PAL. Es por ello, que se produce una diferencia en el tiempo entre el inicio de la biosíntesis y la producción final de antocianos, hecho también obsevado por otros autores (Faragher et al., 1977; Arakawa, 1986; Blankenship et al., 1988; Cheng et al., 1991).

Así mismo, una mayor actividad enzimática de la PAL, llevó siempre implicito un mayor contenido final de antocianos en la piel del fruto. En años como 1993, con temperaturas más bajas que en 1994, se obtuvo una mayor coloración final de los frutos, lo que primariamente pudo deberse a la mayor actividad de la PAL, que fué aproximadamente el doble que en 1994. Paralelamente el contenido de antocianos de 1993, alcanzó también valores dos veces superiores con respecto a 1994. En trabajos precedentes, algunos autores habían observado que al alcanzar la PAL un determinado nivel de actividad enzimática, la acumulación de antocianos se detenía (Arakawa, 1986; Cheng et al., 1991). Faragher (1980) estableció este valor en 1,25 nkat/kg de peso fresco para la variedad 'Jonathan', lo cual no coincide con los resultados que se acaban de exponer, dado que dicho valor se superó en 1993.

En experiencias realizadas en la presente Tesis con la variedad 'Early Red One' (año 1993), el riego refrescante aplicado tanto al mediodía como al anochecer, promovió la actividad enzimática de la PAL. La buena coloración de dicha variedad estuvo relacionada con valores de actividad enzimática 2 veces superiores a los expuestos para la variedad 'Starking Delicious', lo que se tradujo en elevados contenidos de antocianos (Figura 1-32);

hecho postulado por otros autores (Given et al., 1988), según los cuales, en variedades de mayor coloración la actividad de la PAL debía ser mayor.

Puede por tanto afirmarse, que la mejora del color por la aplicación del riego por aspersión en la variedad 'Starking Delicious', actua promoviendo la actividad de la PAL. El incremento de este enzima en la presente experiencia ha estado directamente relacionado con la biosíntesis de antocianos, por lo que los resultados son coincidentes a los obtenidos por otros autores (Faragher et al., 1977a,b; Faragher et al., 1984; Blankenship et al., 1988; Larrigaudiere, 1995; Larrigaudiere et al., 1995).

#### 4.9.- Relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos del fruto

En las experiencias se determinó para cada uno de los frutos de las diferentes muestras, tanto los valores de cromaticidad como sus correspondientes contenidos de antocianos, con el objeto de establecer las relaciones entre ambas variables. Diferentes autores han determinado en variedades '*Red Delicious*' la relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos o la apreciación visual del color de los frutos, obteniendo valores de los coeficientes de determinación de entre 0,59 y 0,93 (Francis, 1975;1980; Polesello et al., 1980; Singha et al., 1991a,b; Graell et al., 1993; Lancaster et al., 1994).

El análisis de regresión entre los parámetros colorimétricos (L\*, a\* y b\*, Tono, Saturación y DE\*), con el contenido de antocianos correspondiente a las mismas, se realizó unicamente en la <u>recolección</u> y de forma conjunta para los dos tratamientos de riego. Se analizaron también de forma cojunta los dos años y las dos caras del fruto y, posteriormente, de forma separada los años y las caras. Los modelos de <u>regresión lineal múltiple</u> obtenidos figuran en el <u>Cuadro 46</u> (tabla 1-45), en todos los casos fueron altamente significativos (\*\*: a=0,01).

El valor del coeficiente de determinación (R²), para 1993+1994 conjuntamente, fué de 0,55; mientras que si se considera unicamente 1993 descendió a 0,39, y fué de 0,51 para 1994. El resultado que cabría esperar es el inverso, dado que en experiencias expuestas en el presente trabajo, se obtuvieron los valores más elevados para 1993, que fué el año de mayor coloración. Si se comparan las caras, los menores valores de R² correspondieron a la cara roja, lo que también ocurrió en la variedad 'Topred Delicious' (Cuadro 31) \\tab 30 \tab 1 - 30\\\, y en las variedades evaluadas en el Capítulo II.

Período/	Ecuación del modelo de regresión [Intérvalo de	$R^2$
cara	confianza β]*	
1993+	y = 84,5 - 0,46 a* - 1,17 b* - 0,40 Tono	0,55**
1994		
	$a^* = [-1,06 • -0,01]; b^* = [-0,99 • -1,35]; Tono=$	
	[-0,16 ◆ -0,64]	
1993	y= 71,6 - 0,26 L* - 0,59 b* - 0,13 Tono	0,39**
	L*= $[-0.04   -0.56]$ ; b* = $[-0.07   -1.25]$ ; Tono=	
	[- 0,0'5 <b>♦</b> -0,21 ]	
1994	$y = 21.8 - 0.42 b^* + 9 (a^*/b^*)$	0,51**
	$b^* = [-0, 10 - 0.74]; a^*/b^* = [13.7 - 4.3]$	
Cara roja	y = 70,7 - 1,5 b* - 0,16 Tono	0,38**
	$b^* = [-0.84 * -2.16]$ ; Tono = $[-0.03 -0.35]$	
Cara verde	y = 29.1 - 0.62 b*	0,43**
	$b^* = [-0.52 \bullet -0.72]$	

Cuadro 46: Modelos de regresión lineal múltiple, intérvalos de confianza de las variables, coeficientes de determinación (R²) y significación de diferentes, modelos de regresión lineal múltiple entre el contenido de antocianos y los valores colorimétricos de la variedad 'Starking Delicious', en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994.

(y): contenido de antocianos.

(\*)nivel de significación α=0,05.

(\*\*): nivel de significación  $\alpha$ =0,01.

En base a los resultados obtenidos, puede concluirse, que los modelos de regresión lineal múltiple indicarían una predicción medianamente aceptable de los contenidos de antocianos en base a los parámetros colorimétricos, debido al porcentage de variabilidad explicada por los mismos (< 56%). Los valores de R² expuestos son inferiores a los obtenidos en diversos trabajos con otras variedades '*Red Delicious*', donde oscilaron entre 0,65 y 0,80 (Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1990a,b; 1994; Graell et al., 1993).

Se realizó también un análisis de <u>regresión simple</u> entre el contenido de antocianos y cada uno de los valores colorimétricos L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*. Se eligieron los modelos que proporcionaron los mejores ajustes (mayor R²) y que fueran significativos (a 0,05), considerando de forma conjunta y de forma separada los años 1993 y 1994, para el fruto entero y por caras. En la *Figura 1-74*, se exponen 4 regresiones simples correspondientes a los valores conjuntos de 1993 y 1994. Los modelos de regresión que proporcionaron el mejor ajuste, correspondieron a ecuaciones polinómicas (a\*, a\*/b\* y Tono) y exponenciales (b\*). En cada caso se ha representado el tipo de ecuación (exponencial, potencial, logarítmica, polinómica), que presentó un mejor ajuste, así como su correspondiente coeficiente de determinación.

De los 7 parámetros colorimétricos, ninguno proporcionó valores de R<sup>2</sup> superiores a 0,60; siendo en general inferiores a 0,50. El mejor ajuste correspondió a: Tono, a\*/b\*, a\* y b\*. Resultados análogos se obtuvieron considerando separadamente las dos caras del fruto, proporcionando valores superiores la cara roja. En el año 1993, y considerando cojuntamente las dos caras del fruto, los mayores valores de R<sup>2</sup> correspondieron a: Tono (0,60), a\*/b\* (0,51) y DE\* (0,50); mientras que para 1994 fueron: a\*/b\* (0,53), Tono (0,52) y DE\* (0,52).

Figura 1-74

Los resultados obtenidos indican que la mayoría de modelos explicaron menos del 60% de la variabilidad existente. Sin embargo, el ehlevado número de puntos utilizados para los ajustes y el hecho de que las regresiones fueron siempre significativas, proporciona una mayor validación de la hipótesis de significación, por lo que la predicción de los contenidos de antocianos en base a los parámetros colorimétricos, puede considerarse aceptable para valores de R² superiores al 45% (Baugher et al., 1995). Resultados similares para a\*/b\* y para el Tono fueron obtenidos por Singha et al. (1991b), al evaluar variedades 'Red Delicious'. Al igual que se acaba de exponer, dichos autores siempre obtuvieron mejores ajustes para a\*/b\* que para a\* o b\* separadamente, a pesar de ser a\* la coordenada que indica el color rojo.

En base al análisis de regresión, puede concluirse, que para la variedad 'Starking Delicious' no existe una relación óptima que permita explicar o predecir el contenido de antocianos a partir de uno o varios parámetros colorimétricos, por lo que este método en variedades de coloración estriada no proporciona valores de predicción tan fiables como en las de coloración más uniforme. Ello puede deberse, como ya han mencionado otros autores (Knee, 1980; Graell et al., 1993), a que en variedades de coloración estriada la determinación del color con el colorímetro no proporciona valores que reflejen de forma adecuada las

características de dicha coloración, debido a que aporta una medida "total" del color que no refleja la apreciación visual del mismo. Consecuentemente, existe una menor relación con el contenido de antocianos, que viene dado por un valor medio entre lo más rojo y lo menos rojo de las estrías. Este hecho es más evidente, si se tiene en cuenta que en otras experiencias realizadas en el presente trabajo con variedades de color uniforme como 'Early Red One', se han obtenido valores de R² > 0,90. En diversas experiencias realizadas con variedades 'Red Delicious', (Singha et al., 1990a,b; 1994), donde se relacionó el contenido de antocianos con los parámetros colorimétricos no se evaluó la variedad 'Starking Delicious', por considerar que no ofrecía ningún interés por su deficiente coloración.

#### 4.10.- Influencia del riego por aspersión en los parámetros de calidad del fruto

Evaluar el efecto del riego por aspersión en la coloración de los frutos, ha sido objeto de análisis y discusión en los apartados anteriores, dado que es el parámetro de calidad de mayor importancia. Sin embargo, no pueden obviarse otros, como son: la firmeza, el contenido de sólidos solubles, la acidez, la relación sólidos solubles/acidez y el calibre del fruto. Dichos parámetros se determinaron en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994, exponiéndose los resultados obtenidos en la *Cuadro 47* (tabla 1-46).



Parámetro	Riego	1993	1994	Interacción AÑO x RIEGO
Peso <sup>1</sup>	Aspersión	194,6 a	246,8 a	ns
(g/fruto)	Manta	181,1 b	244,2 a	
Calibre <sup>1</sup>	Aspersión	72,1 a	83,3 a	ns
(mm)	Manta	69,2 b	82,4 a	
Firmeza <sup>2</sup>	AsPersión	7,7 a	6,7 a	ns
(kg)	Manta	7,1 b	6,2 b	
Sólidos solubles <sup>3</sup>	Aspersión	11,9 a	15,0 a	ns
(*Brix)	Manta	11,2 b	14,5 b	
Acidez <sup>3</sup>	Aspersión	3,9 a	3,6 b	**
(g/l)	Manta	3,7 b	3,8 a	
Sólidos s./acidez <sup>3</sup>	Aspersión	3,1 a	4,1 a	ns
	Manta	3,0 b	3,9 b	

*Cuadro 47:* Influencia de dos sistemas de riego en diferentes parámetros de calidad de los frutos de la variedad '*Starking Delicious*', años 1993 y 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ). Se indica la significación de la interacción *ano x riego*.

- (1) Cada valor corresponde a la media de 70 determinaciones.
- (2) Cada valor corresponde a la media de 140 determinaciones.
- (3) Cada valor corresponde a la media de 5 determinaciones.
- (ns) no significativo.
- (\* \*) nivel de significación  $\alpha$ =0,01.

En 1993, tanto el peso como el calibre de los frutos, fueron superiores en el riego por aspersión con respecto al riego a manta, no existiendo diferencias en 1994. El riego por aspersión proporcionó mayor firmeza, contenido más alto de sólidos solubles, y mayor valor del ratio sólidos solubles/acidez, para los dos años. La acidez presentó diferencias significativas los dos años, existiendo una interacción significativa de los factores *año x riego*. Ello indica que la respuesta al riego para dicho parámetro dependió del factor año, lo que no ocurrió con el resto de parámetros. En experiencias realizadas por Unrath (1972a,b) y Williams (1993), se encontraron interacciones significativas de los factores: localidad, año y variedad, con el tipo de riego.

Tanto el peso medio del fruto, como el calibre, fueron los habituales para la variedad 'Starking Delicious' en condiciones normales de cultivo. Los valores de firmeza correspondientes a 1993, se encuentran en el intérvalo 7-7,5, considerado como óptimo (Urbina, 1990); mientras que para 1994 fueron inferiores, debido probablemente a las elevadas temperaturas que se dieron en el período previo a la recolección. Para el resto de parámetros analizados, los valores obtenidos se encuentran en los intérvalos considerados como adecuados para variedades 'Red Delicious'. El contenido de sólidos solubles fué superior a 11º Brix (Urbina, 1990), aunque algunos valores no se encuentran dentro del rango óptimo de 12-14º Brix (Herrero et al., 1992). Para los dos sistemas de riego la acidez fué superior a 3g/l, considerándose por tanto adecuada (Duran, 1983; Delhom, 1986).

Teniendo en cuenta el conjunto de parámetros de calidad del fruto, puede concluirse, que la mayoría de éstos se vieron mejorados por el efecto del riego por aspersión, en comparación con el riego a manta. Resultados análogos fueron obtenidos por Unrath (1972a,b), al comparar el efecto del riego refrescante por aspersión y a manta, en la coloración y en la calidad de los frutos. La mejora no significativa de algunos parámetros,

como el calibre de los frutos, o el efecto poco consistente en la acidez, indicaría que el efecto de este sistema de riego en el conjunto de parámetros de calidad del fruto es menos significativo que un riego refrescante aplicado diariamente. De hecho, este tipo de riego, aplicado en otras experiencias de forma diaria y durante las horas de máximo calor, mejoró el calibre y el peso de los frutos (Barbee, 1971; Recasens, 1982; Proebsting et al., 1984; Recasens et al., 1984;1988; Lowel, 1981; Williams, 1993); mientras que en la presente experiencia, se aplicó como un sistema de riego con una periodicidad semanal, por lo que el efecto refrescante no fué objetivo de la aplicación del riego por aspersión.

#### 4.11.- Conclusiones

Los resultados obtenidos con la variedad 'Starking Delicious' bajo dos sistemas de riego (aspersión y manta), durante los años 1993 y 1994, permiten extraer las siguientes conclusiones:

- ⇒En base a los parámetros colorimétricos L\*, a\*/b\* y Tono, el riego por aspersión proporcionó, en la recolección, mayor color de los frutos que el riego a manta. Con dicho riego se obtuvo también una mayor precocidad en la coloración.
- ⇒El mayor contenido de antocianos, tanto en la recolección como en las fechas previas, correspondió al riego por aspersión, especialmente en 1994.
- ⇒El riego por aspersión produjo la mayor modificación de los parámetros colorimétricos y de los contenidos de antocianos en 1994, año en que se dieron las condiciones climáticas más desfavorables al desarrollo del color.
- ⇒El factor año influyó significativamente en la coloración, correspondiendo el mayor color al año 1993, en que se dieron las temperaturas más bajas que enmascararon parcialmente el efecto del riego por aspersión en el color.
- ⇒La acumulación de antocianos y la evolución de los valores de cromaticidad fueron más importantes durante los 20 días previos a la recolección.
- ⇒La distribución del color mostró, para ambos sistemas de riego, importantes diferencias entre las dos caras del fruto.
- ⇒El riego por aspersión promovió la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL), en relación con el riego a manta. La máxima actividad de la PAL se anticipó con respecto a los contenidos máximos de antocianos, mostrando un desfase de 10 a 20 días entre ambos.
- ⇒En la recolección los valores de colorimetría, no proporcionaron una buena predicción de los contenidos de antocianos en la piel de la manzana, debido a la coloración estriada de 'Starking Delicious'.
- ⇒Los parámetros de calidad del fruto se han visto en general mejorados por el riego por aspersión, especialmente la firmeza y el contenido de sólidos solubles.

## **CAPÍTULO II:**

INFLUENCIA DEL MATERIAL VEGETAL EN LA COLORACIÓN DE VARIEDADES ROJAS DE MANZANA (Malus Domestica Borkh.)



## I.- INTRODUCCIÓN

Diferentes prácticas culturales como el riego refrescante por aspersión, la poda en verde, el control del vigor de los árboles, y la aplicación de reguladores de crecimiento pueden mejorar el color de los frutos. Sin embargo, de las alternativas de mayor interés, es la introducción de variedades más adaptadas a climas calurosos de llanura y que permitan obtener una adecuada coloración de los frutos. La calidad gustativa de las variedades introducidas, deberá estar en concordancia con las exigencias del consumidor, aspecto vez más valorado, como lo evidencia el exito que en diversos países estan teniendo variedades como 'Braeburn', 'Fuji' o 'Gala' (Stebbins et al., 1991; Blanchet et al., 1995).

Dentro de las variedades rojas, el lugar predominante desde el punto de vista de su aportación a la producción final, lo ocupan las del grupo 'Red Delicious', dado que representan el 37% de la producción mundial de manzana (Brueggen et al., 1988) y en países como Estados Unidos, Chile, o incluso en la Unión Europea, se situan en el segundo lugar en importancia, después de 'Golden Delicious'. La variedad original 'Delicious' fué descubierta en 1879 (Fisher et al., 1989); después de más de un siglo de existencia, se dispone actualmente de más de 140 mutantes, de los cuales unos 50 tienen verdadera importancia económica.

El color el fruto es el atributo de mayor importancia en estas variedades, por lo que es tenido en cuenta por las normas de calidad de las manzanas (MAPA, 1985c), y determina en gran medida la aceptación por el consumidor y su valor comercial (Crassweller et al., 1989; Fisher et al., 1989). La falta de color se asocia generalmente a una deficiente calidad (harinosidad del fruto, etc.), y va también en detrimento del atractivo visual del fruto (Baugher et al., 1990). Consecuentemente, el principal criterio en la selección de nuevas variedades de manzano, sigue siendo la intensidad del color, su precocidad y características (uniforme, estriado, etc.) (Fisher et al., 1981; Crassweller et al., 1989).

Otros criterios tenidos en cuenta en los programas de selección y mejora, han sido: el hábito de crecimiento o típo de vegetación (*estándar* o *spur*), la producción y la forma del fruto (Fisher et al., 1970;1981; Crassweller et al., 1989;1991). En estas variedades, los frutos alargados y con la presencia de lóbulos marcados se asocia a una mayor calidad, ya que corresponden a zonas de producción con climas más frescos, que proporcionan también frutos de mayor color y dureza.

Numerosos trabajos aportan información respecto a la productividad y al vigor de estas variedades en diferentes localidades de los Estados Unidos y de Europa (Lord et al., 1979;1980; Le Lezec et al., 1983;1990; Dozier et al., 1984; Ferree et al., 1982; Iglesias, 1990; Warrington et al., 1990; Trillot et al., 1993).

Con respecto al hábito de vegetación, Fisher et al. (1980) y Warrington et al. (1990), indicaron que las variedades *spur* tenían un mayor número de yemas por metro lineal de madera, un mayor número de hojas por yema, una mayor superficie por hoja, y una mayor eficiencia productiva que las variedades *estándar*. La obtención de mutantes *spur* ha supuesto en general una mejora de la productividad; sin embargo, la característica más destacable de estas variedades ha sido una mejor coloración, incluso en las partes interiores del árbol y en condiciones de climas calurosos, estableciéndose diferencias importantes entre variedades, en lo referido a la precocidad y a a las características del color (Powell et al., 1984; Crassweller et al., 1985; Dennis, 1987). Numerosos estudios realizados, evidencian importantes diferencias en la intensidad y en las características de color de los frutos, disponiendo actualmente de variedades de elevada coloración como *'Scarlet Spur'*, *'Dixiered'*, *'Oregón* 

Spur II', 'Super Chief', 'Vallée Spur', 'Red Miracle', etc. (Baugher et al., 1990; Trillot et al., 1993; Fallahi et al., 1994; Warner, 1995c).

También se han realizado estudios de caracterización de los diferentes mutantes, en base a la firmeza, la acidez y el contenido de azúcares, con el objetivo de determinar diferencias en la maduración y en la calidad de los frutos (Fisher et al., 1970; Ingle, 1972; Le Lezec et al., 1983; Baugher et al., 1990a; Fallahi et al., 1994), habiéndose detectado diferencias entre tipos *estándar* y *spur*.

Dado que las recientes selecciones presentan una intensa y precoz coloración, incluso en climas cálidos, la recolección deberá realizarse en el momento óptimo para no penalizar la calidad de los frutos. Sin embargo, y dado que raramente los consumidores tienen la oportunidad de comparar el sabor de las diferentes variedades, el color sigue siendo el principal criterio de selección de nuevas variedades.

Con la experiencia planteada en el presente trabajo, se ha obtenido información acerca de las características de la coloración de 8 variedades del grupo 'Red Delicious', algunas de ellas de reciente introducción y de las cuales se desconocía su comportamiento en nuestra zona frutícola. Complementariamente se han evaluado otros aspectos como la productividad y la calidad de los frutos. Dicha información es de especial interés para el sector productor, dado que corresponde a la zona frutícola de Lleida, con dificultad para la coloración de variedades rojas de manzana.

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 1.- MATERIAL

#### 1.1.- Variedades

En el ensayo se evaluaron 8 variedades rojas de manzana del grupo 'Red Delicious'.

El patrón sobre el que se injertó cada variedad y el subgrupo a los que pertenecían las variedades fueron:

#### \*Grupo'Red Delicious':

⇒Subgrupo estándar: 'Topred Delicious'/'M-9', 'Sharpred'/'M-9', 'Early Red One'/'MM-106', 'Hy Early'/'M-9' y 'Red Miracle'/'MM-106'.

⇒Subgrupo *spur*: 'Oregón Spur'/'MM-106', 'Red Chief/'MM-106' y 'Elite'/ 'M-26'. La fecha de recolección se realizó entre los 135 y 145 días después de la plena floración, lo que equivale al período 5-14 de septiembre.

A continuación se realiza una descripción de las principales características de las variedades: 'Sharpred', 'Hy Early', 'Red Miracle', 'Red Chief' y 'Elite'. Las características de 'Early Red One', 'Topred Delicious' y 'Oregón Spur', se han expuesto en el Capítulo I.-Material: "Variedades" (pág. 184).

<u>'Sharpred' (Shacir)</u>, (Malus domestica Borkh.), mutación de 'Shotwell Delicious', descubierta en 1963 por Del Sharp en Wenatchee (EE.UU.). Variedad estándar, vigor similar a 'Topred Delicious' y producción superior. Frutos de color rojo con estrías aparentes, precocidad de la aparición del color inferior a 'Red Chief'. En años poco favorables la recolección debe realizarse en dos pasadas. Calibre medio, homogeneo, inferior a 'Topred Delicious', calidad gustativa similar.

<u>'Hy Early'</u> (Malus domestica Borkh.), mutación gemaria de 'Starking Delicious' obtenida en Estados Unidos. Variedad estándar, árbol vigoroso, por lo que requiere patrones débiles para favorecer su entrada en producción, la cual es similar a 'Topred Delicious'. Fruto de color rojo estriado; coloración ligeramente superior a 'Topred Delicious'; en años calurosos la falta de color conlleva a que sean precisas más de una pasada de recolección. Calibre medio-grande. Buena calidad gustativa.

'Red Miracle' (Averdal) (Malus domestica Borkh.), procede de una mutación de 'Red King Delicious' descubierta recientemente en Francia. Variedad poco estable en cuanto al comportamiento vegetativo; el vigor es similar a 'Early Red One', por lo que pertenece al grupo estándar, a pesar de que se observan con frecuencia reversiones al tipo spur, por lo que requiere un nuevo proceso de selección. Productividad buena. Variedad que destaca por su intensa y precoz coloración, ya que desde el estadío fenológico I hasta la recolección, los frutos presentan, en la cara más soleada, una coloración roja que se intensifica al aproximarse la recolección. El color es uniforme y no presenta estrías. La calidad del fruto es aceptable y el calibre medio. De las variedades actualmente disponibles, es una de las que presenta la coloración más precoz, incluso en climas calurosos.

'Red Chief' (Camspur) (Malus domestica Borkh.), mutación gemaria de 'Starkrimson', descubierta por Fred Campbell en el Estado de Washington (EE.UU.). Arbol de marcado caracter spur, de muy rápida entrada en producción, por lo requiere patrones vigorosos. Coloración precoz y uniforme en el conjunto del árbol, por lo que puede realizarse la recolección en una sola pasada. Fruto muy atractivo, alargado, con lóbulos bien marcados, estrías poco aparentes en la cara más expuesta a la iluminación. Calidad gustativa inferior a 'Topred Delicious'. Si el árbol dispone de vigor adecuado y si se aplica una poda correcta, que permita obtener buenas producciones, se trata de una de las mejores variedades rojas del grupo 'Red Delicious'.

<u>'Elite'(Malus domestica Borkh.)</u>, mutación de 'Topred Delicious', descubierta en el Estado de Washington (EE.UU.) en 1967. Variedad *spur* de poco vigor (similar a 'Red Chief'), requiere patrones vigorosos para obtener una buena producción. Color del fruto uniforme, estriado inicialmente, estrías poco aparentes en el momento de la recolección. Atendiendo al color la recolección puede realizarse en una sola pasada. Calibre medio y homogeneo. Calidad gustativa similar a la de otras variedades *spur*.

Para obtener más información sobre dichas variedades pueden consultarse numerosos trabajos publicados (Fisher et al., 1980; Ferree et al., 1982; Le Lezec et al., 1983;1990; Masseron, 1986; Dennis, 1987; Brueggen et al., 1988; Plotto, 1988; Le Lezec, 1990; Van Laer, 1990; Walsh, 1990; Iglesias,1989b;1990;1991b;1994a; Sttebins, 1992; Trillot et al., 1993;).

#### 1.2.- Patrones

Los patrones utilizados, en orden de vigor creciente fueron: 'M-9', 'M-26' y 'MM-106'.

El 'M-9' es un patrón débil, de vigor superior al 'M-27' y pertenece a la serie East Malling (EM). Induce una rápida entrada en producción, un buen calibre de fruto y una buena productividad. Poco sensible a *Phythoptora*.

Sus múltiples selecciones libres de virosis, son las más utilizadas actualmente en plantaciones intensivas.

El 'M-26' es un patrón débil, de vigor ligeramente superior al 'EM-9' perteneciente a la serie Malling (M). Induce una buena productividad. Medianamente sensible a *Phythoptora*.

El 'MM-106', confiere un vigor próximo al 'M-7' y pertenece a la serie Malling Merton

(MM). Sensible a *Phythoptora*. Confiere una buena productividad, un buen calibre (inferior al 'M-9') y una rápida entrada en producción.

Diversas publicaciones contienen información complementaria sobre las características de dichos patrones (Ferree et al., 1982;1987; Felipe, 1989; Masseron et al., 1989; Barrit et al., 1993; Iglesias, 1994; Autio et al., 1996).

#### 1.3.- Características de la finca experimental

Se trataba de una finca experimental cuyo objetivo era comprobar la adaptación a la zona tardía Lleida de una colección de 95 variedades de manzano y 27 de peral. La finca pertenecía, al Servei d'Extensió Agrària del Departament d'Agricultura, Ramaderia y Pesca de la Generalitat de Cataluña, gestionada en colaboración con las Cooperativas del Campo de Bellpuig, Ivars d'Urgell y La Fuliola. Las variedades objeto de estudio en el presente trabajo se introdujeron los años 1984, 1986 y 1989.

#### 1.3.1. – <u>Situación</u>

La finca donde se llevaron a cabo los ensayos se encontraba situada en la zona frutícola de Lleida, concretamente en la localidad de Seana (Término Municipal de Bellpuig), a una altitud sobre el nivel del mar de 283 m. La localización de la finca puede observarse en la Figura 1-11 del Capítulo I.- Material y métodos: "Situación"; encontrándose próxima a las fincas de El Poal y Mollerussa, donde se realizaron los ensayos de riego por aspersión, por lo que las condiciones climáticas fueron similares.

Atendiendo al "Mapa Agroclimatic de la Zona Fruitera de Lleida" (Iglesias et al., 1992), la finca está situada en la Zona-7a (Unidad I<sub>1</sub>), correspondiendo a la zona tardía de Lleida, de recolección 15 días posterior con respecto a la zona temprana. Desde el punto de vista climático y edafológico, no son previsibles limitaciones importantes para el cultivo del frutal. El riesgo de heladas es medio y puede afectar especialmente a las variedades del grupo 'Red Delicious'.

#### 1.3.2. -<u>Suelo</u>

Los suelos de la finca experimental pertenecen a la serie SEANA (Xerocrept, petrocálcico, esquelético, franco, calcáreo, mésico, superficial), según cartografía realizada por la Sección de Suelos y Fertilizantes del Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Cataluña. Se trata de suelos con una profundidad enraizable pequeña (50 cm) y de textura franco-arenosa. Los resultados analíticos del análisis de suelo, correspondientes a los dos horizontes superiores, se exponen en el *Cuadro 48 (tabla 2-1)*.

Horizonte	pН	C.E a 25°C	M Orgánica	Fósforo (P)	Potasio (K)	Caliza	Textura
			(%)				
Profundidad	(1:2,5)	(dS/m)		ppm	ppm	activa (%)	(USDA)
Ap <sub>1</sub> (0-28	7,9	0,15	2,6	6	133	5	Franco-arenosa
cm)							
AP <sub>2</sub> (28-40	7,9	0,15	1,9	3	43	9	Franca
(cm)							

Cuadro 48: Resultados analíticos del análisis de suelo, correspondientes a los dos horizontes superiores.

Los contenidos de fósforo y potasio son medios; el pH es de moderadamente básico a básico. Los suelos no están afectados por salinidad ni por sodicidad. Por debajo de los horizontes arados, se encuentra una acumulación cementada de carbonatos que limita la penetración de las raices. La velocidad de infiltración es de moderada a alta.

#### 1.4.- Características climáticas

Con respecto a las características climáticas y dada la proximidad con las otras fincas donde se realizaron los ensayos sobre riego, son válidas las mismas consideraciones que las realizadas en el Capítulo I.- Material y métodos: "Características climáticas".

#### 1.5.- Características de la plantación

El material vegetal utilizado procedía de viveros comerciales franceses, dado que al tratarse mayoritariamente de nuevas variedades no se disponía de ellas en nuestro país. Las principales características de la plantación de las diferentes variedades se expone en el

Las experiencias se iniciaron en julio 1992, en cuyo momento las variedades se encontraban en su noveno verde ('Topred Delicious', 'Sharpred', 'Early Red One', 'Oregón Spur', 'Red Chief'), en su septimo verde ('Hy Early', 'Elite') y en su cuarto verde ('Red Miracle').

Variedad	Grupo	Vigor	Patrón		Marco de plantación	Sistema de formación
Topred	Estándar	Fuerte	M-9	1984	4 x 1,2 m	Eje central
Sharpred	Estándar	Fuerte	M-9	1984	4 x 1,2 m	Eje central
Early R. One	Estándar	Medio	MM-106	1984	4 x 1,6 m	Eje central
Oregón ápur	Spur	Medio-debil	MM- 106	1984	4 x 1,6 m	Eje central
Red Chief	Spur	Debil	MM-106	1984	4 x 1,6 m	Eje central
Elite	Spur	Debil	M-26	1986	4 x 1,2 m	Eje central
Hy Early	Estándar	Fuerte	M-9	1986	4 x 1,2 m	Eje central
Red Miracle	Estándar	Medio	MM- 106	1986	4 x 1,6 m	Eje central

Cuadro 49: Principales características de las plantaciones de las fincas de ensayo.

La orientación de las filas era N-S. Al tratarse de una finca experimental la mayor parte de las variedades existentes actuaban como polinizadoras. El vigor de los árboles era el adecuado, excepto para las variedades 'Red Chief' y 'Elite' que al ser variedades spur requerían de patrones más vigorosos que los eligidos. Todas las variedades se encontraban en la fase de plena producción.

El hecho de tratarse de patrones clonales y de suelos con una buena homogeneidad, se tradujo en una buena regularidad de los árboles de una misma variedad. Se apreciaron importantes diferencias de vigor entre variedades, dependiendo del tipo de vegetación al que pertenecían.

#### 1.6.- <u>Técnicas culturales</u>

Las técnicas de cultivo aplicadas a la finca experimental, fueron similares a las

aplicadas en parcelas comerciales de la zona. El <u>sistema de riego</u> utilizado fué a manta; el agua procedía del Canal d'Urgell. El intérvalo medió entre riegos dependió del año y osciló entre 10 y 17 días. El análisis realizado del agua de riego (\\tab 11 \frac{\text{Cuadro 11}}{\text{\chi}}\), Capítulo I.-"*Material y métodos"*), puso de manifiesto que las aguas no presentan ninguna limitación para el riego, tanto por lo que se refiere al riesgo de salinización como de alcalinización del suelo.

La <u>fertilización</u> realizada durante los años 1992, 1993 y 1994, correspondió a la de árboles en plena producción. Las producciones fueron variables entre las diferentes variedades de la finca experimental, oscilando entre 29 y 68 t/ha. El abonado se aplicó de forma localizada mediante reja, realizando dos aportaciones: la primera a mediados de marzo (se aportó el 70% de la dosis de nitrogeno y potasio y el 100% del fósforo), el resto se aplicó a finales de mayo. Las aportaciones medias anuales de fertilizantes se situaron entre los siguientes intérvalos: N = 120-130, U.F./ha;  $P_2$   $O_5 = 30-45$ , U.F./ha,  $K_2$  O = 130-150 U.F./ha.

El <u>mantenimiento del suelo</u> combinaba la aplicación de herbicidas en las hileras de los árboles, en una banda de 1,4 m; con el mantenimiento de una capa herbosa de *Festuca sp*. (sembrada al segundo año de plantación) en las interlineas. Como herbicidas, se aplicó a partir del cuarto año una combinación de residuales + contacto a la salida del invierno, y una segunda aplicación de un herbicida residual en octubre-noviembre.

Los <u>tratamientos fitosanitarios</u> se realizaron siguiendo las directrices técnicas de la Agrupación de Defensa Vegetal de l'Urgell (Bellpuig), aplicándose un programa de tratamientos integrados contra las principales plagas y enfermedades. Esporádicamente fué necesaria la realización de tratamientos contra la araña roja y el pulgón.

## 2.- MÉTODOS

#### 2.1.- Metodología de trabajo

#### 2.1.1. -Plan de trabajo

Para la consecución de los objetivos fijados en el presente trabajo, en lo referido a material vegetal y en base a los medios disponibles descritos en el apartado de "Material", se procedió a la realización metodológica del trabajo. El orden cronológico de los experimentos, se planificó con la finalidad de obtener, sucesivamente, datos útiles para la planificación de las siguientes experiencias y datos suplementarios que sirvieran para contrastar los resultados de las anteriores campañas. Las variedades evaludadas durante los años 1992, 1993 y 1994 fueron: 'Topred Delicious', 'Sharpred', 'Early Red One', 'Oregón Spur', 'Red Chief', 'Elite', 'Hy Early', 'Red Miracle'

Con el objeto de disponer de forma esquematizada las determinaciones realizadas en las experiencias durante los años 1992, 1993 y 1994 (contenido de antocianos, colorimetría, parámetros de calidad del fruto, etc.), en el *Cuadro 50 (Figura 2-1)* se indica para cada una de las mismas <u>las fechas en que se realizaron los muestreos de prerecolección y recolección</u>, así como las determinaciones realizadas.

#### Figura 2-1

Durante los años y las fechas indicadas en el *Cuadro 50 (ver figura anterior)*, se realizó el seguimiento y las determinaciones de los siguientes parámetros:

⇒Seguimiento del desarrollo del color de los frutos antes de la recolección y en la recolección mediante:

- \* Colorímetro triestímulo.
- \* Determinación cuantitativa del contenido de antocianos en la piel del fruto.
- ⇒Determinación de los parámetros de calidad del fruto en el momento de la recolección.

Los aspectos más importantes acerca de las determinaciones realizadas, expuestos por años, son los siguientes:

## \*<u>1992</u>

Se iniciaron las experiencias con las 8 variedades expuestas anteriormente. A diferencia de los otros años el seguimiento del color se realizó en campo, y en los mismos frutos (oportunamente marcados en el árbol), en las fechas indicadas en el *Cuadro 50 de la* (<u>figura 2-1</u>). Los contenidos de antocianos se determinaron en laboratorio y para las mismas fechas en que se midió la colorimetría. En el momento de la recolección se determinó: el color de los frutos con el colorímetro, el contenido de antocianos y los parámetros de calidad en frutos.

#### \*1993

En 1993 se continuaron las experiencias, diferenciandose con respecto a 1992 en que el color se determinó siempre (prerecolección y recolección) con frutos recolectados. Las determinaciones realizadas para las variedades estudiadas fueron las mismas que en 1992.

#### \*<u>1994</u>

Se realizaron las mismas experiencias y determinaciones que en 1993, añadiendo un muestreo en prerecolección. Al igual que en 1992 y 1993, se midió el perímetro de los troncos de los árboles a 20 cm del punto de injerto, para el cálculo de el Indice de Productividad.

Figura 2-2 Figura 2-3 Figura 2-4

#### 2.1.2. -Recogida de muestras

Las fechas de recogida de muestras correspondientes a los diferentes años figuran en el *Cuadro 50 de la* <u>figura 2-1</u>. Con el objeto de conocer la evolución del color y del contenido de antocianos de las diferentes variedades, así como las diferencias entre las mismas, ambos parámetros se determinaron desde los 45 días (o 30 según años) antes de la recolección.

Los muestreos se realizaron siguiendo una metodología que permitiera que los frutos fueran lo más representativos posible del estado de las variedades. Para cada variedad y para cada fecha de muestreo previa a la recolección se tomaron 5 muestras (correspondientes a 5 árboles o repeticiones) de 7 frutos cada una, es decir un total de 35 frutos. En el momento de la recolección y también para cada variedad se tomaron 5 muestras de 14 frutos cada una, por lo que se dispuso de 70 frutos por variedad. Los frutos se escogieron al azar a una altura de entre 1 y 2 m, procediendo de las cuatro caras del árbol, tanto de la periferia como del interior del arbol. El efecto que pudiera tener la eliminación de varios frutos del árbol antes de la recolección, se ha considerado que tuvo poca influencia sobre el desarollo de los restantes, al tratarse de muestras de pequeño tamaño, en comparación con el número total de frutos del árbol (Fallahi et al., 1994). Por otra parte el muestreo se realizó en todas las variedades, las caules se encontraban en la fase de plena producción.

El proceso de toma de muestras para la determinación del contenido de antocianos, la determinación de los valores colorimétricos y de los parámetros de calidad y madurez de los frutos, se muestra de forma esquemática en la *Figura 2-5*.

El árbol constituye la parcela elemental o repetición, disponiendo de 5 árboles por cada variedad, tal y como se expone posteriormente en el apartado "Diseño experimental".

Figura 2-5

#### 2.2.- Medida del color de las manzanas

La metodología seguida para la medida del color de las manzanas con el colorímetro, es análoga a la expuesta en al Capítulo I.- Material y métodos: "Medida del color de las manzanas", exponiéndose a continuación los aspectos diferenciales.

El color se determinó en las diferentes fechas en que se realizaron los controles, tal y como se indica en el *Cuadro 50 de la*<u>figura 2-1</u>.

En cada fecha, y una vez recolectadas las manzanas se determinó el color de las mismas en base al esquema representado en la <u>Figura 2-5</u>, realizando tres lecturas con el colorímetro en la zona ecuatorial del fruto, que fueran representativas del color de cada una de las dos caras del fruto (cara roja y cara menos roja o verde). De la misma zona donde se midió el color, se extrajeron 2 discos de piel para la determinación del contenido en antocianos, lo que permitió seguir la evolución del contenido de antocianos y del color en los mismos frutos. Posteriormente se establecieron las relaciones entre los valores colorimétricos y el contenido de antocianos, por lo que era necesario que fueran ambas variables de la misma parte y de la misma cara del fruto.

Dicho procedimiento fué el utilizado los años 1993 y 1994. En 1992, y para conocer *in situ* la evolución del color de los mismos frutos en la plantación, se marcaron y periódicamente se determinó el color de los mismos, por lo que a pesar de haberse realizado también el análisis de antocianos, ambas variables no pudieron relacionarse.

A partir de las coordenadas colorimétricas primarias L\*, a\* y b\*, proporcionadas por el colorímetro, y en base a las formulas expuestas en el apartado Introducción.- "Medida del color", se calculó: el ratio a\*/b\*, el Tono, la Saturación, y el vector espacial de cromaticidad DE\* (Figura 1-10). Por tanto, para cada cara de un mismo fruto, se dispone de los parámetros colorimétricos: L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*.

#### 2.3.- Determinación del contenido de antocianos

Las fechas en las cuales se determinaron los pigmentos antocianos (prerecolección y recolección), así como el número de frutos por variedad, se ha expuesto en el <u>Cuadro 50</u> y en la <u>Figura 2-5</u>. La determinación cuantitativa se realizó tal y como se ha expuesto en el Capítulo I.- Material y métodos: "*Determinación del contenido de antocianos*".

Para cada una de las dos caras del fruto se obtuvieron los contenidos de antocianos que se han expresado en nmoles/cm<sup>2</sup>.

#### 2.4.- Determinación de los parámetros de madurez y calidad en frutos

El esquema de toma de muestras en recolección y las fechas en que se realizaron se expone en el Cuadro 50 y en la Figura 2-5.

Los parámetros de madurez y calidad en frutos, se determinaron en el momento de la recolección de los años 1992, 1993 y 1994.

Los parámetros que se determinaron <u>individualmente</u> para cada uno de los frutos de las 5 muestras correspondientes a cada variedad fueron: peso, calibre, firmeza, y color de la epidermis (apreciación visual del porcentage de la superficie del fruto coloreada, en 1994).

Los sólidos solubles y la acidez titulable, se determinaron de forma <u>conjunta</u> para los frutos que procedían de un mismo árbol, a partir de los cuales se cálculo el ratio sólidos solubles/acidez titulable.

La metodología seguida para determinar dichos parámetros, se ha expuesto en el Capítulo I.- Material y métodos: "Determinación de parámetros de madurez y calidad en frutos".

#### 2.5.- Estimación de la fecha de recolección

Los valores de firmeza, contenido en sólidos solubles, y acidez, se utilizaron para estimar la fecha de recolección de las diferentes variedades, mediante la comparación de los mismos con los recomendados para una recolección comercial de manzanas (Herrero et al., 1982; Duran, 1983; Delhom, 1986; Urbina, 1990). Los días transcurridos desde la plena floración hasta la recolección, han sido similares entre años, oscilando alrededor de 140 días. Se dieron diferencias en la floración, siendo 1994 el año de floración más precoz. La recolección se realizó en una única fecha, debido a que en base a los parámetros utilizados no se dieron diferencias importantes entre variedades. Para cada uno de los años estudiados, todas las variedades se recolectaron en la misma fecha, la cual varió entre años, siendo 1994 el año en que se realizó más precozmente.

#### 2.6.- Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos

## 2.6.1. - Diseño experimental

En base a las prospecciones del suelo realizadas y al desarrollo de los árboles, se puso de manifiesto la buena homogeneidad de la finca experimental. Para evaluar el comportamiento de las 8 variedades, se estableció un diseño completamente aleatorizado. Para cada variedad se dispusó de 5 árboles (o repeticiones), los cuales se eligieron al azar dentro de las diferentes lineas en que se encontraban, excluyendo las dos lineas períféricas de la parcela, para evitar el efecto borde.

La unidad de muestreo dentro de cada árbol fué el fruto; en prerecolección y en recolección se escogieron, según el procedimiento indicado anteriormente en el apartado <u>Plan</u> <u>de trabajo</u>, muestras lo más representativas posibles del estado de cada variedad, que se recolectaron en las diferentes fechas y siempre de los mismos árboles.

Cada muestra correspondió a un árbol, siendo el tamaño de 7 frutos por árbol (35 frutos por variedad) en los controles de prerecolección, y de 14 frutos por árbol (70 frutos por variedad) en la recolección, tal y como se refleja en la <u>Figura 2-5</u>. El tamaño de las muestras, el número de árboles muestrados y el método de muestreo, son similares a los utilizados en estudios de coloración realizados por otros autores (Crassweller et al., 1989; Williams et al., 1989; Baugher et al., 1990a; Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991a,b; Fallahi et al., 1994; Singha et al., 1994; Baugher et al., 1995).

#### 2.6.2. -Tratamiento estadístico

Una vez que se disponía de los datos correspondientes a las diferentes variedades,

fechas y años, se procedió a realizar su tratamiento estadístico para dar respuesta a los objetivos planteados en el presente trabajo, el cual realizó con el paquete estadístico SAS (1990a,b). Antes de realizar el análisis de la varianza, se comprobó la homogeneidad de la varianza de los diferentes tratamientos, mediante el análisis de residuos de los valores previstos para todos los valores individuales de las variables estudidas (antocianos, color, parámetros de calidad etc.). Los residuos obtenidos a medida que se incrementaban los valores previstos, fueron similares para la mayoría de variables estudiadas, distribuyéndose en el gráfico de residuos en forma de una franja horizontal. Cuando ello no ocurrió (en alguna fecha para a\*, b, Saturación y DE\*), con las variables afectadas, no se procedió a la separación de medias. El análisis de residuos y su representación gráfica se realizó con los procedimientos: PROC REG, PROC UNIVARIATE (SAS, 1990b) y PROC PLOT del programa SAS.

El efecto de los diferentes factores estudiados (año, variedad, fecha, árbol, fruto, cara) en la coloración de los frutos, se evaluó mediante el **análisis de la varianza**, que permitió conocer el grado de significación de cada uno de los factores principales del modelo y de sus interacciones, obteniéndose también los coeficientes de variación (CV), cuyos valores para la mayoría de parámetros estudidos oscilaron entre el 3,5 y el 24%. Cuando estos superaron el 60%, se calcularon las los valores medios pero no se procedió a su separación. Posteriormente, cuando en el análisis de la varianza se detectaron diferencias significativas para la variable estudiada (antocianos, colorimetría, etc.), y a partir de los Cuadrados Medios del Error (CME) se procedió a la separación de medias con el Test de la Mínima Diferencia Significativa (MDS). Este test se ajusta mejor a las características de este tipo de ensayos (Fallahi et al., 1994; Shinga et al., 1994; Baugher et al., 1995). En todos los casos se consideró un nivel mínimo de significación del 5% (a= 0,05).

Dado que los ensayos se realizaron durante varios años, los <u>factores</u> utilizados para el análisis de la varianza fueron los siguientes: <u>año</u>, <u>fecha de muestreo</u>, <u>variedad</u>, <u>árbol</u>, <u>fruto y cara</u>. La naturaleza de dichos factores -fijos o aleatorios-, así como la relación entre ellos - cruzados o jerarquizados-, se expone en el <u>Cuadro 51</u> (tabla 2-3). A partir de dicha información, se elaboraron los **modelos para el analísis de varianza**, con el objeto de conocer la significación de los factores y/o de sus interacciones. El hecho de disponer de interacciones de hasta sexto grado dificulta su interpretación agronómica, por lo que solamente se consideraron interacciones dobles y triples, separando del modelo los restantes factores. Para ello, se realizaron análisis de varianza por años, variedades, fechas y caras.

Factores	Año	Fecha	Variedad	Arbol	Fruto	Cara	Bloque
Año (A)							
Fecha (F)	X						
Variedad	X	X					
(F)							
Arbol (F)	X	X	J				
Fruto (A)	J	J	J	J			
Cara (A)	X	X	X	X	X		
Bloque (F)	X	X	X	X	X	X	

*Cuadro 51:* Naturaleza y relación entre los factores utilizados en los modelos del análisis de varianza, en las experiencias con 8 variedades del grupo '*Red Delicious*'.

(A) factor aleatorio. (X): cruzado.(F) factor fijo. (J): jerarquizado.

Complementariamente al análisis de varianza realizado de forma conjunta para todas las variedades con el factor variedad, se realizó un análisis de varianza <u>para cada variedad y año</u> en el momento de la recolección de los años 1992, 1993 y 1994, con el objeto de determinar diferencias en cada variedad de los parámetros colorímetricos y los contenidos de antocianos éntre árboles, frutos y caras. Ello permitió conocer la significación de los siguientes factores: <u>árbol</u>, <u>árbol x fruto</u> (jerarquizados), y <u>cara</u>, los tres de gran interés agronómico, dado que aportan información sobre la <u>uniformidad del color de los frutos</u>, de los árboles y de los frutos de un mismo árbol.

Una vez analizados los parámetros colorimétricos y realizado el análisis por años y fechas, se realizó el análisis de varianza de forma conjunta para los años 1992, 1993 y 1994, introduciendo en el modelo el <u>factor año</u>. Se obtuvo la significación de los factores: año, árbol, *año x árbol x fruto*, cara. También se analizó la significación de otras <u>interacciones</u> dobles de notable interés como: <u>fecha x variedad</u>, <u>año x variedad</u> y <u>fecha x año</u>.

El análisis de la varianza, se realizó con el procedimiento PROC GLM del programa SAS. Para cada una de las variables estudiadas y para las diferentes fechas, se obtuvieron los valores medios, máximos, mínimos y desviación estándar con respecto a la medias. Para ello se utilizó el procedimiento PROC MEANS del programa SAS.

Las variables estudiadas en prerecolección fueron: contenido de antocianos y valores de cromaticidad (L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación, DE\*). En el momento de la recolección además de dichas variables, se incluyeron para el análisis de la varianza los <u>parametros de madurez y calidad en frutos</u> (peso, calibre, firmeza, sólidos solubles, acidez, sólidos solubles/acidez). Debido a las características de la determinaciones realizadas, el factor cara y fruto (cuando se determinaron los solidos solubles y acidez) no se incluyeron en los modelos para el análisis de la varianza. Debido a la posible influencia del factor año en los parámetros de calidad, se cálculo la significación de la interacción *año x variedad*.

En el momento de la recolección (última fecha de muestreo), se determinaron de forma conjunta, para los años en que se realizaron los ensayos y para cada uno de los mismos, las relaciones entre los contenidos de antocianos y los valores colorimétricos (L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*) correspondientes a los mismos frutos -media de las dos caras- y también de forma separada para cada variedad y cara. El procedimiento seguido en el **análisis de regresión** (lineal múltiple y simple) fué análogo al expuesto en el Capítulo I.- Material y métodos: "*Tratamiento estadístico*".

Para cada ensayo en particular, se aportará más información sobre el análisis estadístico de los datos al exponer los resultados del mismo.

## III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó el comportamiento agronómico y especialmente la coloración de los frutos, de 8 variedades de manzana del grupo 'Red Delicious' durante los años 1992, 1993 y 1994. De las 8 variedades, 5 pertenecen al subgrupo estándar, son las siguientes: 'Topred Delicious', 'Sharpred', 'Early Red One', 'Hy Early' y 'Red Miracle'; mientras que: 'Red Chief', 'Oregón Spur' y 'Elite', pertenecen al subgrupo spur. Sus principales características se han descrito en el apartado Material y métodos: "Variedades" del presente capítulo.

De las variedades evaluadas, 'Topred Delicious' se encuentra ampliamente difundida, dado que fué la que inicialmente sustituyó en las nuevas plantaciones a 'Starking Delicious'. 'Sharpred' y 'Elite', son dos variedades que en países como Estados Unidos, han conocido una notable difusión, mientras que en la zona de Lleida apenas se han introducido. Lo mismo

puede decirse de 'Hy Early', dado que solamente ha tenido un relativo interés en Italia y en Estados Unidos. Tanto 'Red Chief' como 'Early Red One', han sido las que en países como Italia, Francia o Estados Unidos, han conocido un importante desarrollo; y en la zona frutícola de Lleida han sido las más plantadas del grupo 'Red Delicious', por aportar una buena coloración de los frutos. Finalmente 'Red Miracle', es una variedad de alta coloración, y forma parte de un grupo de nuevas variedades obtenidas los últimos años como: 'Scarlet Spur', 'Dixiered', 'Vallée Spur', 'Super Chief', 'Morgan Spur', 'It', etc., que presentan como principal característica, un intenso color rojo de los frutos y una coloración precoz, incluso en climas poco favorables a la coloración.

Se dispone de numerosa información acerca del comportamiento de variedades 'Red Delicious', en lo referido a coloración de los frutos, parámetros de calidad, producción, productividad, y conservación en frigorífico. Dicha información procede mayoritariamente de países donde estas variedades se cultivan ampliamente, como Estados Unidos, y en menor escala de: Italia, Francia y España (Decourtye et al., 1970; Fisher et al., 1970; Westwood et al., 1970; 1981; 1989; Ingle, 1972; Bartram et al., 1979; Baugher et al., 1979; Lord et al., 1979; 1980; Lord et al., 19 nn,-.,...,80; Polesello et al., 1980; Ferree et al., 1982; Le Lezec et al., 1983; Dozier et al., 1984; Ketchie, 1984; 1988; Masseron, 1986; Dennis, 1987; Iglesias, 1989; Crasweller et al., 1985; 1989; 1991; 1990; Singha et al., 1991a,b; 1994; Warrington et al., 1990; Graell et al., 1993; Trillot et al., 1993; Fallahi et al., 1994; Warner, 1995c).

## 1.- <u>FECHAS DE FLORACIÓN EN LOS AÑOS 1992, 1993, 1994</u>

Durante los años 1992, 1993 y 1994, se registró el período de floración de las 8 variedades objeto de estudio, para ello se utilizaron los estadios fenológicos propuestos por Fleckinger. Los resultados obtenidos se exponen en el *Cuadro 52* (tabla 2-4).

Al tratarse de variedades del mismo grupo, el período de floración no presentó diferencias importantes entre las mismas, aunque en las variedades *spur* por su hábito de vegetación la floración fué más agrupada. Se observó diferencias importantes en el inicio, plena y final de la floración entre años; así, mientras en 1992 y 1993, las fechas fueron similares entre los dos años y correspondieron a las de un año normal, en 1994 las fechas, tanto de inicio como de plena y final de la floración, se anticiparon entre 10 y 15 días con respecto a 1992 y 1993, lo que se tradujo también en un adelanto de la recolección.

Variedad	Inicio f	loració	'n	Plena flo	oración		Final flo	ración	
	1992	1993	1994	1992	1993	1994	1992	1993	1994
Topred	8/4	7/4	25/3	13/4	13/4	2/4	27/4	25/4	11/4
Sharpred	10/4	7/4	26/3	14/4	14/4	1/4	28/4	24/4	10/4
Early Red One	9/4	8/4	25/3	14/4	13/4	31/3	26/4	25/4	10/4
Oregón Spur	10/4	8/4	25/3	15/4	15/4	31/3	26/4	25/4	8/4
Red Chief	9/4	8/4	25/3	15/4	14/4	29/3	26/4	25/4	7/4x
Elite	9/4	8/4	25/3	16/4	14/4	30/3	28/4	25/4	9/4
Hy Early	10/4	9/4	26/3	17/4	15/4	1/4	25/4	25/4	11/4
Red Miracle	10/4	8/4	25/3	15/4	14/4	30/3	24/4	24/4	10/4
INTÉRVALO	9-10/4	7-9/4	25-26/3	13-17/4	13-15/4	29/3-2/4	24-28/4	24-23/4	7-11/4

Cuadro 52: Períodos de floración de 8 variedades 'Red Delicious' durante los años 1992, 1993 y 1994.

'Golden Delicious', y entre 2 y 4 días con respecto a 'Mondial Gala', lo que implica que las variedades del grupo 'Red Delicious' sean más sensibles a las heladas primaverales. A pesar de ello, en ninguno de los tres años del período 1992-1994, las producciones se vieron afectadas por helada.

# 2.- <u>ANÁLISIS DE LAS CONDICIONES CLIMÁTICAS DE LOS AÑOS 1992, 1993 Y</u> 1994

Las temperaturas tienen una gran importancia en la síntesis de antocianos, y por tanto en la coloración de los frutos (Proctor, 1974; Tan, 1979; Bröhier, 1984; Saure, 1990). La evolución de las mismas, en el período previo a la recolección, fué análoga a la de las experiencias realizadas con riego refrescante, expuestas en el Capítulo I. Las temperaturas máximas y mínimas diarias, correspondientes al período 9 de agosto-11 de septiembre de los años 1992, 1993 y 1994 (período previo a la recolección de las 8 variedades 'Red Delicious' estudiadas), se han representado en la Figura 2-6. Las temperaturas correspondientes a 1993, tanto máximas como mínimas, fueron inferiores a las de 1994, mientras que las de 1992 fueron las propias de un año normal y similares a 1994; solamente en el período 15-25 de agosto de 1992, las mínimas fueron más elevadas de lo normal.

#### Figura 2-6

El salto térmico diario, o diferencia entre temperaturas máximas y mínimas diarias, en el período previo a la recolección, se ha citado por algunos autores por su influencia en la síntesis de antocianos y consecuentemente en el color, asociándose generalmente mayor color cuanto mayor es el salto térmico (Tan, 1979; 1980). Fué por ello que se calculó para el período 21 de agosto-11 de septiembre de los años 1992, 1993 y 1994. Los resultados obtenidos se han expuesto en el Capítulo I.- "Resultados y discusión", variedades 'Early Red One' y 'Oregón Spur'.

En función de lo anteriormente expuesto, puede deducirse, que para el período estudiado, y comparando los años 1992 y 1994 con 1993, fué más importante para el color de los frutos, la diferencia entre temperaturas mínimas diarias, que el salto térmico acumulado entre los mismos en el período previo a la recolección; por lo que 1993 fué el año en el que se obtuvo una mayor coloración de los frutos. Resultados análogos se han obtenido en los ensayos de riego refrescante (Capítulo I), y son coincidentes a los expuestos por otros autores, con respecto a la influencia de las temperaturas en el color (Faragher et al., 1984; Saure, 1990).

Al igual que en las experiencias de riego por aspersión, variaciones en las temperaturas llevaron siempre implícitas variaciones en la humedad relativa, observándose una extrecha dependencia y una relación inversa entre ambas variables.

## 3.- EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS COLORIMÉTRICOS DEL FRUTO

La diferentes variedades objeto de estudio, presentan importantes diferencias en la intensidad de la coloración de los frutos, en la precocidad de aparición del color y en la homogeneidad del mismo, tanto en el árbol como entre árboles. Con el objeto de determinar dichas variaciones, se introdujo en el modelo del análisis de varianza los factores árbol, fruto y cara; realizándose las determinaciones de color, en las dos caras de los frutos correspondientes a cada uno de los 5 árboles de cada variedad.

De las 8 variedades, 'Topred Delicious', 'Hy Early', 'Sharpred', 'Red Chief' y 'Elite 'presentaron una coloración con estrías mas o menos evidentes, especialmente en la cara sombreada; mientras que el color de 'Early Red One' y 'Red Miracle' fué uniforme y sin estrías. En la experiencia se pretendía conocer, además del efecto de la variedad en el color de los frutos, hasta que punto las determinaciones del color con un colorímetro reflejaban la apreciación visual del mismo. En diversas experiencias se ha puesto de manifiesto, que la relación entre ambas variables, es inferior en variedades de coloración estriada, con respecto a variedades de coloración uniforme (Singha et al., 1991a,b; Graell et al., 1993).

A continuación, se exponen los resultados de la determinación de los parámetros colorimétricos, mediante el colorímetro portatil triestímulo Minolta CR-200, para los años 1992, 1993 y 1994, para las diferentes fechas de muestreo de cada una de las 8 variedades. Las mediciones de color se realizaron los años 1993 y 1994 en los frutos recolectados, mientras que en 1992 se siguió la evolución del color *in situ* (en el campo). Posteriormente se procedió a la determinación del contenido de antocianos. Los parámetros colorimétricos determinados para cada año, fecha y cara del fruto fueron: L\*, a\* y b\* (proporcionados directamente por el colorímetro); a partir de los cuales se calcularon a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*. Su interpretación desde el punto de vista de color y su cálculo se ha expuesto en el apartado Introducción: "El color y su medida".

La evolución de los parámetros colorimétricos en el tiempo fué la siguiente:

- \* Disminución: L\*, b\*, Tono, Saturación y DE\*.
- \* Aumento: a\*/b\* y a\*.

En cuanto al parámetro L\* o luminosidad, se ha observado siempre una relación inversa con la coloración, en el sentido que cuanto más color presenta una variedad (valores altos de a\*/b\* y bajos del Tono), menores son los valores de L\*; resultados análogos han sido expuestos por otros autores (Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1994). De los diferentes parámetros determinados: L\*, a\*/b\* y Tono, fueron los que posteriormente en el análisis de regresión proporcionaron los mejores valores de los coeficientes de determinación (R²), y es por ello que se han expuesto en los *Cuadro 53, 54* y 55.(ver tablas 2-5, 2-6, 2-7).

Los coeficientes de variación oscilaron mayoritariamente entre el 5,1% y el 31,2%, siendo en general próximos al 10%, correspondiendo los mayores a a\*, y los menores a DE\* y L\*. Cuando superaron el 60% y/o la varianza no fué homogenea (vease en Material y métodos: "Tratamiento estadístico"), lo que ocurrió en algunas fechas con el parámetro a\*, se calcularon las medias pero no se realizó su separación. Comparando los años, los menores coeficientes correspondieron a 1993, que fué el año de mejor coloración, seguido por 1992 y por 1994. La cara verde presentó siempre valores más elevados que la cara roja.

#### \* Resultados año 1992

Se determinaron los parámetros colorimétricos para cada cara del fruto en las siguientes fechas: 28/julio, 10/agosto, 24/agosto y 7/septiembre (recolección). Las resultados obtenidos para L\*, a\*/b\* y Tono, se exponen en el <u>Cuadro 53</u> (tabla 2-5), donde figura la separación de medias para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones. En el mismo cuadro se exponen los valores correspondientes al fruto entero y a las dos caras.

En el momento de la <u>recolección</u> y considerando la cara roja, se dieron diferencias significativas en los parámetros L\*, a\*/b\* y Tono. Para el Tono, el menor valor (indica una mayor coloración) correspondió a *'Red Miracle'* y el mayor a *'Topred Delicious'*. La variedad con el mayor valor de a\*/b\* (más color) fué *'Red Miracle'*, siendo *'Hy Early'* y *'Topred Delicious'* las de menor valor. Con el resto de variedades se obtuvieron, para los tres

parámetros, valores intermedios a 'Topred Delicious' y 'Red Miracle', siendo 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Elite' las que en base a los parámetros evaluados proporcionaron una mayor coloración, mientras que para 'Hy Early' y 'Sharpred', el color fué inferior. Los menores valores de L\* correspondieron a las variedades de mayor coloración, siendo también 'Red Miracle' inferior al resto de variedades. Análogamente ocurrió con el vector espacial de cromaticidad DE\*, cuya evolución en el tiempo fué similar a L\*. Teniendo en cuenta la totalidad del fruto y la cara verde, el comportamiento fué similar al expuesto anteriormente para la cara roja, existiendo siempre diferencias entre 'Red Miracle' y el resto de variedades.



1992		26/julio	)		10/agos	to		24/agosto			7/septie	7/septiembre		
											(recolec	ción)		
Parámet	Variedad	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	
ro			ļ											
	Red	44,6	40,4 <sup>++</sup> d	48,8 <sup>++</sup> c	44,9 <sup>+</sup> a	41,2 <sup>++</sup> e	48,6 <sup>++</sup> d	34,3 <sup>+</sup> e	31,9 <sup>++</sup> e	36,7 <sup>++</sup> c	31,2°f	30,1"d	32,2"e	
	Miracle	+c										l		
	E Red One	62,2 b	56,1 bc	68,4ab	57,2bc	50,8bcd	63,6 bc	47,2 d	42,2 d	52,3 b	39,3de	37,4 c	41,1 d	
	Red Chief	61,6 b	55,0 c	68,3	57,4	52,1	62,8 bc	48,1 d	42,7 d	53,6 b	41,0	37,9 с	44,0 cd	
<u>.</u> .				ab	bc	bcd					cde			
L*	Elite	62,9 b	57,8 bc	68,0 b	53,8 c	48,3 d	59,3 с	48,2 d	43,9	52,5 b	38,4 e	36,5 c	40,4 d	
		62.51	50.01	60.0	50.41	50.01	65.0.1	510 1	cd			20.5		
	Oregón	63,5 b	58,0 bc	69,0	59,4 b	53,0 bc	65,9 ab	51,0 cd	45,6 c	56,4 ab	42,1 cd	39,5 c	44,6	
	Spur	(2.01	57.71	ab	543	40.2	50.2	562.1	50.6	(1.0	45.0.1	42.2	bcd	
	Sharpred	62,9 b	57,7 bc	68,2 b	54,2 c	49,2 cd	59,3 с	56,3 ab	50,6	61,9a	45,9 ab	43,3	48,5 ab	
	II. Fl.	(5.0	(1 ( -l-	68,5	50.2 h	52 O I	(15 -1-	52.7 h -	ab	5 ( 5 -1-	42.01	ab	47.5	
	Hy Early	65,0	61,6 ab	/	59,2 b	53,9 b	64,5 ab	52,7 bc	48,9 b	56,5 ab	43,8 bc	40,1	47,5	
	Tonnad	ab 68,2 a	65.10	ab	6125	59,3 a	60.4 a	57.2 %	52,3 a	62.2.0	48,3 a	bc	abc	
	Topred Red		65,4 a 1,9 a	71,l a 0,89 a	64,3 a	1,9 a	69,4 a	57,3 a 2,4 a		62,3 a	2,9 a	44,7 a	52,0 a	
	Miracle	1,4 a	1,9 a	0,89 a	1,5 a	1,9 a	1,1 a	2,4 a	2,6 a	2,1 a	2,9 a	3,2 a	2,7 a	
	E Red One	-0,04	0,28 bc	-0,36 b	0,42	0,93 b	-0,07	1,3 be	1,7 bc	0,82 b	2,3 b	2,5 b	2,2 b	
	E Rea One	-0,04 bc	0,28 00	-0,30 0	bc	0,93 0	bc	1,5 06	1,7 00	0,82 0	2,3 0	2,5 0	2,2 0	
	Red Chief	0,21 b	0,69 b	-0,26 b	0,61 b	1,1 b	0,11 b	1,4 b	1.9 b	0,93 b	2,3 b	2,7 b	2,0 b	
a*/b*	Elite	-0,06	0,09 b 0,23 bc	-0,26 b	0,61 b	1,1 b	0,11 b	0,90	1,9 to	0,53 b 0,54 bc	2,0 bc	2,7 b	1,7 bc	
a "/D"	Line	bc	0,23 00	-0,55 0	0,550	1,0 0	0,00 00	cd,	1,4 Cu	0,54 00	2,0 00	2,5 00	1,7 bc	
	Oregón	-0,09	0,22 bc	-0,40 b	0,30	0,78 bc	-0, 17	1,0 bcd	1,6 bc	0,48 bc	2,0 bc	2,2 bc	1,9 b	
	Spur	bc	0,22 00	0,40 0	bc	0,70 00	bc bc	1,0 000	1,0 00	0,40 00	2,0 50	2,2 50	1,7 0	
	Sharpred	-0,06	0,23 bc	-0,36 b	0,50 b	0,95 b	0.06 bc	0,64 de	1,1 de	0,18 c	1,8 с	2,1 cd	1,4 cd	
	Sharprea	bc	0,23 00	0,500	0,500	0,750	0,0000	0,01 40	1,1 40	0,100	1,0 €	2,1 cu	1,1 cu	
	Hy Early	-0,08	0,13 c	-0,30 b	0,32	0,76 bc	-0, 11	0,70 de	1,0 e	0,38 bc	1,7 cd	2,0 cd	1,3 de	
	11) 20.19	bc	0,13	0,500	bc	0,7000	bc	0,70 40	1,00	0,5000	27.00	2,0 04	1,0 00	
	Topred	-0,29 c	-0, 17 c	-0,41 b	0,04 c	0,40 c	-0,31 c	0,49 e	0,87 e	0,11 c	1,3 d	1,7 d	1,0 e	
	Red	56,9 c	61,3 d	52,5 b	42,2 c	29,0 c	55,4 c	21,9 f	21,7 e	22,2 e	17,8 d	17,7 c	17,9 e	
	Miracle	(1)	W 183	21 N.X.		W. 1.1	(2)		-4	, ,	7.7"	,-		
	E Red One	90,7	75,7 bc	107,7a	72,6	51,0 b	94,2 ab	44,8 de	32,1	57,6 cd	24,7 c	21,6	27,8 d	
		ab	97 A		ab	100	J7 A	7	cd	- Y	V 7000	bc	,	
	Red Chief	82,9 b	61,2 c	104,5a	64,3 b	44,4 bc	84,2 b	40,6 e	28,0	53,2 d	25,3 с	21,5	29,2 d	
	811.		ril.		A' 1	47 11		7 1 15	de		2.69	bc	,	
Tono (°)	Elite	83,9	78,1 bc	109,7a	67,2 b	47,3 b	87,1 ab	52,3	38,7	65,9	28,8 bc	24,2 b	33,5	
()	7.00	ab				1 1/4	,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	bcd	bc	bcd	15.20	,=	bcd	
	Oregón	95,3	78,8	111,8a	76,8	54,0 b	99,5 ab	50,4	34,3	66,5	27,9 bc	24,5 b	31,3 cd	
	Spur	ab	abc	,	ab		. ,	cde	cd	abcd	"	)	,	
	Sharpred	93,9	78,1 bc	109,7a	68,7 b	50,3 b	87,1 ab	62,4 ab	44,0 b	80,7 ab	32,0 b	26,5 b	37,5 bc	
	*	ab				1					/*	- /	,=	
	Hy Early	94,8	83,2 ab	106,4a	75,5	54,5 b	96,5 ab	58,8	45,1 b	72,5 abc	31,5 b	27,0 b	36,0 b	
		ab	,	,,,,,	ab	, , , ,	,	abc	- ,	,	- ,	,	,	
	Topred	105,8	99,4 a	112,2a	89,1 a	71,4 a	106,8a	69,3 a	54,1 a	84,5a	41,6 a	32,7 a	50,5 a	
		a		,	.,.,	,	,	- ,	,	,	/	, ~	-,-	
	1	1	1	1	1	1	1	l	1	l	1	1	l	

**Cuadro 53:** Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara roja (CR) y cara verde (CV), de 8 variedades, '*Red Delicious*', en diferentes fechas de muestreo y en la recolección, año 1992. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

En las <u>dos fechas previas a la recolección</u> (10 de agosto y 24 de agosto), se dieron también diferencias entre variedades, que indican que la coloración de los frutos se fué incrementando progresivamente, y que ya en estadios precoces, se dieron importantes diferencias entre variedades. Es de destacar, que aquellas que en la recolección presentaron valores colorímétricos que indicaban mayor color, fueron las que lo adquirieron más precozmente. Destacar en este sentido 'Red Miracle'; también 'Early Red One', 'Red Chief',

<sup>(&</sup>lt;sup>+</sup>)Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

<sup>(++)</sup>Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.

<sup>(\*)</sup>Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.

<sup>(\*)</sup>Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

'Oregón Spur' y en menor medida 'Sharpred', dado que presentaron valores que diferieron de 'Hy Early' y 'Topred Delicious'. Ello pone de manifiesto, una mayor precocidad en la adquisición del color en variedades mejoradas desde el punto de vista de coloración, como 'Red Miracle', 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Oregón Spur'. Análogos resultados se obtuvieron por Singha et al. (1994), con las variedades de elevada coloración 'Ace' y 'Oregón Spur II', con respecto a 'Nured' y 'Red Prince' de menor coloración.

El <u>primer muestreo</u> se realizó el 26 de julio, 46 días antes de la fecha de recolección, con el objetivo de conocer si las variedades mejoradas desde el punto de vista del color, presentaban una mayor precocidad en la adquisión del mismo, respecto a otras ya conocidas y que se tomaron de testigo, como *'Topred Delicious'*. En dicha fecha, se dieron diferencias entre variedades en todos los parámetros evaluados. En base al ratio a\*/b\* y al Tono, tanto para el fruto entero como por caras, *'Red Miracle'* proporcionó valores que indican una mayor coloración de los frutos, o lo que es lo mismo una mayor <u>precocidad</u> en la aparición del color. El menor color correspondió en general a *'Topred Delicious'* y *'Hy Early'*, a las que correspondieron también los mayores valores de L\*.

#### \* Resultados año 1993

Se determinaron los parámetros colorimétricos en las siguientes fechas: 11/agosto; 24/agosto y 7/septiembre (recolección). La época de recolección correspondió a la de un año normal. Los resultados obtenidos se exponen en el *Cuadro 54* (tabla 2-6), y fueron similares a los de 1992, en cuanto al comportamiento de las variedades. Sin embargo, y tal como ocurrió con el contenido de antocianos, todos los parámetros indican una mayor coloración con respecto a 1992 y 1994.

En el momento de la <u>recolección</u> se dieron diferencias significativas para L\*, a\*/b\* y Tono, que indican la mayor coloración para 'Red Miracle' y la menor para 'Topred Delicious' y 'Hy Early', situándose en posición intermedia 'Red Chief', 'Early Red One', 'Elite' y 'Oregón Spur'.

Los menores valores de L\* correspondieron a las variedades de mayor coloración, obteniéndose resultados similares a los del Tono.

En las dos <u>fechas previas a la recolección</u> (11 y 24 de agosto), se dieron también diferencias, siendo 'Red Miracle' diferente al resto de variedades para todos los parámetros colorimétricos. Al igual que ocurrió en la recolección, no se dieron diferencias entre 'Topred Delicious' y 'Hy Early', siendo éstas las que proporcionaron los mayores valores de L\* y del Tono, y los menores del ratio a\*/b\*. Entre las variedades 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Oregón Spur', no se detectaron diferencias, proporcionando en general valores que indicaban una mayor coloración que 'Elite' y 'Sharpred'.

1993		11/agosto	)		24/agost	to		7/septier	mbre (rec	coleccin)
Parám.	Variedad	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
	R Miracle	39,7d	36,1 e	43,2 e	38,1 e	35,0 d	41,1 e	31,5 d	30,5 d	32,6 d
	E Red One	50,5 c	45,0 d	56,0 d	48,0 d	44,7 c	51,4 d	38,2 c	36,2 c	40,1 c
	Red Chief	50,8 c	45,3 d	56,3 d	49,0 cd	44,6 c	53,4 d	39,2 bc	36,5 c	41,9 bc
L*	Elite	55,7 b	48,5 bc	63,0 ab	51,4 c	45,8 c	56,9 bc	38,9 bc	35,4 c	42,5 bc
	Oregón S.	52,3 c	46,5 cd	58,0 cd	50,6 cd	46,2 c	55,0 cd	39,0 с	36,4 c	41,6 c
	Sharpred	56,0 b	50,9 b	61,2 bc	54,5 b	49,6 b	59,4 ab	41,6 b	39,1 b	",0 b
	Hy Early	60,3 a	54,7 a	65,9 a	57,1 a	52,1 ab	62,2 a	45,3 a	41,9 a	48,7 a
	Topred	60,1 a	55,7 a	64,6 a	57,3 a	53,6 a	61,1 a	45,8 a	43,9 a	47,8 a
	R. Miracle	2,2 a	2,6 a	1,7 a	2,3 a	2,8 a	1,9 a	3,0 a	3,2 a	2,9 a
	E Red One	0,76 bc	1,3 bc	0,22 bc	1,1 b	1,4 bc	0,71 b	2,4 bc	2,8 b	2,0 bc
	Red Chief	0,93 b	1,5 b	0,36 b	1,2 b	1,7 b	0,71 b	2,3 bc	2,7 b	1,9 bc
a*/b*	Elite	0,55 c	1,2 bc	-0, 10 de	0,9 bc	1,4 bc	0,38 c	2,1 bc	2,5 b	1,7 c
	Oregón S	0,91 b	1,6 b	0,22 bc	1,1 b	1,5 b	0,77 b	2,3 bc	2,6 b	2,1 b
	Sharpred	0,50 c	1,0 c	0,10 cd	0,71 c	1,2 c	0,22 cd	2,0 c	2,3 c	1,7 c
	Hy Early	<i>0</i> , 13 d	0,56 d	-0,29 e	0,39 d	0,78 d	0,02 d	1,4 d	1,7 d	1,0 d
	Topred	0,10 d	0,43 d	-0,22 e	0,33 d	0,57 d	0,10 d	1,3 d	1,6 d	1,1 d
	R Miracle	25,8 e	21,1 d	30,5 e	23,7 d	19,9 c	27,5 d	18,2 c	17,3 d	19,0 с
	E Red One	59,4 bcd	40,4 bc	78,4 cd	47,7 c	36,6 b	57,5 c	25,1 b	21,4 bc	28,9 b
	Red Chief	52,9 d	35,0 c	70,8 d	45,6 c	33,3 b	57,9 c	24,1 b	20,0 c	28,3 b
Tono	Elite	68,1 b	41,2 bc	95,0 ab	54,6 bc	37,0 b	72,3 b	27,9 b	21,8 bc	33,9 b
(°)	Oregón	56,9 cd	35,9 c	77,8 cd	45,7 c	35,9 b	55,6 c	24,6 bc	22,9 bc	26,3 bc
	Sharpred	65,8 bc	46,4 b	85,2 bc	58,1 b	41,3 b	74,9 b	28,2 b	24,3 b	32,2 b
	Hy Early	84,0 a	61,8 a	106,3 a	73,8a	55,6 a	92,0 a	39,6 a	31,4ca	47,9 a
	Topred	85,0 a	68,0 a	102,1 a	75,1 a	60,9 a	89,3 a	39,7 a	32,9 a	46,6 a

**Cuadro 54:** Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al trigo entero (Total), cara roja (CR) y cara verde (CV), en diferentes fechas de muestreo y en la recolección, año 1993. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticarnente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

#### \* Resultados año 1994

Los parámetros colorimétricos se determinaron en las siguientes fechas: 8/agosto, 19 de agosto, 31/agosto, y 6 /septiembre (recolección). La recolección se anticipó con respecto a la de un año normal. Con respecto a 1993, se anadió una fecha de muestreo antes de la recolección, debido a que en 1992 y 1993 se produjo un incremento importante del color en el período previo a la recolección. En el *Cuadro 55*, se exponen los valores correspondientes a los parámetros L\*, a\*/b\* y Tono, en las diferentes fechas de muestreo.

En el momento de la <u>recolección</u>, las diferencias entre variedades fueron más importantes que en las dos fechas previas, dándose diferencias significativas para los tres parámetros. Para L\* y Tono, y al igual que ocurrió en 1992 y 1993, los menores valores correspondieron a la variedad '*Red Miracle*', lo que indica una mayor coloración, y los mayores a '*Topred Delicious*'.

Para dichos parámetros, no se dieron diferencias entre 'Red Chief', 'Early Red One' y 'Oregón Spur' que presentaron valores superiores a 'Red Miracle' y inferiores a 'Sharpred' y 'Elite'. Análogos resultados se han obtenido con a\*/b\*, correspondiendo los menores valores a 'Topred Delicious' y 'Hy Early' (menor color), y no existiendo diferencias entre 'Hy Early', 'Sharpred' y 'Elite'; el mayor valor correspondió también a 'Red Miracle'.

1994		8/agosto			19/agosto	)		31/agost	to		6/septiembre (recolección)		
	Variedad	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
Parámetro													
	Red Miracle	50,1 <sup>+</sup> d	41,1 <sup>++</sup> e	59, l <sup>++</sup> c	42,3 <sup>++</sup> d	47,9 <sup>++</sup> c	36,7 <sup>++</sup> c	38,0 <sup>+</sup> d	33,8 <sup>++</sup> d	42,2 <sup>+</sup> d	37,5° d	33,3 " e	42,0 " d
	E Red One	61,7 c	53,6 cd	69,8 ab	54,9 c	46,7 c	63,2 b	48,7 c	41,7 e	55,7 c	45,7 c	37,5 d	54,0 c
	Red Chief	61,1 c	52,3 d	69,9 ab	53,9 с	44,6 c	63,3 b	49,3 bc	41,2 e	57,4 c	46,9 с	39,1 cd	54,8 c
L*	Elite	62,8 bc	55,1 bc	70,6 a	55,3 c	48,6 bc	61,9 b	55,0 a	46,7 ab	63,2 ab	50,2 b	40,7 c	59,7 ab
	Oregón Spur	61,1 c	54,2 cd	67,9 b	54,0 c	45,7 c	62,4 b	49,7 bc	42,3 be	56,9 c	46,2 c	38,6 d	53,8 c
	Sharpred	64,2 ab	57,3 b	71,2 a	54,5 bc	44,9 abc	64,2 b	53,6 ab	46,9 ab	60,4 bc	51,5 b	44,6 b	58,4 b
	Hy Early	65,9ca	60,1 a	71,7 a	61,6 ab	54,7 ab	68,6 a	58,0 a	50,2a	65,7a	52,3 b	44,4 b	60,2 ab
	Topred	66,0 a	61,0 a	71,0 a	61,2a	55,3 a	67,2 a	55,5 a	47,6a	63,5 ab	55,5 a	48,8 a	62,2 a
	Red Miracle	1,1 a	2,0 a	0,10 a	1,8a	2,6 a	1,1 a	2,6 a	3,1 a	2,1 a	2,7 a	3,3 a	2,2 a
	E Red One	0,11 cd	0,61 cd	-0,39 bc	0,73 be	1,4 b	0,03 bc	1,2 b	1,8 b	0,57 b	1,6 b	2,6 bc	0,70 bc
	Red Chief	0,31 b	0,96 b	-0,34 bc	0,88 b	1,7 b	0,07 b	1,3 b	2,1 b	0,52 b	1,7 b	2,5 b	1,1 b
a*/b*	Elite	0,04 de	0,52 d	-0,43 bc	0,61 bcd	1,2 bcd	0,02 bc	0,80 b	1,4 b	0,25 c	1,1 cd	1,9 cd	0,40 cd
	Oregón Spur	0,25 bc	0,78 bc	-0,28 b	0,84 b	1,6 b	0,09 b	1,3 b	2,1 b	0,52 b	1,6 bc	2,4 b	0,90 b
	Sharpred	0, 10 cd	0,56 cd	-0,35 bc	0,71 bcd	1,3 bc	0,12 b	0,94 b	1,5 b	0,35 bc	1,2 cd	1,8 d	0,65 bc
	Hy Early	-0,08 e	0,28 e	-0,45 c	0,22 d	0,70 d	-0,26 c	0,54 b	1,1 b	-0,01 c	1,0 de	1,7 de	0,33 cd
	Topred	-0,11 e	0,20 e	-0,42 bc	0,21 cd	0,72 cd	-0,29 c	0,59 b	1,2 b	-0,02 c	0,75 e	1,3 e	0,17 d
	Red Miraele	54,6 f	24,5 d	84,80 b	33,0 с	46,5 ab	19,6 c	18,8 c	13,2 e	24,4 c	21,6 f	16,8 f	26,3 f
	E Red One	86,0 cde	60,8 b	111,2 a	64,2 b	36,8 b	91,6 b	47,4 b	27,9 cd	66,8 b	41,2 de	24,5 cde	57,9 de
	Red Chief	79,1 e	49,3 c	108,8 a	58,0 b	30,7 b	86,2 b	45,9 b	26,4 d	65,5 b	35,6 e	21,0 ef	50,3 de
Tono (°)	Elite	88,7 bc	63,8 b	113,6 a	65,5 b	41,8 ab	89,2 b	65,5 a	37,7 ab	92,0 a	49,6 bc	28,5 bcd	70,7 bc
	Oregón Spur	80,3 de	55,1 bc	105,5 a	58,9 b	32,8 b	85,0 b	45,2 b	25,7 d	64,7 b	35,9 e	22,9 de	48,9 e
	Sharpred	86,5 cd	63,7 b	109,3 a	63,1 b	41,2 ab	84,9 b	53,4 b	34,5 bc	72,4 b	45,2 cd	29,5 bc	61,0 cd
	Hy Early	95,0 ab	75,7 a	114,4 a	79,6 a	56,1 a	103,2 a	68,1 a'	45,2 a	91,l a	52,7 b	32,1 b	73,4 ab
	Topred	96,0 a	79,3 a	112,8 a	80,5 a	56,7 a	104,3 a	68,3 a	39,5 ab	91,7 a	60,7 a	39,7 a	81,8 a

*Cuadro 55:* Valores medios y separación de medias de los parámetros colorímetricos, correspondientes al fruto entero (Total), cara roja (CR) y cara verde (CV), de 8 variedades '*Red Delicious*' en diferentes fechas de muestreo y en la recolección, año 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

(<sup>+</sup>)Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

En la <u>fecha previa a la recolección</u> (31 de agosto) se dieron también diferencias, siendo 'Red Miracle' diferente del resto de variedades para todos los parámetros, tanto para las dos caras como para el fruto entero. Para L\* y Tono, no existieron diferencias entre 'Topred Delicious', 'Hy Early' y 'Elite', proporcionando éstas valores superiores, que indicaban una menor coloración que el resto de variedades. Entre 'Red Chief', 'Early Red One' y 'Oregón Spur', no se dieron diferencias y sus valores fueron diferentes a 'Elite' y 'Sharpred'.

El ratio a\*/b\* presentó menor variación entre variedades; correspondiendo los menores valores (cara verde) *a 'Topred Delicious'*, *'Hy Early'*, *'Elite'* y *'Sharpred'* 

Tanto en la <u>primera fecha</u> (8 de agosto) <u>como en la segunda</u> (19 de agosto), y al igual que en 1992 y 1993, existieron diferencias de colorimetría entre variedades, que indican que la coloración de los frutos fué más precoz en variedades con mejor color en la recolección como: 'Red Miracle', 'Early Red One' o 'Red Chief', con respecto a 'Topred Delicious' o 'Hy Early'.

Sin embargo, y como ocurrió en 1992, las diferencias entre variedades fueron menos acusadas que en la recolección y que en la fecha previa, especialmente para la cara verde del fruto. Los valores obtenidos para 'Red Chief', 'Early Red One' y 'Oregón Spur', fueron similares, aunque 'Red Chief' (8 de agosto) presentó valores de a\*/b\* superiores a 'Early Red One' y proximos a 'Oregón Spur' que indican una mayor precocidad en la coloración de estas dos variedades.

Con el objeto de conocer la distribución del color en el fruto o su homogeneidad, las

<sup>(++)</sup>Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.

<sup>(\*)</sup>Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.

<sup>(··)</sup>Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

determinaciones se realizaron de forma separada para ambas caras del fruto, metodología ya utilizada por otros autores con el mismo objetivo (Singha et al., 1991a; Graell et al., 1993). En la *Figura 60*, se ha representado la evolución de a\*/b\* correspondientes a la cara roja y a la cara verde de las 8 variedades, y de forma separada para los años 1992, 1993 y 1994. Ello permite, por una parte establecer comparaciones entre años, y por otra conocer la distribución del color en el fruto y consecuentemente la uniformidad del mismo. Este último aspecto es de interés, dado que una mayor uniformidad del color en variedades '*Delicious*' implica mayor color y por tanto mejor precio. Todos los años, '*Red Miracle*' fué la variedad con menores diferencias entre caras, debido a su elevada coloración y a la precocidad de la misma, lo que supone una distribución uniforme del color en el fruto. En el resto de variedades, los valores obtenidos para la cara roja, fueron entre dos y tres veces superiores a los de la cara verde, dependiendo del año, a excepción de las variedades de menos coloración como '*Hy Early*' y '*Topred Delicious*'.

Si se comparan las variedades, y teniendo en cuenta la cara roja, el mayor valor de a\*/b\* correspondió todas las fechas y años a 'Red Miracle', mientras que 'Topred Delicious' y 'Hy Early' proporcionaron valores inferiores a 'Red Chief', 'Oregón Spur' y 'Early Red One'. Con 'Sharpred' y 'Elite', se obtuvieron valores intermedios. Para la cara verde los resultados obtenidos fueron similares, si bien las diferencias entre variedades fueron menores. También los mayores valores correspondieron a 'Red Miracle', seguida por 'Red Chief', 'Oregón Spur' y 'Early Red One'.

Si se comparan los tres años, se observa que en 1992 y 1993 los valores obtenidos fueron similares, y en algunos casos superiores, a los de 1994. Análogamente ocurrió con los contenidos de antocianos en los ensayos de riego refrescante; lo que pudo ser debido a que en 1994 se dieron temperaturas más elevadas en el período previo a la recolección.

#### Figura 2-7

Los resultados indican que la mayor precocidad en la adquisición de color correspondió a 'Red Miracle', seguida por 'Red Chief', 'Early Red One' y 'Oregón Spur'. Además 'Red Miracle' mostró, ya desde la primera fecha de muestreo valores altos del ratio a\*/b\*, y en algunos casos (como en 1993) próximos a los obtenidos en la recolección. Para el resto de variedades, y en especial para la cara verde, se partió de valores muy inferiores con respecto a los de la recolección y más próximos entre variedades.

Si se comparan las dos caras del fruto, las menores diferencias correspondieron a 'Red Miracle' y 'Red Chief', lo que indicaría una mayor uniformidad del color. Para el resto de variedades, a medida que se aproximó la recolección, se redujeron las diferencias entre las dos caras del fruto. La significación del factor cara se ha analizado en el Apartado 5 del presente capítulo.

Para todos los parámetros colorimétricos objeto de estudio, tanto en el fruto entero como por caras, se produce una evolución progresiva de los mismos a partir de mediados de agosto, incrementando (a\*/b\*) o una disminuyendo (L\* y Tono). Así mismo, las variedades que presentaron una coloración <u>más precoz</u>, fueron también las que en la recolección alcanzaron valores de colorimétría que indicaban una <u>mayor coloración</u> de los frutos, como ocurrió de forma destacable con 'Red Miracle' y también con 'Red Chief' y 'Early Red One'. Contrariamente, en base a todos los parámetros analizados, las variedades de menor coloración y menor precocidad de la misma, fueron 'Hy Early' y 'Topred Delicious'. Estos resultados coinciden con los expuestos por otros autores para variedades 'Red Delicious' (Singha et al., 1991a;1994), según los cuales, variedades de elevada coloración, presentaban valores de los parámetros de cromaticidad que indicaban mayor color en las dos caras del fruto.

El análisis conjunto de los parámetros colorimétricos correspondientes al fruto entero y por caras, tanto en la recolección como en las fechas previas, pone de manifiesto que se dieron diferencias entre variedades en las características del color (intensidad, uniformidad) y en la precocidad de aparición. Variedades mejoradas como: 'Red Miracle', 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Oregón Spur', proporcionaron valores colorímetricos que indican una mayor coloración con respecto a variedades que habitualmente presentan problemas en la misma, como 'Topred Delicious' o 'Hy Early'. Dichos resultados son similares a los expuestos por otros autores (Baugher et al., 1990; Singha et al., 1991a,b; Graell et al., 1993), que observaron una menor coloración de 'Topred Delicious', y 'Sharpred' con respecto a 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Oregón Spur'.

## 4.- EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO DE ANTOCIANOS

Los antocianos son los principales pigmentos responsables de la coloración roja de las manzanas, por lo que mayores contenidos de los mismos se asocian asociados a una mayor coloración de los frutos (Chalmers et al., 1973; Singha et al., 1991a,b;1994). La determinación cuantitativa del contenido de antocianos se realizó, al igual que los parámetros colorimétricos, en las diferentes fechas de muestreo, para las dos caras del fruto de las 8 variedades. Los coeficientes de variación obtenidos, oscilaron entre el 18% y el 34%, correspondiendo los mayores a los años 1994 y 1992, y los menores a 1993; los correspondientes a la cara roja fueron menores que los de la cara verde, debido a la mayor homogeneidad del color en la cara roja. Los resultados obtenidos para el los años 1992, 1993 y 1994, se exponen en el *Cuadro 56 (tabla 2-8)*.

Se dieron variaciones importantes entre años, especialmente en la <u>recolección</u>. Las diferencias entre variedades, fueron similares a las expuestas en el apartado anterior para los parámetros colorimétricos. En **1992**, el mayor contenido de antocianos, teniendo en cuenta la cara roja y el fruto entero, correspondió a la variedad 'Red Miracle', alcanzándose valores superiores a los de otras variedades de buena coloración, como 'Early Red One' o 'Red Chief', las cuales tuvieron un comportamiento similar y superior, según fechas, a 'Elite' y 'Oregón Spur'. Los menores valores correspondieron a 'Topred Delicious', 'Hy Early' y 'Sharpred'.

En el muestreo realizado el día <u>26 de julio de 1992</u>, se detectaron diferencias que indican variaciones en la precocidad de coloración de las diferentes variedades. Los mayores contenidos correspodieron a *'Red Miracle'* y *'Red Chief'*, esta última no se diferenció de *'Early Red One'*.

Con el resto de variedades, se obtuvieron valores inferiores aunque no diferieron entre ellas, presentando valores muy bajos para la cara verde, que indican la nula coloración de la mayoría de variedades en estadios precoces de desarrollo del fruto. Estos resultados coinciden con los expuestos por Singha et al. (1994), según los cuales variedades que en la recolección tenían una elevada intensidad coloración como 'Oregón Spur II' y 'Ace', adquirieron ésta en estadios más precoces.

Año/Varie.	26/julio			10/agosto	)		24/agosto	)		7/septie. (r	ecolección	)
1992	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
R Miracle	8,0 <sup>+</sup> a	11 <sup>++</sup> a	5,0 <sup>++</sup> a	17 <sup>+</sup> a	21 <sup>++</sup> a	13 <sup>+</sup> a	32 <sup>+</sup> a	36 <sup>++</sup> a	28 <sup>++</sup> a	52 a	63" a	40"a
E Red One	6,7 a	10,2 b	3,3 b	6,7 b	10,2 b	3,1 b	12,1 b	18,1 b	6,1 b	31,4 b	42,8 b	19,9 b
Red Chief	6,8 a	9,2 ab	4,4 ab	5,7 bc	9,7 b	1,7 bc	11,7 b	16,1 b	7,3 b	26,5 bc	35,8 b	17,2 bc
Elite	0,50 b	0,90 c	0,20 c	4,7 bc	8,5 bc	1,0 c	10,6 bc	15,7 b	5,6 b	22,3 cd	24,9 с	19,6 b
Oregón S.	1,8 b	3,6 bc	0,01 c	3,9 cd	6,2 c	1,5 bc	7,7 bcd	8,1 c	7,3 b	19,7 cde	26,0 с	13,3 bcd
Sharpred	0,80 b	1,6 c	0,01 c	4,3 c	6,1 c	2,4 bc	5,8 cd	9,1 c	2,6 b	16,5 def	22,3 cd	10,6 cd
Hy Early	0,23 b	0,30 c	0,16 c	6,1 bc	9,1 b	3,1 b	5,3 d	8,4 c	2,1 b	14,6 ef	20,6 cd	8,6 d
Topred	0,05 b	0,11 c	0,01 c	1,6 d	2,4 d	0,80 c	3,9 d	5,9 c	1,8 b	11,3 f	14,9 d	7,8 d
1993	-			10/agosto	)		25/agosto	)		10/septie. (	recolecció	n)
R Miracle	-	-	-	31,1 a	38,3 a	24,0 a	38,6 a	52,2 a	25,1 a	76,2 a	89,3 a	63,2 a
E Red One	-	-	-	16,6 b	23,3 b	9,9 b	14,9 b	19,4 b	10,5 b	42,8 b	50,6 b	35,1 b
Red Chief	-	-	-	12,4 c	17,2 c	7,7 c	13,9 bc	17,8 b	10,1 b	39,3 b	53,3 b	25,3 с
Elite	-	-	-	10,7 c	15,7 c	5,7 d	12,2 c	17,1 b	7,1 c	32,4 c	39,6 cd	25,1 c
Oregón S	-	-	-	13,0 c	18,4 c	7,6 c	13,7 bc	17,6 b	9,8 b	39,9 b	46,9 bc	32,9 b
Sharpred	-	-	-	7,1 d	10,8 d	3,5 e	7,4 d	10,7 c	4,1 d	22,0 d	26,5 e	17,5 d
Hy Early	-	-	-	6,5 d	9,4 d	3,6 e	7,7 d	10,3 c	5,0 cd	21,9 d	26,4 e	17,4 d
Topred	-	-	-	4,9 d	7,6 d	2,3 e	6,4 d	8,5 e	4,3 d	18,8 d	25,5 e	12,1 e
1994	8/agosto	)		19/agosto	)		31/agosto	)		6/septie. (r	ecolección	)
R Miracle	12,9 a	19,2 a	6,7 a	26,3 a	33,1 a	19,6 a	36,2 a	48,6 a	23,9 a	47,0 a	61,4 a	32,6 a
ERed One	5,2 b	9,3 b	1,1 b	13,0 bc	20,4 b	5,6 b	18,5 b	28,1 b	9,0 b	31,5 b	45,9 b	17,1 b
Red Chief	4,2 bc	7,3 b	1,2 b	13,4 bc	20,3 b	6,4 b	19,4 b	30,2 b	8,6 b	31,7 b	48,3 b	15,1 b
Elite	4,0 bc	6,6 bc	1,4 b	8,4 bc	13,1 b	3,7 b	8,8 C	13,7 c	3,8 b	15,9 cd	26,3 d	5,4 cd
Oregón S	4,8 bc	8,9 b	0,80 bc	11,0 bc	16,5 b	5,4 b	17,9 b	26,4 b	9,4 b	25,4 с	37,5 c	13,4 bc
Sharpred	3,1 cd	5,9 bcd	0,20 cd	10,6 bc	14,9 b	6,1 b	11,8 C	18,8 c	4,8 b	17,1 cd	28,0 d	6,2 cd
Hy Early	1,7 d	3,1 cd	0,30 cd	8,5 bc	12,0 b	5,1 b	11,6 c	18,2 c	5,0 b	16,3 с	24,3 d	8,4 bcd
Topred	1,4 d	2,7 d	0,01 d	7,2 c	11,3 b	3,1 b	8,3 c	12,7 c	3,8 b	8,9 d	14,5 e	3,4 d

**Cuadro 56:** Valores medios y separación de medias de los contenidos de antocianos (expresados en nmoles/cm<sup>2</sup>), correspondientes al fruto entero (Total), cara roja (CR) y cara verde (CV), de 8 variedades '*Red Delicious*' en diferentes fechas de muestreo y en la recolección; años 1993, 1993 y 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

En 1993, las condiciones climáticas previas a la recolección se caracterizaron por temperaturas mínimas más bajas de lo habitual, lo que se tradujo en contenidos más elevados de antocianos, y en una mayor coloración de todas las variedades, con respecto a 1992 y a 1994; debido a la influencia directa de las temperaturas en la síntesis de antocianos (Hulme, 1970; Proctor, 1974; Tan, 1979; 1980). En la recolección, el mayor contenido de antocianos correspondió también a la variedad 'Red Miracle', no existiendo diferencias entre 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Oregón Spur'; mientras que 'Sharpred', 'Hy Early' y 'Topred Delicious' presentaron los menores contenidos.

En **1994**, las temperaturas antes de la recolección fueron más elevadas de lo habitual, lo que pudo influir en que las concentraciones de antocianos fueran las más bajas de los tres años estudiados. Los resultados obtenidos fueron similares a los de 1992, siendo *'Topred Delicious'* y *'Red Miracle'*, las variedades de menor y de mayor coloración, respectivamente.

Teniendo en cuenta <u>los tres años</u> y las dos caras del fruto, puede concluirse que la mayor coloración, en base al contenido de antocianos, correspondió a la variedad 'Red Miracle', destacando del resto de variedades. A continuación se situaron 'Early Red One' y 'Red Chief', ambas de comportamiento similar y superiores al resto de variedades, mientras que con 'Oregón Spur' y 'Elite', se obtuvieron valores intermedios. Los menores contenidos, considerando el fruto entero, correspondieron a: 'Sharpred', 'Hy Early' y 'Topred Delicious'.

Para todos los años, las mayores diferencias entre variedades las proporcionó la cara

<sup>(&</sup>lt;sup>+</sup>)Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

<sup>(++)</sup>Cada valor corresponde a la media de 35 frutos.

<sup>(\*)</sup>Cada valor corresponde a la media de 140 frutos.

<sup>(&</sup>quot;)Cada valor corresponde a la media de 70 frutos.

roja; resultados que son análogos a los obtenidos con los parámetros colorímetricos.

El análisis de los contenidos de antocianos en las <u>fechas previas a la recolección</u>, es de interés dado que aporta información de notable interés agronómico, acerca de <u>la precocidad de la coloración</u> de los frutos. Los resultados obtenidos son similares a los que se acaban de exponer para la recolección, destacando también 'Red Miracle' del resto de variedades, no existiendo en general diferencias entre: 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Oregón Spur', las cuales tuvieron un comportamiento similar. Los menores contenidos correspondieron a 'Elite', 'Sharpred', 'Hy Early' y 'Topred Delicious'.

Las diferencias entre variedades fueron, en general, inferiores si se considera la cara verde.

Durante los tres años, <u>el incremento más importante del contenido de antocianos</u> en las dos caras del fruto, se produjo todos los años <u>a partir de mediados de agosto</u>. Estos resultados confirman las observaciones realizadas por otros autores, según los cuales, el desarrollo del color se produce fundamentalmente durante las 2 o 3 semanas previas a la recolección (Recasens, 1982; Arakawa, 1988b; Saure, 1990; Lancaster, 1992; Singha et al., 1994). Según Chalmers et al. (1973), es en dicha fecha cuando se produce la transición de estados inmaduros a maduros, tanto desde el punto de vista de la coloración como de maduración, por lo que dichos autores utilizaron el contenido de antocianos como indice de madurez en variedades rojas. A pesar de ello, en <u>variedades de coloración muy precoz</u> como '*Red Miracle'*, es probable que dicha transición se produzca ya en los primeros estadios de desarrollo del fruto (Arakawa et al., 1986), por lo que el contenido de antocianos no puede utilizarse como indice de madurez.

El análisis de los contenidos de antocianos en las dos <u>caras del fruto</u>, es de notable interés, dado que permite conocer diferencias entre variedades en la <u>uniformidad del color</u>. Los contenidos de antocianos en la cara verde, en las dos primeras fechas de los años 1992 y 1994, fueron muy bajos, dado que es cuando se inicia la coloración, por lo que las diferencias entre la cara roja y la verde fueron muy importantes, llegando a ser hasta 8 veces superiores (*'Elite'*, 10/08/1992), lo que indica que la síntesis de antocianos se inicia en la cara más expuesta a la iluminación. Esto puede considerarse normal en muchas variedades, y evidencia que la síntesis de antocianos es fotodependiente, hecho puesto también de manifiesto por otros autores (Bishop et al., 1975; Proctor et al., 1976; Mancinelli, 1985).

Arakawa et al. (1986) y Arakawa (1988b), señalaron que la respuesta a la luz y la capacidad de coloración dependía además de otros factores (temperatura, luz, etc.), de la variedad. En la recolección, y a excepción de 'Red Miracle', los contenidos de la cara roja fueron aproximadamente el doble que en la cara verde, mientras que en 'Red Miracle' al presentar una alta coloración, se dieron pocas diferencias entre caras. Ello pone de manifiesto, que cuanto mayor es la facilidad de coloración de las variedades, menores son las diferencias en el contenido de antocianos entre caras; por lo que en variedades con una elevada aptitud a la coloración, la síntesis de antocianos no es fotodependiente, como lo demuestra el hecho, observado también por otros autores (Singha et al., 1991a,b; Fisher et al., 1989), que los frutos de algunas variedades como 'Scarlet Spur', 'Oregón Spur II', o 'Ace', coloreaban en zonas interiores del árbol completamente sombreadas.

Para ilustrar las diferencias de color entre variedades y entre caras, en la *Figura 2-8*, se ha representado la evolución en el tiempo del contenido de antocianos correspondiente a la cara roja y a la verde de las 8 variedades, durante los años 1992, 1993 y 1994.

#### Figura 2-8.

La distribución de antocianos en ambas caras del fruto fué similar los tres años, sin embargo, en años de menor coloración como 1994, las diferencias de color entre caras fueron

más importantes que en 1992 y 1993, debido a que los contenidos de antocianos fueron también inferiores. La significación del factor cara se calculó para cada variedad, año y fecha, exponiéndose los resultados obtenidos en el apartado siguiente.

En base a lo anteriormente expuesto, puede concluirse que se dieron diferencias significativas entre variedades. La variedad 'Red Miracle', fué la que presentó la mayor coloración, la más precoz y la uniforme en el fruto, incluso en años como 1994 con temperaturas poco favorables al color. En el mismo sentido, también 'Early Red One' y 'Red Chief' mostraron un buen comportamiento, obteniendo frutos con una buena coloración todos los años. Contrariamente ocurrió con 'Topred Delicious' y en menor medida con 'Hy Early' y 'Sharpred', para las cuales el color en 1994 no fué suficiente para obtener frutos de una adecuada calidad comercial; para 'Oregón Spur' y 'Elite' se obtuvieron valores intermedios. Dichos resultados, son similares a los expuestos en el apartado anterior para los parámetros colorimétricos.

Experiencias realizadas por Blizzard et al. (1988); Baugher et al. (1990); Ketchie (1990), Singha et al. (1991a,b;1994), Graell et al. (1993), pusieron de manifiesto la menor coloración de 'Topred Delicious' y de 'Sharpred', con respecto a otras variedades de obtención más reciente como 'Red Chief', 'Early Red One', 'Scarlet Spur', 'Oregón Spur II', 'Morgan Spur' y 'Ace'. En los principales países productores de variedades 'Red Delicious', cada vez es mayor el interés por la introducción de variedades de elevada coloración, debido a los mayores requerimientos en color exigidos para las normas de calidad (Baugher et al., 1990; Warner, 1995c).

## 5.- <u>SIGNIFICACIÓN DE FACTORES PRINCIPALES Y DE SUS INTERACCIONES</u>

Los resultados que se acaban de exponer, han permitido detectar diferencias de color entre variedades. Sin embargo, la metodología de muestreo elegida, teniendo en cuenta para cada variedad los factores árbol, fruto y cara, permite obtener una información interesante desde el punto de vista agronómico mediante el estudio de determinados factores principales y de sus interacciones. Para ello, se realizó un <u>análisis de varianza para cada variedad, año y fecha de muestreo,</u> introduciendo los factores <u>árbol, fruto y cara,</u> y calculando la significación de cada uno de dichos factores y de sus interacciones. Los resultados obtenidos en la recolección para el contenido de antocianas y para los parámetros colorimétricos L\*, a\*/b\* y Tono se exponen en el *Cuadro 57 (tabla 2-9)*.

En variedades rojas la no significación de los factores árbol, *árbol x fruto* y cara, indica mayor uniformidad del color entre los árboles, mayor homogeneidad del color de los frutos de un árbol, y mayor uniformidad del color del fruto (menores diferencias entre caras), respectivamente. Todas ellas constituyen por tanto, características de notable interés y deseables en variedades *'Red Delicious'*, dado que implican de forma global una mayor coloración y, consecuentemente, una mejor calidad de los frutos.

Factor	Variedad	1992			1993			1994		
		Anto.	a*/b*	Tono	Anto.	a*/b*	Tono	Anto.	a*/b*	Tono
	Red Miracle	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	E Red One	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Red Chief	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ARBOL	Elite	ns	ns	ns	**	*	ns	ns	ns	ns
	Oregón S	ns	ns	*	ns	*	ns	**	ns	*
	Sharpred	**	ns	*	ns	ns	ns	**	ns	ns
	Hy Early	*	ns	ns	*	**	*	*	*	ns
	Topred	*	ns	*	*	ns	*	*	*	**
	Red Miracle	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	E Red One	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Red Chief	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ARBOL x	Elite	**	**	*	*	ns	ns	*	**	*
<b>FRUTO</b>	Oregón S	ns	*	*	ns	**	*	*	**	*
	Sharpred	**	**	**	ns	*	ns	**	*	*
	Hy Early	*	**	ns	**	**	**	*	**	*
	Topred	**	**	**	**	**	**	*	**	**
	Red Miracle	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	E Red One	*	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
	Red Chief	ns	ns	ns _	ns	ns	ns	ns_	*	ns
CARA	Elite	*	*	ns	**	**	ns	*	**	**
	Oregon S.	*	*	ns	**	**	**	**	**	**
	Sharpred	**	*	**	**	**	**	**	**	**
	Hy Early	*	**	*	**	**	**	**	**	**
14	Topred	**	**	**	**	**	**	**	**	**

*Cuadro 57:* Significación de los factores: árbol, *árbol x fruto*, y cara; para el contenido de antocianos del fruto, a\*/b\* y Tono, de 8 *variedades 'Red Delicious'*, en los años 1992, 1993 y 1994, en la recolección. Se indica el nivel de significación de cada factor.

Anto.: Contenido de antocianos.

ns: no significativo.

(\*), (\*\*) : nivel de significación  $\alpha$ =0,05 y  $\alpha$ =0,01; respectivamente.

Los resultados expuestos en el *Cuadro 57 (ver tabla anterior)*, indican que para los parámetros analizados (antocianas, a\*/b\* y Tono), el factor cara fué el que más significación presentó para la mayoría de variedades, mientras que para el factor árbol no hubo significación para muchas variedades. La significación del <u>factor cara</u> implica diferencias de coloración entre las dos caras del fruto. De forma general, hubo significación para las variedades: *'Topred Delicious'*, *'Hy Early'*, *'Sharpred'*, *'Oregón Spur'* y *'Elite'*, y no la hubo para: *'Red Miracle'*, *'Early Red One'* y *'Red Chief'*, por lo que estas últimas serían las de coloración más uniforme del fruto. Resultados similares se obtuvieron para la interacción de los factores <u>arbol x fruto</u>, siendo en 1994 cuando se produjo un mayor número de significaciones, al tratarse de un año de difícil coloración; la no significación de *'Red Miracle'*, *'Early Red One'* y *'Red Chief'*, para la mayoría de parámetros y años, indica que estas variedades fueron las de color más uniforme en el conjunto del árbol.

Para el factor <u>árbol</u>, la mayoría de parámetros no fueron significativos de forma consistente para todos años. Hubo significación para algunos parámetros en *'Topred Delicious'*, *'Hy Early'* y *'Sharpred'*, lo que indica que para los mismos, dichas variedades presentaron diferencias de color entre árboles.

Para todos los años y factores, fué la variedad 'Red Miracle', la que en ningún caso presentó significación, lo que indica una buena homogeneidad del color entre árboles, entre

frutos y entre caras, a lo que habría que habría añadir su buena coloración y la precocidad de la misma. En base a los resultados expuestos, y teniendo en cuenta los años 1992, 1993 y 1994, la mayor regularidad del color entre árboles y la mejor uniformidad en el árbol y en el fruto, correspondió a la variedad 'Red Miracle', seguida por 'Red Chief' y 'Early Red One', mientras que para las variedades: 'Topred Delicious', 'Hy Early' y 'Sharpred', hubo menos regularidad, situándose 'Elite' y 'Oregón Spur' en una posición intermedia.

Para estudiar los factores <u>fruto</u>, <u>árbol y cara en el período 1992-1994</u>, se introdujo en el análisis de varianza el <u>factor año</u>. Este factor, fué significativo para la mayoría de variedades, excepto para '*Red Miracle*', lo que indica que los valores de dichos parámetros se vieron afectados por el año. Considerando los valores medios de los años 1992, 1993 y 1994, para el contenido de antocianas, a\*/b\* y Tono, no existió significación para el factor <u>árbol</u> en ninguna de las 8 variedades. La significación de la interacción triple <u>año x árbol x fruto</u>, indica que se dieron diferencias entre frutos para un mismo árbol y año, lo que ocurrió para todas las variedades, a excepción de '*Red Miracle*', '*Early Red One*' y '*Red Chief*'. La interacción <u>año x cara</u>, fué significativa para las variedades de menor coloración, lo que implica que el color de las caras se vió afectado por al factor año.

A continuación se analizan de forma detallada algunas de las interacciones dobles de mayor interés, como son: *fecha x variedad*, *fecha x año*, y *año x variedad*. Dicho análisis se realiza de forma conjunta para los años 1992, 1993 y 1994; tanto para los parámetros colorimétricos como para los contenidos de antocianas.

## 6.- ANÁLISIS CONJUNTO DE LOS AÑOS 1992, 1993 Y 1994

#### 6.1.- Parámetros colorimétricos

Al igual que ocurrió en las experiencias de riego refrescante, en los tres años estudiados el incremento más importante de la concentración de antocianas y, consecuentemente, la mayor evolución de los parámetros colorimétricos, tuvo lugar durante los 20 días previos a la recolección.

Como resultado global de la experiencia, interesa comparar de forma conjunta los resultados obtenidos durante los tres años del ensayo, para las 8 variedades evaluadas. Los valores medios de a\*/b\* y Tono, correspondientes al período 1992-1994, se han representado graficamente en la la *Figura 62*, donde el incremento de a\*/b\* y la disminución del Tono, indican una mayor coloración a medida que se aproxima la recolección. Para L\*, se obtuvieron resultados similares a los del Tono, en cuanto a diferencias entre variedades. Contrariamente, el ratio a\*/b\* (al igual que a\*) presentó un incremento en el tiempo y valores más elevados para las variedades de mayor coloración.

#### Figura 2-9

En base a los parámetros a\*/b\* y Tono, y al igual que ocurrió analizando separadamente los años 1992, 1993 y 1994, 'Red Miracle', se diferenció claramente del resto de variedades por su elevada coloración. A continuación 'Early Red One' y 'Red Chief', fueron las de mayor color, mientras que el menor color correspondió a 'Topred Delicious' y 'Hy Early' (sin diferencias entre ambas). 'Sharpred', 'Elite' y 'Oregón Spur', se situaron en posición intermedia, a pesar de que en la mayoría de fechas y parámetros 'Oregón Spur' no presentó diferencias con 'Red Chief' y 'Early Red One'. El parámetro a\* se incrementó a lo largo del tiempo (datos no expuestos), y fué mas elevado en las variedades de mayor coloración, resultados no coincidentes con los expuestos por Singha et al. (1991a,b); mientras

que b\* siguió una evolución similar al Tono y a L\*, siendo mayor en las variedades de menor color

El seguimiento de los parámetros colorimétricos en fechas previas a la recolección, ha permitido evaluar el efecto del tiempo. Para ello, se introdujo en el análisis estadístico el <u>factor fecha</u>, y se calculó para el período 1992-1994, la interacción de los factores *fecha x variedad*, tanto para los parámetros colorimétricos como para el contenido de antocianas; considerando las tres fechas de muestreo comunes a 1992, 1993 y 1994. Dicha interacción fué significativa, tanto para a\*/b\* como para el Tono (*Figura 2-9*), lo que indica que la evolución de dichos parámetros colorimétricos a lo largo del tiempo (a medida que se acercaba la recolección), se vió afectada por la variedad.

Polesello y Gorini propusieron, en 1980, la clasificación de variedades 'Red Delicious', en función del rango de variación de los valores conjuntos de a\*/b\* y del Tono, que es la que se ha seguido para clasificar las 8 variedades objeto de estudio. Los resultados obtenidos se exponen en el Cuadro 58 (tabla 2-10), donde se pone de manifiesto que los mayores valores de a\*/b\* y los menores del Tono correspondieron a la variedad 'Red Miracle' (grupo 1), de alta coloración. El menor color correspondió a 'Topred Delicious' y a 'Hy Early' (grupo 4), precedidas por 'Oregón Spur', 'Sharpred' y 'Elite' (grupo 3). Los valores de 'Early Red One' y 'Red Chief', correspondieron al grupo 2, que fueron las variedades de más color despues de 'Red Miracle'. Los valores del Tono, se encuentran para todas las variedades en el primer quadrante del espacio de color CIELAB (1976).

Grupo	Rango de	e	Variedades
	Tono	a*/b*	0 1
1 -	< 20°		Red Miracle
2	20° - 30°	2 - 2,5	Early Red One, Red Chief
3	30° - 40°	1,5 - 2	Oregón Spur, Sharpred Elite
4	> 40°	< 1,5	Hy Early Topred

*Cuadro 58:* Clasificación de 8 variedades ',*Red Delicious'* según los parámetros colorimétricos Tono y a\*/b\*, en el momento de la recolección. Los resultados corresponden a los valores medios de los años 1992, 1993 y 1994.

Los resultados expuestos son similares a los obtenidos por otros autores (Polesello et al., 1980; Graell et al, 1993), según los cuales, las variedades de mayor coloración como 'Turner', 'Early Red One', o 'Red Chief', pertenecieron a los grupos 1 y 2; mientras que las de menor color: 'Topred Delicious', 'Hy Early, 'Sharpred', se incluyeron en los grupos 3 y 4. Ello indica la utilidad de la medición del color mediante un colorímetro portatil, dado que proporciona una estimación rápida del color y permite establecer diferencias entre variedades en base a los parámetros colorimétricos (Singha et al., 1991a,b; 1994), tanto en el momento de la recolección como en fechas previas.

En las experiencias realizadas, 1992 fué un año con temperaturas normales; 1993 con temperaturas mínimas inferiores a las de 1994; en 1994 las condiciones climaticas fueron las propias de un año más caluroso de lo habitual. Con el objeto de comparar de forma conjunta los resultados obtenidos durante los tres años del ensayo, en el modelo de análisis de varianza se introdujó el factor <u>año</u>. Se calcularon también los parámetros colorimétricos correspondientes a la media de las 8 variedades para los años 1992, 1993 y 1994, y para cada una de las fechas en que se realizaron las determinaciones. Los resultados obtenidos se

exponen en el <u>Cuadro 59</u> (tabla 2-11), donde se indica también la significación de la interacción fecha x año.



Parámetro	Año	DETERNIII	Interacción		
		1 : Primera	2 : Segunda	3 : Recolección	FECHA x AÑO
	1992	56,4 b	49,4 b	41,3 b	
L*	1993	53,2 c	50,0 b	39,8 c	
	1994	61,6 a	55,2 a	48,1 a	
	1992	0,51 b	1,0 b	2,1 b	
a*/b*	1993	0,76 a	1,2 a	2,3 a	
	1994	0,22 c	0,8 c	1,5 c	
	1992	69,5 b	50,1 b	29,0 b	
Tono	1993	62,2 c	52,1 b	26,0 b	
	1994	83,2 a	62,9 a	42,9 a	

*Cuadro 59:* Valores de los parámetros colorimétricos correspondientes a la media de las 8 variedades para los años 1992, 1993 y 1994, y significación de la interacción *fecha x año*. Tratamientos con la misma letra no son estadísticamente diferentes ( $\alpha$ =0,05). (\*\*): nivel de significación  $\alpha$ =0,01.

En la primera fecha, las diferencias entre los tres años fueron significativas para todos los parámetros estudiados; mientras que en la segunda, no existieron diferencias entre 1992 y 1993 para L\* y el Tono, siendo los tres años diferentes para a\* y a\*/b\*. En la recolección, los valores de L\*, a\* y a\*/b\*, fueron diferentes para los tres años, mientras que para el Tono no existieron diferencias entre 1992 y 1993. La interacción *fecha x año*, fué altamente significativa para todos los parámetros colorimétricos estudiados.

Puede concluirse que 1993 fué el año con una mayor coloración, seguido por 1992 y finalmente por 1994. La significación de la interacción de los factores *fecha x año*, pone de manifiesto la influencia del factor año, y concretamente de las temperaturas, en los parámetros colorímetricos y en el color de los frutos.

Se realizó también un estudio comparativo, de los valores de colorimetría correspondientes a cada una de las tres fechas comunes a los años 1992, 1993 y 1994 (fecha 1, fecha 2 y recolección). En la *Figura 2-10*, se exponen los valores del ratio a\*/b\* y del Tono, de cada una de las 8 variedades, en el momento de la recolección de los años 1992, 1993 y 1994. Para los tres años, los mayores valores de a\*/b\* y los menores del Tono, correspondieron a la variedad *'Red Miracle'*, mientras que *'Topred Delicious'* presentó los menores valores de a\*/b\* y los mayores del Tono. Las variedades *'Early Red One'*, *Red Chief'* y *'Oregón Spur'*, proporcionaron valores intermedios. Es de destacar, que en variedades con elevada coloración como *'Red Miracle'*, los valores obtenidos en los tres años, presentaron poca variación, en comparación con otras de menor color *'Topred Delicious' o 'Sharpred'*. Consecuentemente, la interacción *año x variedad* fué significativa, lo que indica que para dichos parámetros, el comportamiento de las variedades dependió del factor año, o que la respuesta de las variedades, no fué la misma los tres años.

#### Figura 2-10

Lo expuesto anteriormente pone en evidencia la influencia de los factores fecha, año y variedad en los parámetros colorimétricos del fruto. Si éstos se analizan conjuntamente para los tres años, puede concluirse, que variedades como 'Red Miracle', 'Early Red One' y 'Red Chief', y años como 1993, proporcionaron valores de colorimetría que indican una mayor coloración de los frutos

#### 6.2.- Contenido de antocianas

Al igual que ocurrió con parámetros de cromaticidad, el incremento más importante de

la concentración de antocianas tuvo lugar entre 10 y 20 días antes de la recolección, que es cuando tiene lugar la coloración de variedades rojas de manzana (Chalmers et al., 1973 Recasens, 1982; Arakawa, 1988b; Saure, 1990; Lancaster, 1992; Singha et al., 1994).

Debido al efecto de <u>las temperaturas en la síntesis de antocianas</u> (Hulme, 1970; Proctor, 1974; Tan, 1979; Recasens et al., 1983), y teniendo en cuenta que se produjeron variaciones importantes entre años, era de interés conocer el efecto de los factores <u>fecha y año</u> en el contenido de antocianas, para lo cual se introdujeron en el análisis de la varianza. En la *Figura 2-11*, se ha representado la evolución de la concentración de antocianos correspondiente a la media de los años 1992, 1993 y 1994, para las diferentes fechas y variedades, y también los contenidos de cada variedad correspondientes a los años 1992, 1993 y 1994, en el momento de la recolección. Para ambos casos, se ha indicado la significación de las interacciones *fecha x variedad* y *año x variedad*, las cuales fueron significativas, lo que indica que el comportamiento de las variedades, se vió influenciado por la fecha de muestreo y por el año, o que la respuesta a dichos factores dependió de la variedad.

#### Figura 2-11

Al igual que con la colorimetría, los mayores contenidos de antocianos para las tres fechas correspondieron a la variedad 'Red Miracle' y los menores a: 'Topred Delicious', 'Hy Early' y 'Sharpred'. Para 'Early Red One', 'Red Chief' y 'Oregón Spur', se obtuvieron valores superiores al resto de variedades, mientras que para 'Elite' fueron intermedios. Al igual que en las experiencias realizadas por Singha et al. (1994), las variedades que en la recolección eran más rojas ('Red Miracle', 'Early Red One', etc.), adquirieron el color más precozmente.

Desde el punto de vista del color y al igual que ha sido expuesto por otros autores (Dennis, 1987; Crassweller et al., 1989; Fisher et al., 1989; Baugher et al., 1990a), el hábito de crecimiento *spur* no estuvo relacionado con una mayor coloración, dado que, por ejemplo, *'Early Red One'* y *'Red Miracle'* pertenecen al grupo *estándar* y *'Red Chief'* al *spur*, y todas ellas presentaron una elevada coloración.

El estudio, tanto de los parámetros colorimétricos como del contenido de antocianos, indican que la mayor coloración correspondió a 'Red Miracle' y la menor a 'Topred Delicious' y 'Early Red One'. En posición intermedia se situaron, con mayor color: 'Early Red One' y 'Red Chief', seguidas de: 'Oregón Spur', 'Elite' y 'Sharpred'. Estos resultados no son coincidentes a los obtenidos por Ketchie (1990), en los cuales el mejor color correspondió a: 'Early Red One', 'Topred Delicious', 'Sharpred' y 'Red Chief', sin apreciarse diferencias entre las mismas. En experiencias realizadas por Baugher et al. (1990), el comportamiento fué similar, dado que 'Red Chief' fué la variedad con una mayor coloración, mientras que 'Sharpred', 'Oregón Spur' y 'Topred Delicious', presentaron un color intermedio.

En los apartados anteriores se ha puesto en evidencia la importancia del factor <u>año</u>, tanto en los parámetros colorimétricos como en el contenido de antocianos, correspondiendo la mayor coloración a 1993, debido a las diferencias en las temperaturas mínimas diarias entre los tres años en el período previo a la recolección, como se ha expuesto en Apartado 2 del presente capítulo ("Análisis de las condiciones climáticas").

Las temperaturas mínimas correspondientes a 1993 fueron inferiores a las de 1994 y 1992. Estos resultados son coincidentes con los expuestos por otros autores (Recasens, 1982; Recasens et al., 1984, 1988)

La influencia de un mayor salto térmico, junto a las bajas temperaturas en el período previo a la recolección, también se ha señalado en numerosas referencias como favorecedor de la coloración (Tan 1979; Blankenship, 1987). En las experiencias realizadas, se cálculo el salto térmico para el período 21 de agosto-recolección, siendo similar los tres años, lo que

indica que la influencia de las temperaturas mínimas en la síntesis de antocianos, especialmente en las 2 o 3 semanas previas a la recolección. Análogas conclusiones se han obtenido en las experiencias de riego refrescante, expuestas en el Capítulo I.

Observaciones similares realizaron Singha et al. (1991a), al analizar 37 variedades 'Red Delicious', obteniendo que los menores valores de L\* (más color) correspondieron a 'Red Chief' y los mayores a 'Sharpred' y 'Topred Delicious', correspondiendo a 'Oregón Spur' valores intermedios; análogos resultados en cuanto a coloración se obtuvieron analizando el ratio a\*/b\*. En otras experiencias (Singha et al., 1991b), se analizó el contenido de antocianos y los valores de cromaticidad, de la cara más expuesta y de la menos expuesta a la iluminación; al igual que ha ocurrido en la presente experiencia, la cara más expuesta a la iluminación fué más roja (mayor contenido de antocianos, mayor ratio a\*/b\*, menor L\* y menor Tono) que la sombreada. En cuanto a variedades, y en base a los mismos parámetros, la mayor coloración se obtuvo para 'Red Chief', 'Oregón Spur II', Scarlet Spur ' y 'Ace'. Experiencias más recientes, indican una mayor coloración de 'Oregón Spur III' y 'Ace', en base a L\* y a\*/b\* (Singha et al., 1994).

Crassweller et al. (1991) y Baugher et al. (1990a), señalaron que en base a los parámetros colorimétricos L\* y Tono, el color de 'Red Chief' fue inferior a 'Scarlet Spur' y 'Ace', y similar a 'Ryanared', por lo que 'Red Chief' no fué la variedad de mayor coloración. También en experiencias previas Crassweller et al. (1984), obtuvieron para las variedades 'Early Red One' y 'Dixiered' una coloración superior a 'Red Chief'. Los mismos autores en experiencias posteriores (Crassweller et al., 1989), obtuvieron una coloración decreciente de las siguientes variedades: 'Oregón Spur II', 'Red Chief' y 'Topred Delicious', pero sin existir diferencias entre las mismas. Dichos resultados, no son coincidentes con los expuestos, dado que el color de 'Red Chief' fué siempre superior al de 'Topred Delicious'.

Segun las experiencias de Polesello y Gorini (1980), las variedades con menores valores del Tono o de mayor intensidad de coloración, clasificadas en el grupo 3.3, fueron entre otras 'Topred Delicious' y 'Ryanared'; mientras que 'Hy Early' se incluyó en el grupo 3.2, de menor color que el 3.3. Teniendo en cuenta el parámetro L\*, las variedades más coloreadas fueron indistintamente 'Hy Early' y 'Topred Delicious'. Estos resultados no son coincidentes a los que se acaban de exponer, dado que tanto en base al Tono como a L\*, las variedades 'Hy Early' y 'Topred Delicious', fueron las de menor coloración y ambas de comportamiento similar.

Los resultados obtenidos son coincidentes a los aportados por Fallahi et al. (1994), según los cuales, el color de 'Early Red One' y su precocidad, fué superior al resto de variedades; siendo 'Hy Early' una de las de menos color y de coloración estriada, mientras que el color de 'Early Red One' fué uniforme.

En zonas calurosas del Sureste de Francia, el mejor color correspondió también a 'Early Red One', seguida por 'Topred Delicious', 'Sharpred' (tipos estándar) y 'Red Chief' (spur). En los resultados obtenidos en la presente experiencia, el color de 'Red Chief' no diferió de 'Early Red One', siendo ambas de color superior a 'Sharpred' y 'Topred Delicious'. En las experiencias realizadas por Graell et al. (1993), tanto los valores de cromaticidad como los contenidos de antocianos, indicaban una coloración más intensa para 'Red Miracle', no existiendo diferencias entre: 'Early Red One', 'Red Chief', 'Elite', 'Hy Early' y 'Sharpred', y si entre éstas y 'Topred Delicious', resultados que coinciden parcialmente con los que se acaban de exponer.

Con respecto a la variedad 'Red Miracle', señalar que se dispone de escasas referencias acerca su comportamiento, tanto en Europa como en Estados Unidos, dado que se trata de una variedad de origen francés, de obtención reciente. Señalar sin embargo, que por su

elevada coloración, algunos autores (Trillot et al., 1993), la han equiparado a algunas variedades de procedencia norteamericana como 'Scarlet Spur', 'Dixiered', 'Oregón Spur II', 'Morgan Spur', 'Super Chief' o 'It', de coloración muy intensa y casi oscura. Actualmente la estabilidad de la variedad no esta garantizada, dado que frecuentemente se observan reversiones de vegetación a tipos spur; por lo que requiere de un nuevo proceso de selección.

 Figura 2-12
 Figura 2-13
 Figura 2-14

 Figura 2-15
 Figura 2-16
 Figura 2-17

# 7.- <u>RELACIÓN ENTRE LOS VALORES DE CROMATICIDAD Y EL CONTENIDO DE ANTOCIANOS DEL FRUTO</u>

Se determinó para cada uno de los frutos de las diferentes muestras, los valores de cromaticidad y los correspondientes contenidos de antocianos, lo que permite establecer las relaciones existentes entre ambas variables. Numerosos autores han determinado en variedades 'Red Delicious', la relación entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos o la apreciación visual del color de los frutos, obteniendo valores de los coeficientes de determinación de entre 0,59 y 0,93 (Francis et al., 1975; Francis, 1980; Polesello et al., 1980; Singha et al., 1991a,b; Graell et al., 1993; Lancaster et al., 1994).

El análisis de <u>regresión lineal multiple</u> entre los valores de cromaticidad y el contenido de antocianos, se ha realizado según la metodología expuesta en el el apartado Material y métodos: "Tratamiento estadístico", y se realizó unicamente en la recolección (no en los muestreos previos) de los años 1993 y 1994, para el fruto entero, para las dos caras de cada una de las variedades y para el conjunto de variedades. El año 1992, no se incluyó en los modelos de regresión, debido a que las determinaciones de antocianos no se realizaron en los mismos frutos en los que se habían realizado las lecturas con el colorímetro. Algunos de los modelos de regresión lineal múltiple obtenidos para: 1993+1994 conjuntamente, 1993, 1994, cara roja (1993+1994), y verde (1993+1994), de todas las variedades, figuran en el <u>Cuadro 60</u> (tabla 2-12). Se han incluido los modelos de regresión correspondientes a cada variedad, su significación y los coeficientes de determinación (R²); en todos los casos los modelos fueron altamente significativos (\*\*: a=0,01).

Considerando las 8 variedades, los valores del coeficiente de determinación (R²) para 1993+1994 conjuntamente fué, de 0,83; mientras que si se considera unicamente 1993, el valor fué de 0,87, y de 0,82 para 1994. Los valores obtenidos fueron similares para los dos años, considerados tanto de forma conjunta como separada. El valor de R² correspondiente a la cara más roja del fruto, presentó una menor relación con el contenido de antocianos que la cara verde; análogamente ocurrió en las experiencias de riego refrescante con las variedades 'Topred Delicious' y 'Starking Delicious', en las que los valores más elevados de dicho coeficiente correspondieron a la cara verde.

También se calcularon los modelos de regresión lineal múltiple, <u>separados para cada variedad</u>, y conjuntamente para los años 1993 y 1994, con el objeto de determinar posibles diferencias entre variedades (<u>Cuadro 60</u>), ver tabla 2-12. Los valores de R<sup>2</sup> oscilaron entre 0,82 ('Early Red One') y 0,69 ('Oregón Spur'), siendo para la mayoría de variedades próximos a 0,75. Variedades de mayor coloración como: 'Red Miracle', 'Early Red One' y 'Red Chief', no siempre proporcionaron los mayores valores, en relación con las de menor color o de coloración más estriada como: 'Topred Delicious', 'Sharpred' y 'Hy Early'. Un procedimiento análogo ha sido utilizado por otros autores, en el estudio comparativo de variedades 'Red Delicious' (Singha et al., 1991b), obteniendo los mejores ajustes (R<sup>2</sup> próximo

a 0,80) al utilizar ecuaciones separadas para cada variedad.



Período/ cara	Ecuación del modelo de regresión [Intérvalo de confianza β	R <sup>2</sup>			
Variedad					
1993+	y =65,8 - 2,1 L* - 0,87 a* + 1,1 b* + 21,4 (a*/b*) - 1,1 Sat +	0,83**			
1994	1,10 DE*				
(Todas las	L* = $[-0.4 \bullet -3.6]$ ; a* = $[-0.6 \bullet -1, 1]$ ; b* = $[1.6 \bullet 0.4]$ a*/				
	b* = [24,2 ◆ 18,6];				
variedades).	Sat. = [0, 1 ♦ -2,3]; DE* =[2,8 ♦ -0,8]				
1993	$y = 211,2 - 11,7 L^* - 4,7 a^* + 4,1 b^* + 13,2 (a^*/b^*) - 2,9$				
	Tono - 6,9 Sat				
(Todas las	$L^* = -[17,1 \  \bullet \  -6,3]; a^* = [2,5 \  \bullet \  -6,9]; b^* = [5,5 \  \bullet \  2,7];$				
	$a^*/b^* = [21,6 + 4,8];$				
variedades)	Tono = $[1,5 \spadesuit - 4,3]$ ; Sat.= 3,1 $\spadesuit$ -10,7]				
1994	y = 4.9 - 0.51 a + 20.6 a + b +	0,82**			
(T. varied.)	$L^* = [-0.4 - 0.6]; a^*/b^* = [21.7 - 19.7]$				
Cara roja	L* = $[-0.4   - 0.6]$ ; a*/b* = $[21.7   19.7]$ y = 223.9 - 9.5 a* -3.2 Tono + 9.2 Sat.	0,77**			
(T. varied.)	$a^*=[-7,5 \land -11,5]; \text{ Tono}=[-2,5 \land -3,9]; \text{ Sat.}=[11,2 \land 7,2]; \text{ DE}*=$				
	[-1,9 ♦ -2,9]				
Cara verde	y=15,1-0,08  a* -0,27  b* +23,2  (a*/b*)	0,84**			
(T. varied.)	$a^*=[-0.8 - 1.0]; b^*=[0.01 - 0.6]; a^*/b^*=[25.2 - 2.1]$				
Red Miracle	y=588,5 - 24,0 b* -58,3 (a*/b*) -13,3 Tono -3,5 DE*	0,79**			
	$b^*=[-11,6 \leftarrow -36,4]; a^*/b^*=[-15,7 \leftarrow -100,9]; Tono=[-1,3 \leftarrow -100,9]$				
	25,3];	U A			
	DE*= [-2.6 ◆ -4.4]				
Early R. One	DE*= $[-2.6   -4.4]$ y= 142,7-11,8 L*-3,4**+3,9b*+17,1 (a*/b*)-2,2 Tono -7,2 Sat.	0,82**			
. 清波	$L^*=[-4,2 \bullet -19,4]$ : $a^*=[-0,4 \bullet -6,4]$ ; $b^*=[6,5 \bullet 1,3]$ $a^*/b^*=[$	17			
1 137	30,3 \( \display 3.9 \];	Z 1)			
	Tono= $[-0,4 \leftarrow -4,0]$ ; Sat.= $[-2,2 \leftarrow -12,2]$	1 //			
Red Chief	y= 40,6 + 4,4 L* -1,2 a* +19,9 a*/b* + 3,4 Sat5,9 DE*	0,74**			
210 W 3	$L^*=[9,1 \bullet -0,1; a^*=[-0,8 \bullet 1,5]; a^*/b^*=[25,5 \bullet 14,3]; Sat.=[$	7 A			
300	$[2,3] \leftarrow -0,1, a = [-0,0] \leftarrow 1,0], a \neq 0 = [23,3] \leftarrow [4,3], \text{ sat.} = [-7,3] \leftarrow 0,3];$				
		~			
Elite	DE*. = $[-0.3   -11.5]$ y= -32.1 +0.90 b* + 25.8 (a*/b*)	0.72			
Eille	1111V	0,73			
Onggán Caus	$b^* = [1,7 • 0,1]; a^*/b^* = [32,4 • 19,6]$ $y = 26,1 + 16,9 (a^*/b^*) - 0,85 \text{ Sat.}$	0.69**			
Oregon Spur	100 to 10	0,09			
Sharpred	$a^*/b^* = [17.7 + 15.1]$ ; Sat.= $[-0.35 + -1.3]$ y = 19.9 - 5.4 L* $-0.46$ a* $+2.6$ b* $+31.7$ (a*/b*) $-3.5$ Sat. $+4.2$ DE*	0,81**			
Sharprea		0,61			
	L*= $[-1,3 \bullet -7,7]$ ; a*= $[-0,04 \bullet 0,8]$ ; a*/b*= $[$				
	[42,8 ◆ 20,4];				
	Sat.= $[-6,1 \leftarrow -1,0]$ ; DE+= $[8,0 \leftarrow 0,4]$	0.70**			
Hy Early	y= -22,5 -5,9 L* + 1,9 b+ +30,3 (a*/b*) -5,2 Sat +7,2 DE*	0,79**			
	L* =[-3,6 $  -8,2*$ ; b*= [2,9				
	3,6 ♦ −6,8];				
	DE*= [9,8 ◆ 4,6]				
Topred	y= 41,1 -0,47 a* + 1,1b* + 15,9 (a*/b*) -3,6 Sat +6,7 DE*	0,70**			
	$a^* = [-0.17 \bullet -0.77]; b^* = [2.1 \bullet 0.1]; a^*/b^* = [26.0 \bullet 4.9]; Sat. = [$				
	-1,3 ◆ -6,0];				
	DE*= [11,3 ◆ 2,1]				

*Cuadro 60:* Modelos de regresión lineal múltiple, intérvalos de confianza de las variables, coeficientes de determinación (R²) y significación de diferentes modelos de regresión lineal múltiple entre el contenido de antocianos y lso correspondientes valores colorimétricos de 8 variedades '*Red Delicious*', en el momento de la recolección t para los años 1993 y 1994.

- (y): contenido de antonianos.
- (\*): nivel de significación  $\alpha$ = 0,05.
- (\*\*): nivel de significación  $\alpha$ = 0,01.

Como complemento a las regresiones lineales múltiples, se realizó un análisis de regresión simple entre el contenido de antocianos y los valores colorímétricos. Para cada una de las variables L\*, a\*, b\*, a\*/b\*, Tono, Saturación y DE\*, y en la recolección, se calculó el modelo de regresión simple, que proporcionara un mejor ajuste (mayor R²) entre cada una dichas variables y el contenido de antocianos, considerando de forma conjunta y de forma separada los años 1993 y 1994, para el fruto entero y por caras de ambas variedades.

Dado que como resultado de la experiencia interesa evaluar de forma conjunta el comportamiento global de las 8 variedades en los años 1993 y 1994, se calcularon diferentes modelos de regresión simple para cada variedad y para el conjunto de variedades. En el *Cuadro 61* (tabla 1-13), figuran solamente los tres modelos correspondientes a cada una de las 8 variedades que proporcionaron un mejor ajuste, y que fueron significativos (a 0,05). Las ecuaciones han sido generalmente de tipo potencial, y en menor número de casos polinómico y exponencial.

Variedad	Modelos de regresión simple	$\mathbb{R}^2$
	$y = 342.082 \text{ L}^{*-2,44}$	0,75
Red Míracle	$y = 3.832 (a*/b*)^{-1,40}$	0,77
BIB	$y = 795.861 DE^{*-2.5}$	0,76
	$y = 1 E + 06 L^{-2,79}$	0,78
Early Red	$y = 4.55 (a^*/b^*)^2 - 6.34 (a^*/b^*)$	0,79
One	+14,40	
	y = 1.602,6 Tono -1,15	0,77
	$y = 4.004 e^{0.64(a^*/b^*)}$	0,73
Red Chief	$y = 1.835,2 \text{ Tono}^{-1,26}$	0,71
	$y = 2 E + 09 DE^{*-4,55}$	0,71
	$y = 1 E + 08 L^{*-4,14}$	0,80
Elite	$y = 2.79 (a*/b*)^{2.1}$	0,79
	$y = 10.501 \text{ Tono}^{-1.79}$	0,79
Mr. Jer	$v = 2 E + 06 L^{*-3,10}$	0,69
Oregón Spur	$y=3,71 e^{0,66 (a*/b*)}$	0,71
	$y = 2.417,3 \text{ Tono}^{-1,34}$	0,70
	$y = 1.611,6 + e^{-0.097 L*}$	0,75
Sharpred	$y = 5.74 (a*/b*)^2 -10.64 (a*/b*)$	0,80
	+8,99	
	$y = 17.531 \text{ Tono}^{-1.97}$	0,74
	$y = 7 E + 06 L^{*-3,38}$	0,69
Hy Early	$y = 2,43 e^{0.81 (a*/b*)}$	0,75
	$y = 2307 \text{ Tono}^{-1,36}$	0,78
	$y = 2.265,2 e^{-0.11 L^*}$	0,68
Topred	$y = 3.85 (a*/b*)^2 - 2.31 (a*/b*)$	0,70
	+1,81	
	$y = 0.092 DE^{*2} - 12.41 DE^{*+}$	0,74
	434,1	

*Cuadro 61:* Modelos de regresión simple y coeficientes de determinación (R<sup>2</sup>), entre el contenido de antocianos y los valores colorimétricos de 8 variedades '*Red Delicious*', en el momento de la recolección de los años 1993 y 1994 conjuntamente.

(y): contenido de antocianos.

De los diferentes parámetros colorimétricos, y considerando las 8 variedades, fueron: L\*, a\*/b\* y Tono, los que en general proporcionaron los valores más elevados de los coeficientes de determinación, mientras que los menores valores correspondieron a la Saturación. Para el vector espacial de cromaticidad (DE\*) y b\*, se obtuvieron valores similares o ligeramente inferiores a L\*; mientras que para a\* los valores fueron siempre inferiores a a\*/b\*. En las experiencias realizadas por Singha et al. (1991a; 1994), el ratio a\*/b\* reflejó de forma efectiva la percepción visual del color, y se relacionó también aceptablemente con los contenidos de antocianos, lo que no ocurrió con a\*.

Si se comparan las variedades, los valores de R<sup>2</sup> obtenidos, fueron similares y oscilaron entre 0,68 y 0,81, siendo la mayoría próximos a 0,75. No se dieron diferencias importantes en los coeficientes de determinación en función de la intensidad de la coloración, por lo que a variedades de mayor coloración como 'Red Miracle', 'Early Red One' y 'Red Chief' no les correspondieron siempre mayores valores de R<sup>2</sup>, que a variedades de menor color como 'Topred Delicious', Hy Early' o 'Sharpred'. Unicamente para las variedades 'Hy Early', 'Oregón Spur' y 'Topred Delicious', de color más estriado, los valores de R<sup>2</sup> (parámetro L\*) fueron ligeramente inferiores al resto de variedades. Este mismo hecho se ha constatado en los modelos de regresión lineal múltiple y en las experiencias de riego refrescante, correspondiendo los menores valores a las variedades de color estriado como 'Starking Delicious', 'Topred Delicious', y los mayores a 'Early Red One' y 'Oregón Spur'.

Los coeficientes de determinación obtenidos con los modelos de regresión lineal múltiple o simple, para una misma variedad, han sido similares y en todos los casos superiores a 0,68; lo que indica una predicción aceptable de los contenidos de antocianos en base a los parámetros colorimétricos, debido al elevado porcentage de variabilidad explicado por los modelos de regresión y a que éstos fueron siempre significativos.

Para disponer de modelos de regresión para el conjunto de variedades, y al igual que se realizó en las regresiones lineales múltiples, se calculó <u>para las 8 variedades</u>, los <u>modelos de regresión simple</u> que presentaban un mejor ajuste entre los valores de colorimetría y los correspondientes contenidos de antocianos, y que fueran significativos (a 0,05). Dichos modelos se calcularon también en el momento de la recolección y de forma conjunta <u>para los años 1993 y 1994</u>; los mejores ajustes se han representado en la *Figura 2-18*, indicando en cada caso la ecuación de ajuste y el coeficiente de determinación. Puede observarse que la bondad del ajuste ha sido buena para los 4 parámetros **L\*, a\*/b\*, Tono y DE\*,**obteniéndose valores de R² entre 0,76 y 0,80. Las ecuaciónes fueron de tipo potencial para L\* y Tono, y exponencial para a\*/b y DE\*; para b\*, se obtuvo también un buen ajuste, mientras que los menores valores correspondieron a a\* (0,41) y a la Saturación (0,11).

En todos los modelos de regresión simple, la Saturación fué el parámetro que se relacionó peor con el contenido de antocianos, mientras que para a\* se obtuvieron valores siempre inferiores a a\*/b\* y al Tono; para b\* los valores fueron intermedios a a\* y a L\*. Las

mejores ecuaciones de ajuste correspondieron, generalmente, a los tipos exponencial y potencial, y en menores ocasiones a logarítmicos y polinómicos.

#### Figura 2-18

Los valores de R<sup>2</sup> obtenidos en el análisis de regresión, considerando de forma conjunta las 8 variedades, son similares e incluso superiores a los de otras experiencias con variedades 'Red Delicious' (Crassweller et al., 1991; Singha et al., 1991b;1994; Graell et al., 1993), e indican una buena predicción de los contenidos de antocianos en base a los parámetros colorímetricos. Análogos resultados se han obtenido en el análisis de regresión lineal múltiple.

Singha et al. (1991b) evaluando de forma conjunta 10 variedades, obtuvieron coeficientes de determinación para la relación entre el contenido de antocianos - b\* y a\*/b, de 0,51 y 0,53, respectivamente. Para el parámetro (a\*/b\*)², el valor de R² fué de 0,50; y se mejoró hasta 0,80 al utilizar modelos de regresión separados para cada variedad. En la presente experiencia es de destacar, que en la mayoría de los modelos de regresión lineal múltiple y simple aparece el ratio a\*/b\*, que en numerosos estudios se ha considerado que es el que está mejor relacionado con la apreciación visual del color, lo que no ocurre con a\* (Singha et al., 1989; 1991a,b; 1994). Graell et al. (1993) en la zona tardía de Lleida, obtuvieron con 11 variedades 'Red Delicious' valores de R² de 0,93 para a\*/b\* y de 0,86 para el Tono, valores similares a los que se acaban de exponer.

En la presente experiencia, también se pretendía conocer la relación existente entre el contenido de antocianos y la apreciación visual del porcentage unitario de la superficie del fruto con presencia de color, en una escala de 0 a 10. Los valores de R² para 1994, oscilaron entre 0,51 ('Oregón Spur') y 0,76 ('Hy Early'), y se obtuvieron con regresiones simples que respondían a ajustes del tipo potencial y exponencial. En otras experiencias con variedades 'Red Delicious', se han relacionado los valores de colorimetría con la apreciación visual o el atractivo del color de los frutos, estableciendo para ello una escala hedónica de 0 (color no atractivo) a 10 (color muy atractivo), obteniéndose valores de R² de entre 0,55 y 0,73 (Singha et al., 1991a,b).

# 8.- PARÁMETROS DE CALIDAD DEL FRUTO

En los apartados anteriores se han analizado detalladamente las diferencias varietales en la coloración de los frutos, en base a los valores de cromaticidad y al contenido de antocianos. Sin embargo, otros parámetros de calidad como son: la firmeza, el contenido de sólidos solubles, la acidez, la relación sólidos solubles/acidez y el calibre del fruto, son determinantes para la valoración final de los frutos, y presentan habitualmente diferencias entre variedades. En el momento de la recolección de los años 1992, 1993 y 1994, se determinaron los diferentes parámetros de calidad de los frutos; los valores medios obtenidos se exponen en el *Cuadro 62* (tabla 2-14).

Variedad	Peso 1	Calibre 1	Firmeza <sup>2</sup>	S. solubles <sup>3</sup>	Acidez 3	S.solubles/
				3		
	(g/fruto)	(mm)	(kg)	(°Brix)	(g/l)	acidez 3
Red	237,2 ab	85,3a	7,1 ab	12,6 ab	3,9a	3,2 b
Miracle						
E.Red One	239,4 ab	78,2 be	7,3a	11,8 b	3,3 b	3,6a
Red Chief	232,5 ab	80,1 be	7,3a	11,6 b	3,3 b	3,6a
Elite	244,6 ab	85,6a	7,2a	12,2 ab	3,4 b	3,6a
Oregón	208,8 b	77,6 e	6,9 b	12,1 ab	3,1 b	3,7a
Spur						
Sharpred	206,1 b	76,9 e	7,2a	13,2a	3,6 ab	3,6a
Hy Early	275,1 a	88,la	7,0 b	12,8 ab	4,2a	3,0 b
Topred	257,7a	84,3 ab	6,9 b	12,4 ab	3,7a	3,3 a

**Cuadro 62:** Peso del fruto, calibre, firmeza de la pulpa, acidez titulable y relación entre el contenido de sólidos solubles y la acidez, en el momento de la recolección de 8 variedades '*Red Delicious*'. Los valores corresponden a la media de los años 1992, 1993 y 1994. Variedades con la misma letra no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ ).

- (1) Cada valor corresponde a la media de 70 determinaciones.
- (2) Ca da valor corresponde a la media de 140 determinaciones.
- (3) Cada valor corresponde a la media de 5 determinaciones.

Considerando el peso medio del fruto, se dieron diferencias entre variedades, siendo 'Hy Early' y 'Topred Delicious', superiores a'Oregón Spur' y 'Sharpred', no existiendo diferencias entre las restantes. Con el calibre se han obtenido resultados similares a los expuestos anteriormente para el peso, existiendo diferencias entre: 'Hy Early', 'Topred Delicious', 'Elite' y 'Red Miracle', con respecto a 'Oregón Spur' y 'Sharpred'. En todos los casos, el calibre medio fué superior a 75 mm, y por tanto adecuado desde el punto de vista comercial.

En experiencias realizadas con 25 variedades, entre las cuales se encontraban 'Early Red One', 'Topred Delicious' y 'Sharpred', no existieron diferencias ni en el peso ni en el calibre de los frutos (Ketchie, 1988). Sin embargo, en trabajos realizados por Baugher et al. (1990a) y por Fallahi et al. (1994), el calibre de 'Oregón Spur' fué superior a los de 'Topred Delicious', 'Red Chief' y 'Sharpred'. Referencias procedentes de Francia (Le lezec et al., 1983), no indican diferencias de calibre entre las variedades 'Topred Delicious' y 'Early Red One', y tampoco entre éstas y 'Red Chief', 'Sharpred' y 'Oregón Spur'. Dichos resultados son parcialmente coincidentes a los obtenidos en la presente experiencia.

La mayor firmeza de la pulpa correspondió a las variedades: 'Sharpred', 'Elite', 'Red Chief' y 'Early Red One', cuyos valores fueron superiores a los obtenidos para: 'Oregón Spur', 'Hy Early' y 'Topred Delicious', no existiendo diferencias entre variedades en función de su hábito de vegetación.

Resultados análogos han sido expuestos por Le Lezec et al. (1983) y Fallahi et al. (1994), lo que indica que es difícil (en base a los valores de firmeza, sólidos solubles y acidez), establecer diferencias entre variedades *estándar* y *spur* con respecto a la época de maduración.

El contenido de sólidos solubles es un parámetro de especial importancia en variedades 'Red Delicious', indicando valores superiores una mejor calidad gustativa. Se dieron diferencias entre variedades, siendo el contenido de 'Sharpred' superior a los de 'Early Red One' y 'Red Chief', no existiendo diferencias entre el resto de variedades. Diversos autores han atribuido al hábito de crecimiento estándar, un mayor contenido de solidos solubles y

una mayor calidad con respecto a las variedades *spur* (Le Lezec et al., 1983; Baugher et al., 1990a), mientras que en otras experiencias no ha sido así (Fallahi, 1994). En los resultados expuestos no se han detectado diferencias entre tipos *estándar* y *spur*. La mayor acidez titulable se asocia generalmente con una mejor calidad gustativa, y se obtuvo con las variedades '*Topred Delicious'*, 'Hy Early' y 'Red Miracle', no existiendo diferencias entre el resto de variedades; mientras que para la relación sólidos solubles/acidez, los menores valores correspondieron a 'Hy Early' y 'Red Miracle'.

Los resultados expuestos, indican diferencias entre variedades para todos los parámetros, aunque, en general, no han ido asociados al hábito de vegetación de las mismas. Dichas diferencias dependen además de la variedad, de otros factores como: la edad de los árboles, la producción, la localidad, el año, el sistema de riego, y seguramente del estado fisiológico del fruto en el momento de la recolección (Crassweller et al., 1989; Williams et al., 1989; Baugher et al., 1990a; Williams, 1993).

Tanto el peso medio del fruto como los calibres obtenidos, pueden considerarse adecuados para variedades 'Red Delicious' en condiciones normales de cultivo. Los valores de firmeza se encuentran en el intérvalo 7-7,5 considerado como óptimo (Urbina, 1990), los menores correspondieron a 1994, debido probablemente a las elevadas temperaturas que se dieron en el período previo a la recolección. El contenido de sólidos solubles es superior a 11º Brix (Urbina, 1990), encontrándose mayoritariamente dentro del rango óptimo de 12-14º Brix (Herrero, et al., 1992). La acidez fué para todas las variedades superior a 3g/l, considerándose por tanto adecuada (Duran, 1983; Delhom, 1986).

Además del calibre medio de los frutos, es de interés conocer la distribución porcentual en los diferentes intérvalos y por tanto su homogeneidad, siendo de interés que estén concentrado en pocos intérvalos y que seán del máximo valor comercial (*Figura 2-19*). En todas las variedades, los mayores porcentages correspondieron a calibres superiores a 80 mm, siendo estos los más interesantes para obtener las mejores cotizaciones. El calibre más homogeneo, correspondió a 'Red Miracle', 'Elite', 'Hy Early' y 'Sharpred', mientras que el menos homogeneo se obtuvo con 'Oregón Spur', siendo ésta la única variedad con calibres inferiores a 70 mm (4%). Para 'Topred Delicious', 'Red Chief' y 'Early Red One' se obtuvieron resultados intermedios.

# Figura 2-19

Teniendo en cuenta el conjunto de parámetros de calidad del fruto, puede concluirse que es difícil establecer diferencias entre variedades, dado que los mejores valores no correspondieron para todos los parámetros a la mismas. Tampoco existieron diferencias consistentes en función de su pertenencia a grupos *estándar* o *spur*.

Sin embargo, los valores obtenidos pueden considerarse adecuados para proporcionar una adecuada calidad gustativa y un buen calibre desde el punto de vista comercial. Trabajos realizados por otros autores (Crassweller et al., 1989), ponen de manifiesto que en variedades 'Red Delicious' es dificil por el consumidor establecer diferencias de calidad gustativa, y más aún cuando no tiene la ocasión de compararlas entre ellas. Es por ello, que el color sigue siendo el principal criterio a considerar para su adecuada comercialización, y por tanto su mejora, seguirá siendo en el futuro el aspecto más importante en la selección de nuevas variedades.

El análisis de los resultados obtenidos durante los años 1992, 1993 y 1994, ha permitido evaluar la influencia del factor año en los parámetros de calidad de las 8 variedades (*Cuadro 63*, *ver tabla 2-15*). Tanto el peso como el calibre no mostraron diferencias entre los tres años. La mayor firmeza correspondió a 1992 y la menor a 1994, siendo este el año en que se dieron las temperaturas más elevadas; resultados similares se han obtenido en las

experiencias de riego refrescante. El mayor contenido de sólidos solubles correspondió a 1994, no existiendo diferencias entre 1992 y 1993; obteniéndose la mayor acidez en 1993 y el mayor ratio sólidos solubles/acidez en 1992 y 1994. La interacción *variedad x año* fué altamente significativa para todos los parámetros.

Año	Peso fruto	Calibre	firmeza	S. solubles	Acidez	S. solubles/
	(gr)	(mm)	(kg)	(°Brix)	(g/l)	acidez
1992	239,1 a	83,4a	7,5a	12,0 b	3,1 b	3,9a
1993	232,9a	82,8a	7,1 b	12,3 b	4,la	3,1 b
1994	246,1 a	81,7a	6,7 c	13,1 a	3,5 b	3,7a
Media	237,8	82,6	7,1	12,5	3,6	3,6

*Cuadro 63:* Peso del fruto, calibre, firmeza de la pulpa, contenido de sólidos solubles, acidez titulable y relación contenido de sólidos solubles/acidez, en los años 1992, 1993 y 1994, para 8 variedades mk '*Red Delicious*'. Años con la misma letra en las columnas no son estadísticamente diferentes ( $\alpha = 0.05$ )

# 9.- VIGOR Y PRODUCTIVIDAD

Las diferencias de vigor y productividad entre las variedades 'Red Delicious', se ven influenciadas por su pertenencia al grupo estándar o spur, aunque algunas variedades como 'Early Red One' poseen características intermedias a ambos grupos a pesar de tratarse de una variedad estándar; así mismo 'Red Miracle', considerada como estándar, presenta con relativa frecuencia reversiones a tipos spur, debido a su poca estabilidad. Numerosas referencias aportan información acerca del vigor y productividad de las principales variedades del grupo 'Red Delicious' (Decourtye et al., 1970; Westwoood et al., 1970; Lord et al., 1979; 1980; Le Lezec et al., 1983; Crassweller et al., 1985;1989;1991; Dennis, 1987; Fisher et al., 1989; Iglesias, 1989; Baugher et al., 1990a; Ketchie et al., 1988; Fallahi et al., 1994).

El tamaño del árbol y su vigor están altamente relacionados con el perímetro del tronco (Westwood et al., 1970), por lo que se determinó para las diferentes variedades, la sección y el perímetro del tronco a 20 cm del punto de injerto. En la experiencia, cada variedad se injertó con el patrón que se consideró adecuado para su hábito de vegetación, por lo que los patrones fueron diferentes (*Figura 2-20*), lo que pudo ocasionar que no se apreciaran diferencias de vigor en función de su pertenencia a tipos *estandar* o *spur*.

Entre las variedades introducidas en 1984 (señaladas con \*\* en la Figura 2-20), el mayor perímetro del tronco (mayor vigor) correspondió a 'Early Red One', seguida por: 'Sharpred', 'Oregón Spur', y 'Topred Delicious', sin diferencias entre las mismas. 'Red Chief' fué la variedad de menor vigor. De las variedades introducidas en 1986, 'Hy Early' fué la de mayor sección, y 'Elite' la de menor. 'Red Miracle' se introdujo posteriormente (1989), por lo que a pesar de encontrarse en plena producción, no se incluyó en el estudio; su vigor fué similar al de 'Early Red One'.

Las producciones acumuladas (kg/árbol) durante el período 1992-1994, se han representado en la *Figura 2-20*, dándose diferencias entre variedades. Los coeficientes de variación indican que no hubo diferencias entre variedades en las producciones de los años 1992, 1993 y 1994. La mayor producción correspondió a *'Early Red One'*, seguida en orden decreciente por *'Sharpred'* y *'Oregón Spur'*; a continuación se situaron *'Elite'* y *'Topred Delicious'*, no existiendo tampoco diferencias entre *'Topred Delicious'* y *'Hy Early'*. La menor producción correspondió *'Red Chief'*, debido a que el patrón *'MM-106'* proporcionó un vigor

insuficiente.

Cabe recordar que 'Red Chief' es una de las variedades spur de menor vigor, como lo demuestra la sección del tronco que fué de 44,1 cm², mientras que para 'Oregón Spur' fué de 63,8 cm² (un 44% superior), siendo ambas spur y encontrándose injertadas sobre el mismo patrón ('MM-106'). Para 'Red Miracle', las producciones obtenidas hasta su 6° verde (año 1994), fueron similares a las de 'Sharpred' (datos no expuestos).

#### Figura 2-20

Una característica importante es la productividad de las variedades; la cual se evalua en base al Indice de Productividad (IP) o eficiencia productiva, calculado como el cociente entre la producción acumulada desde la plantación hasta el año 1994, y el perímetro del tronco al finalizar dicho año. Cuanto mayor sea el valor de dicho indice, mejor será la eficiencia productiva de la variedad (Masseron et al., 1989).

Los resultados obtenidos de producción acumulada y de vigor de cada variedad (hasta el año 1994) se exponen en la *Figura 2-21*, donde cada variedad se representa como un punto resultante de la intersección de ambas variables. La pendiente de la recta que une cada variedad con el origen de coordenadas, es una medida de la productividad; por lo que mayores pendientes indican un mejor Indice de Productividad y una mayor eficiencia productiva (Le Lezec et al., 1993).

# Figura 2-21

Complementariamente se determinó, al finalizar el período vegatativo de cada año, la densidad de yemas por metro lineal de ramo. Las variedades *spur*: 'Red Chief', 'Elite' y 'Oregón Spur' proporcionaron densidades (valores medios de los tres años) de: 38, 36 y 33, respectivamente. Para las variedades: 'Topred Delicious', 'Sharpred', 'Hy Early', 'Red Miracle' y 'Early Red One' se obtuvieron densidades de 15, 17, 20, 23 y 25, respectivamente. Los datos expuestos, indican una clara diferencia entre las variedades en función de su pertenencia a los tipos estándar o spur. En la variedad 'Red Chief', el número de yemas por metro lineal fué más del doble (38) que en 'Topred Delicious' (15), resultados que son similares a los obtenidos por Baugher et al. (1990a).

Esta característica está directamente relacionada con el vigor de la variedad, correspondiendo el menor vigor a las variedades con mayor densidad de yemas (Baugher et al., 1990a; Warrington et al., 1990), que en este caso fué 'Red Chief', a la que correspondió también la menor sección del tronco. Es de destacar también, que el número de yemas por metro lineal de madera de 'Early Red One', fué casi el doble que 'Topred Delicious', lo que indica que a pesar de tratarse de una variedad del grupo estándar, su hábito de crecimiento es próximo a los tipos spur. Ello podriá explicar su buen comportamiento productivo.

Ketchie (1988) no obtuvo diferencias en la producción acumulada de las variedades: 'Topred Delicious', 'Sharpred', 'Hy Early', 'Early Red One', con patrón 'M-7', y 'Red Chief' con 'MM-111'; mientras que para esta última variedad el patrón 'M-7' confirió una menor producción. La mayor eficiencia productiva correspondió a 'Red Chief', seguida por 'Topred Delicious', y la menor indistintamente a: 'Early Red One', 'Hy Early' y 'Sharpred'. En experiencias con variedades 'Red Delicious' utilizando el patrón 'M-7', Fallahi et al. (1994), obtuvieron la mayor producción acumulada con las variedades 'Early Red One' y 'Sharpred', siendo intermedias las de 'Topred Delicious' y 'Hy Early'. La mejor eficiencia productiva correspondió a 'Early Red One', no existiendo diferencias entre 'Sharpred', 'Hy Early' y 'Topred Delicious'. En dichos resultados, 'Early Red One' fué una de las variedades con mejor color y productividad, lo que coincide con los obtenidos en la presente experiencia y con otras referencias (Le Lezec et al., 1983; Iglesias, 1989).

Las referencias sobre variedades 'Red Delicious' son numerosas, pero el

comportamiento de las variedades no siempre son coincidentes, debido a las importantes diferencias de vigor entre variedades en función de su pertenencia al hábito de vegetación estándar o spur, lo que implica la elección de patrones diferentes. Al igual que en el presente trabajo 'Early Red One' es la que ha aportado en general la mayor producción y productividad, siempre y cuando el patrón elegido haya sido el apropiado, dado que se trata de una variedad estándar pero de comportamiento próximo a los tipos spur, por lo que requiere patrones de vigor medio, como el 'MM-106' o el 'M-7', para no penalizar las producciones (Le Lezec et al., 1983; Iglesias, 1989; Masseron, 1986; Warrington et al., 1990; Trillot et al., 1993; Fallahi et al., 1994). Con la variedad 'Red Chief' las producciones y la productividad obtenidas en el presente trabajo han sido inferiores a otras variedades, debido al insuficiente vigor del patrón 'MM-106'. En experiencias donde se utilizó el 'MM-111' y el 'MM-106' (Ketchie, 1988) se obtuvo la mejor producción y productividad con el 'MM-111', debido al caracter marcadamente spur de esta variedad, por lo que requiere patrones Análogas consideraciones pueden realizarse con la variedad Contrariamente el vigor de 'Oregón Spur' fué superior y con el patrón 'MM-106' se obtuvieron buenas producciones.

Finalmente señalar que el vigor de las variedades de tipo *estándar*: *'Topred Delicious'*, *'Sharpred'* y *'Hy Early'* es elevado y similar al de *'Starking Delicious'* (Ketchie, 1988; Fallahi et al., 1994); por lo que la utilización de patrones débiles (tipo *'M-9'*) mejora considerablemente su productividad, en comparación con los de vigor medio o elevado (Fisher et al., 1970;1981;1989; Lord, 1979;1980; Brueggen et al., 1988; Ketchie, 1988; Baugher et al., 1990a; Warrington et al., 1990).

# 10.- CONCLUSIONES

En base a los resultados expuestos de las experiencias realizadas con 8 variedades 'Red Delicious', durante los años 1992, 1993 y 1994, se exponen las siguientes conclusiones:

- ⇒Teniendo en cuenta los parámetros colorimétricos L\*, a\*/b\* y Tono, 'Red Miracle' fué la variedad que en la recolección proporcionó el mayor color de los frutos, seguida por 'Early Red One' y 'Red Chief'. Para L\* y a\*/b\* no hubo diferencias entre éstas dos últimas y 'Oregón Spur', obteniendose con 'Elite' y 'Sharpred' valores intermedios. El menor color correspondió a 'Topred Delicious' y a 'Hy Early'.
- ⇒El mayor contenido de antocianos correspondió a 'Red Miracle' y los menores a 'Topred Delicious' y a 'Hy Early', indistintamente. Para el resto de variedades se obtuvieron conclusiones similares a los expuestos para los parámetros colorimétricos. 'Red Miracle' destacó del resto de variedades por su elevada coloración roja.
- ⇒En las fechas previas a la recolección, las diferencias entre variedades fueron análogas a las expuestas para los valores de cromaticidad y contenido de antocianos, lo que indica que las variedades con mayor color en la recolección lo adquirieron más precozmente.
- ⇒Existieron diferencias en la distribución del color en el fruto, siendo 'Topred Delicious', 'Hy Early' de color estriado, 'Sharpred', 'Elite', 'Oregón Spur' y 'Red Chief' con estrías menos aparentes y 'Early Red One' y 'Red Miracle' de color uniforme. Las diferencias fueron más evidentes en las fechas previas a la recolección y en la cara menos coloreada. Las diferencias de color entre las dos caras del fruto fueron mayores cuanto menor era la coloración de las variedades.
  - ⇒El factor año influyó significativamente en la coloración, correspondiendo el mayor

color - en base a los parámetros colorimétricos y al contenido de antocianos - al año 1993, en que se dieron las temperaturas mínimas más bajas en el período previó a la recolección.

- ⇒La acumulación de antocianos y la evolución de los valores colorimétricos, fueron más importantes en los 15 días previos a la recolección.
- $\Rightarrow$  La interaciónes *año x variedad* y *fecha x variedad* fueron significativas para los parámetros colorímetricos y para el contenido de antocianos.
- ⇒En la recolección, los valores de colorimetría han proporcionado una buena predicción de los contenidos de antocianos de la piel de la manzana, permitiendo cuantificar diferencias de color en el tiempo y entre variedades.
- ⇒El mayor peso y calibre de los frutos correspondió a 'Hy Early', 'Topred Delicious', 'Elite', 'Red Miracle', y 'Sharpred'; mientras que el calibre más homogeneo se obtuvo con la variedades 'Red Miracle', 'Hy Early', 'Elite' y 'Sharpred'.
- ⇒El mayor contenido de sólidos solubles se obtuvo con la variedad 'Sharpred' y los menores con 'Red Chief' y 'Early Red One'; mientras que la mayor acidez titulable correspondió a 'Hy Early', 'Topred Delicious' y 'Red Miracle' y la menor a 'Oregón Spur', 'Elite', 'Early Red One' y 'Red Chief'.
- ⇒La mayor producción acumulada y la mejor productividad correspondieron a la variedad 'Early Red One' seguida por 'Sharpred', mientras que las menores fueron para 'Hy Early' y 'Elite'. No existieron diferencias de color ni de productividad entre variedades, por la pertenencia al hábito de vegetación estándar o spur.

# **CONCLUSIONES GENERALES**



En base a las experiencias realizadas durante los años 1992, 1993 y 1994, sobre la influencia del riego por aspersión y del material vegetal en la coloración de los frutos, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- ⇒Todas las alternativas de riego refrescante evaluadas, modificaron las condiciones ambientales de la plantación, disminuyendo la temperatura de los frutos e incrementando la humedad relativa ambiental.
- ⇒En general, fué el riego aplicado al anochecer, el que proporcionó mayores contenidos de antocianos, una mejor coloración de los frutos, y un anticipo de la misma. Con el riego aplicado al amanecer en la variedad *'Topred Delicious'*, año 1994, se obtuvieron resultados similares a los del riego al anochecer.
- ⇒La respuesta al riego refrescante fué mayor en años con condiciones climáticas más dificiles a la coloración como 1994, y en variedades de menor color como 'Starking Delicious', 'Topred Delicious' o 'Mondial Gala', en comparación con 'Early Red One'; por lo que los factores año y variedad influyeron significativamente en la coloración de los frutos.
- ⇒Condiciones climáticas favorables a la coloración, como las de 1993, enmascararon parcialmente el efecto del riego refrescante, especialmente en la variedad 'Early Red One' de elevada coloración; y disminuyeron las diferencias de color entre las 8 variedades 'Red Delicious' evaluadas.
- ⇒La calidad de los frutos se mejoró por el riego refrescante aplicado al mediodía, en especial el calibre y la firmeza de los frutos. El riego aplicado al anochecer y al amanecer no ocasionaron variaciones consistentes en los parámetros de calidad del fruto. El efecto del riego en la mejora de la calidad se vió influenciada por el año y fué especialmente significativa en 1994, con temperaturas más elevadas.
- ⇒En general, se puede realizar una predicción aceptable de los contenidos de antocianos en base a los valores de los parámetros colorimétricos medidos instrumentalmente; dicha predicción es mejor en variedades de mayor coloración como 'Early Red One', 'Oregón Spur' y 'Topred Delicious', que en variedades de menor color y con estrías, como 'Starking Delicious' o 'Mondial Gala'.
- ⇒En variedades de menor coloración y en años más difíciles al color, las diferencias entre caras fueron mayores y la uniformidad del color en el fruto menor.
- ⇒En todas las experiencias, la acumulación de antocianos y la mayor evolución de los valores de cromaticidad, se produjo fundamentalmente durante los 20 días antes de la recolección.
- ⇒De las 8 variedades 'Red Delicious' evaluadas la mayor coloración y la más precoz correspondió a 'Red Miracle', seguida por 'Early Red One' y 'Red Chief', y la menor a 'Topred Delicious', 'Hy Early' y 'Sharpred'; obteniéndose para 'Oregón Spur' y 'Elite' resultados intermedios.
- ⇒Variedades con mayor coloración en la recolección, también lo adquirieron en estadios más precoces de desarrollo del fruto, observándose ya en dichos estadios diferencias entre variedades por el tipo de color, que fué uniforme en 'Early Red One' y 'Red Miracle', y con estrías más o menos evidentes en el resto de variedades. No se observaron diferencias en el color ni en la productividad, por la pertenencia de las variedades al hábito de vegetación estándar o spur.

# BIBLIOGRAFÍA



ACUFF, G., 1993. Storing 'Gala' and 'Fuji'. American Fruit Grower, june: 6-7.

AGUSTÍ, M.; ANDREU. I.; JUAN, M.; MEDINA, F.; ALMELA. V., 1995. Mejora de la calidad de los frutos de hueso mediante la aplicación del fenotiol. VI Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas. Barcelona; pág.8.

ALSTON, R.E., 1959. Phisiology and the inheritance of anthocyanin pattern. *Genetica*, 30: 261-277.

ANDREWS, 1995. Evaporative cooling of 'Fuji' apples. American Fruit Grower, july: 32-34.

AMRHEIN, N.; ZENK, M.H., 1971. Untersechungen zur Rolle der Phenylalanin Ammonium-Lyase (PAL) bei der regulation der Flavonoidsynthese in Buchweizen (*Fagopyrum esculentum* Moench.). Z. Pflanzenphysiol., 64: 145-168.

ARAKAWA, O.; HORI, Y.; OGATA, R., 1986. Characteristics of color development and relationship between anthocyanin synthesis and phenylalanina ammonia-lyasa activity in 'Starking Delicious', 'Fuji' and 'Mutsu' apple fruits. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci., 54: 424-430.

ARAKAWA, O., 1988a. Photorregulation of anthocyanin synthesis in fruit under UV-B and red light. *Plant Cell Physiol.*, 29: 1385-1389.

ARAKAWA, O., 1988b. Characteristics of color development in some apple cultivars: changes in anthocianin synthesis during maturation as afected by bagging and light quality. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 57: 373.

ARTHUR, J.M., 1932. Red pigment production in apples by means of artificial light sources. Contrib. Boyce Thompson Inst., 4: 1-18.

ARTIGAS, J.M.; GIL, J.C.; FELIPE, A., 1985. El espacio uniforme del color CIELAB. Utilización. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.*, 25:316-320.

ASEN, S.; NORRIS, K.H.; STEWART, R.N., 1971. Effect of pH and concentration of the anthocyanin-flavonol co-pigment complex on the color of 'Better Times' roses. J. Am. Soc. Hort. Sci., 96: 770-773.

ASEN, S.; STEWART, R.N.; NORRIS, K.H., 1972. Copigmentation of anthocyanins in plant tissues and its effects on color, *Phytochemistry*, 11: 1139.

AUBERT, S., 1983. Processus d'analyse de la coleur des fruits. INRA, Stage de formation Invuflec.

AUBERT, S., 1990. Intérêt des mesures de couleur dans l'amelioration de la qualite des fruits. Application au brunissement des pommes. 9° Colloque sur les recherches fruitières. Avignon 4-6 décembre, pág. 239-248.

AUTIO, W.R.; HAYDEN, R.A.; MICKE, W.C.; BROWN, G.R., 1996. Rootstock affects ripening, color, and shape of 'Starkspur Supreme Delicious' apples in the 1984 NC-140 Cooperative planting. Fruit Varieties Journal, 50(1):45-53.

AVERY, D.J., 1970. Effects of fruiting on the growth of apples trees on four rootstock varieties. *New Phytol.*, 69:19-30.

AZCON-BIETO, J.; TALON, M., 1993. Fisiología y bioquímica vegetal. En: "Compuestos fenólicos". Ed. McGraw-Hill; pág.471-473.

BAKKEN, T.J.; BOE, A.A., 1982. Effects of daminocide en endogenous levels of gibberellins in apple seedlings. *HortScience*, 12: 17-25.

BASTIN, M., 1967. Auxin and giberellin interactions in morphogenesis. *Planta*, 73: 243-249.

BARBEE, L., 1971. Overtree sprinkling systems do more than irrigate orchards. *Good Fruit Grower*, 21:17.

BARDEN, J.A.; MARINI, R.P., 1984. Summer and dormant prunning of apple: a four

year summary. Acta Horticulturae, 146: 263-268.

BARRIT, B.H.; KONISHI, B.N.; DILLEY, M.A., 1993. Dwarfing. *Good Fruit Grower*,1:22-46.

BARRIT, B.H.; DILLEY, M.A.; KONISHI, A.S., 1994. Influence of rootstock on 'Delicious' apples fruit shape. Fruit Varieties Journal, 48: 126-130.

BARTRAM, R.; FISHER, D.V.; KETCHIE, D.O., 1979. Survey of literature on red strains od 'Delicious'. Was. St. Univ. College Agr. Res. Centr. Bull. 0898; pág.17.

BASTIN, M., 1967. Auxin and Gibberellin interactions in morphogenesis. *Planta*, 73: 243-249.

BAUGHER, T.A.; SINGHA, S.; TOWNSEND, E,C.; INGLE, M., 1990a. Growth, yield and fruit quality of '*Delicious*' apple strains. Bulletin 702, West Virginia Agricultural and Forestry Experiment Station. West Virginia University; pág.14.

BAUGHER, T.A.; HOGMIRE, H.W.; LIGHTNER, T., 1990b. Determining apple packout losses and impact of profitability. *Applied Agric. Res.* 5: 23.

BAUGHER, T.A.; TOWNSEND, E,C.; SINGHA, S.; LEACH, D.W.; WALTER, S.P, 1995. Relatonship between chromaticity Measurements and visual ratings of peach cultivars. *Fruit Varieties Journal*, 49: 42-46.

BEATTIE, J.M., 1954. The effect of differential nitrogen fertilization on some of the physical and chemical factors affecting the quality of 'Baldwin' apples. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci., 63: 1-9.

BELL, E.A.; CHARLWOOD, B.V., 1980. Secondary plant products. Ed. Springer-Verlag; pág. 47.

BERUTER, J., 1984. Über die Zuckeranhäufung in wachsenden Äpfeln. Schweiz. Z. Obst. Weinbau, 120: 372-379.

BIBLE,

B.B.; CUTHBERT, R.L.; CAROLUS, R.L., 1968. Responses of some vegetables crops to atmospheric modification under field conditions. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 92:590-594.

BISHOP, R.C.; KLEIN, R.M., 1975. Photo promotion of anthocyanin sinthesis in harvested apples. *HortScience*, 10: 126-127.

BLANCHET, P., 1992. Maturité et conservation de 'Fuji'. Fruits et Légumes, 111: 29-30.

BLANCHET, P.; RAMAT, T., 1995. Comportement de la pomme 'Fuji': I. Coloration et russeting. L'arboriculture Fruitière, 483: 21-26.

BLANKENSHIP, S.M., 1987. Night-temperature effects on rate of apple fruit maturation and fruit quality. *Scientia Hortic.*, 33: 205-212.

BLANKENSHIP, S.M.; UNRATH, C.R., 1988. PAL and ethylene content during maturation of 'Red Delicious' and 'Golden Delicious' apples. Phytochemistry, 27: 1001-1003.

BLANPIED, G.D.; FORSHEY, C.G.; STYLES, W.C.; GREEN, D.W.; LORD, W.J.; BRAMLAGE, W.J., 1975. Use of ethefon to stimulate red color without hastening ripening of 'McIntosh' apples. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 100: 379-381.

BLIZZARD, S.H.; SINGHA, S.; BAUGHER, T.A.; CAYTON, B.D., 1988. Yield and fruit quality of apple trees under three high density management systems. *Fruit Varieties Journal*, 42:67-72.

BOLETÍN INFORMATIVO AGROPECUARIO. Mercolleida, mercado en origen, núms. 1309 al 1467, campañas 1992-93, 1993-94 y 1994-95.

BÖMEKE, H., 1959a. Über die Anthozyanbildung, insbesondere bei Äpfeln. Mitt. OVR Jork, 14: 137-139.

BRAUN, A., 1976. L'heredite des anthocyanes florales. Annee Biologique, 15: 294-

BROUILLARD, R.; MAZZA, G.; SAAD, G.; ALBRECHT-GARY, A.M.; CHEMINAR, A., 1989. The copigmentation reaction of anthocyanins: a microprobe for the structural study of aqueous solutions. *J. Am. Chem. Soc.*, III: 2604.

BROWN, A.G., 1975. Breeding for specific characters, 1, 3-57pp. *In*: J.Janick, J.N. Moore: "Advances in fruit breeding". Purdue University Press; pág. 3-57.

BRU, M., 1995. Vent du sud sur la pomme. Fruits et Legumes, 136: 27-31.

BRUEGGEN, J.J.; BOTKIN, C.; LEWIS, R.; MACE, C.; WILCOX, A., 1988. West Virginia fruit tree survey. West Virginia and U.S.Depts. of Agriculture; pág.34.

BURDA, S.; OLESZEK, W.; LEE, C.Y., 1990. Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *J. Agric. Food Chem.*, 38: 945.

BUSCAROLI, C., 1995. Evoluzione e problematiche della certificacione geneticosanitaria in Emilia-Romagna. *Rivista de Frutticoltura*, 9: 41-48.

CALDWELL, M.M., 1981. Plant response to solar ultraviolet radiation, 4. In: A. Pirson and M-H. Zimmermann (Editors): "Encyclopedia of Plant physilogy", New series Vol. 12A. Springer, Berlin; pág.169-197.

CASTRO, H.R.; RODRIGUEZ, R.; BARRÍA, J.; BENITEZ, C.E.; FRANCILE, S., 1984a. Efectos del Alar sobre la calidad de la producción de manzanos *'Red Delicious Spur'*. Estac. Exp. Reg. Agropecu. Alto Valle; pág.34-46.

CASTRO, H.R.; RODRIGUEZ, R.; BARRÍA, J.; BENITEZ, C.E.; FRANCILE, S., 1984b. Efecto de algunos reguladores de crecimiento sobre la coloración y la conservación frigorífica de los frutos de manzanos cv. *'Red Delicious'*. Estac. Exp. Reg. Agropecu. Alto Valle; pág.37-39.

CHALMERS, D.J.; FARAGHER, J.D.; RAFF J.W., 1973. Changes in anthocyanin synthesis as an index of maturity in red apple varieties. *J. Hortic. Sci.*, 48: 387-392.

CHALMERS, D.J.; FARAGHER, D.J., 1977a. Regulation of anthocyanin synthesis in apple skin I. Comparison of the effects of cycloheximide, ultraviolet light, wounding and maturity. *Aust. J. Plant. Physiol.*, 4: 111-121.

CHALMERS, D.J.; FARAGHER, D.J., 1977b. Regulation of anthocyanin synthesis in apple skin II. Involvement of ethylene. *Aust. J. Plant. Physiol.*, 4: 123-131.

CHEFTEL, J.C.; CHEFTEL, H., 1982. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza; pág.32-46.

CHEN, LJ.; HARZDINA, G., 1981. Structural aspects of anthocyanin-flavonoid complex formation and its role in plant color. *Phytochemistry*, 20: 297.

CHENG, G.W.; BREEN, P., 1991. Activity of phenylalanina ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing in developing strawberry fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*,116(5): 865-869.

CHIRIAC, S.; STAN. S.; TERDIC, M.; SMARANDACHE, V., 1983. Effect of SADH (Alar) treatment on apple quality. Lucrarile Steinttice ale Institutu de Cercetore si Productie pentru. Pomicultura Pitesti, 10: 273-277.

CLERINX, P., 1983. Effect du climat sur la coloration rouge des pommes. *Le Fruit Belge*, 404: 319-321.

CLERINX, P., 1987. Evaluation de l'aptitude du sol à la culture de la variété 'Jonagold'. Rev. Agric, 40: 25-33.

CLYDESDALE, F.M., 1978. Colorimetry, methodology and applications. *CRC Critical Rev. In Food Sci. & Nutr.* 10: 243-301.

CRASSWELLER, R.M.; WALKER, J.; SHEWFELT, R.L., 1985. Color evaluation of seventeen strains of 'Delicious'. Fruit Varieties Journal, 39: 21-24.

CRASSWELLER, R.M.; HOLLENDAR, R.A., 1989. Consumer evaluations of 'Delicious' apple strains. Fruit Varieties Journal, 43: 139-142.

CRASSWELLER, R.M.; BRAUN, H.L.; BAUGHER, T.A.; GREENE, G.N.; HOLLENDAR, R.A., 1991. Color evaluations of 'Delicious' strains. Fruit Varieties Journal, 45: 114-120.

CREASY, L.L., 1966. The effect of temperature on anthocyanin synthesis in 'McIntosh'apple skin. Proc. N. Y. State Hortic. Soc., 111: 93-96.

CREASY, L.L., 1968. The role of low temperature in anthocyanin synthesis in 'McIntosh' apples. Proc. N. Y. State Hortic. Soc., 93: 716-724.

CREASY, L.L.; ZUCKER, M., 1974. Phenylalanina ammonia-lyase and phenolic metabolism. *Rec. Ad. Phytochem.*, 8: 1-19.

DECOURTYE, L.; LANTIN, B., 1970. Considérations méthodologiques sur l'isolement de mutants provoqués chez le pommier et le poirier. *Ann. Amélior. Plantes*, 21(1), 29:44.

DARP, 1987. Inventari agronomic de fruiters, any 1985. Ambit territorial de Lleida. Servei d'Agricultura; pág.14-38.

DARP, 1994. Avanç de l'inventari Frutícola de Catalunya, Demarcació de Lleida; pág.6-9.

DARP, 1995a. Inventari fructícola de Catalunya. Zona fructícola de Lleida; pág.8-12.

DARP, 1995b. Estadística i Conjuntura Agrària. Núms. 92-93; pág.90-97.

DAYTON, D.F., 1959. Red color distribution in apple skin. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 74:72.

DAYTON, D.F., 1969. Genetic heterogenity in the histogenic layers of apple. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 94(6): 592-595.

DELHOM, M.J., 1986. La calidad de la fruta: conceptos fundamentales. En: Curso de frigoconservación de manzanas y peras. Col.legi Oficial d'Enginyers Agrònoms de Catalunya; pág.291.

DENNIS, J.R., 1987. Productivity of 28 strains of 'Delicious' apple. Preliminary evaluations in Michigan. HortScience, 22:1045.

DERMEN, H., 1960. Nature of plant sports. *The American Horticultural Magazine*, 393 (3): 123-173.

DICKINSON, J.P.; WHITE, A.G., 1986. Red colour distribution in the skin of 'Gala' apple and some of its sports. New Zealand Journal of Agricultural Research, 29: 695-698.

DIENER, H.A., 1977. Die Anthocyan-und Flavonolgehalte in der Apfelschale bei Variation von Tag-und Nachttemperatur. Dissertation University of Hannover, 74.

DIENER, H.A.; NAUMANN, W.D., 1981. Der einfluß von Tag-und Nachttemperaturen auf die Anthocyansynthese in der Apfelschale. *Gartenbauwissenschaft*, 46: 125-132.

DILLEY, D.R., 1969. Hormonal control of fruit ripening. *Hortscience*, 4:111-114.

DILLEY, R.M.; SALVEIT, M., 1979. Measuring fruit ethylene concentration for proper harvest and storage decisions - 18 th. Ann. Report Michigan State Horticultural Society; pág.121-156.

DORDET, Y., 1990. La colorimetrie: practique et aplications. Ed. Eyrolles. Paris; pág.148.

DOWNS, R.J.; SIEGELMAN, H.W.; BUTLER, W.L.; HENDRICKS, S.B., 1965. Photoreceptive pigments for anthocyanin synthesis in apple skin. *Nature*, 205: 909-910.

DRAKE, S.R.; PROEBSTING E.L.; MAHAN, M.O.; THOMPSON, J.B, 1981. Influence of trickle and sprinkle irrigarion on 'Golden Delicious' apple quality. J. Am. Soc.

Hort. Sci., 106(3): 255-258.

DURAN, L., 1978. El color en tecnología de alimentos. Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment., 20: 1-12.

DURAN, S., 1983. Frigoconservación de la fruta. Ed. Aedos. Barcelona; pág.59-74.

EIJDEN VAN J.; VAN-EIJDEN, J., 1990. Training and pruning 'Elstar' in Netherlands. Le Fruit Belge, 58, 429: 25-32.

EUGSTER, C.H.; MÄRKI-FISHER, E., 1991. The chemistry of rose pigments. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 30: 654.

EVANS, R.G., 1993a. Part one: Designing and operating overtree evaporative cooling systems for apples. *Good Fruit Grower*, June: 23-27.

EVANS, R.G., 1993b. Part two: Assessing the mechanics of evaporative orchard cooling. *Good Fruit Grower*, July: 29-32.

FABY, R.; CLEVER. M., 1989. Förderung der Fruchtausfärbung von 'Jonagold' durch kulturtechnische Manahmen. Mitt. OVR Jork, 44: 169-184.

FALLAHI, E.; SIMONS, B.R.; FELLMAN, J.K.; LONGSTROTH, M.A.; COLT, W.M., 1994. Tree growth and productivity and postharvest fruit quality in various strains of 'Delicious' apple. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 119(3): 389-395.

FARAGUER, J.D.; CHALMERS, D.J., 1977a. Regulation of anthocyanin synthesis in apple skin during ripening: regulation by ethylene and phenylalanina ammonia-lyasa. *Scientia Hortic.*, 22: 89-96.

FARAGUER, J.D.; CHALMERS, D.J., 1977b. Regulation of anthocyanin synthesis in apple skin. III Involvement of phenylalanina ammonia-lyasa. *Australian Journal of Plant Physiology*, 4: 133-141.

FARAGHER, J.D., 1983. Temperature regulation of anthocyanin accumulation in apple skin. *J. Exp. Bot.*, 34: 1291-1298.

FARAGHER, J.D.; BROHIER, R.L., 1984. Anthocyanin accumulation in apple skin during ripening: regulation by ethylene and phenylalanine ammonia-lyasa. *Sciencia Hortic.*, 22: 89-96.

FAUST, M., 1965. Physiology of anthocyanin development in 'McIntosh' apple.I. Participation of pentose phosfate patway in anthocyanin development. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 87: 1-9.

FAUST, M.; SHEAR, C.D., 1969. Corking disorders of apples - a physiological and biochemical review. *Bot. Rev.*, 34: 441-469.

FELIPE, A.J., 1989. Patrones pertenecientes a la especie manzano:21. En: "Patrones para frutales de pepita y hueso". Ediciones Técnicas Europeas, S.A. Barcelona; pág.46-99.

FERREE, D.C.; SCHMID, J.C.; MORRISON, C.A., 1982. An evaluation over 16 years of 'Delicious' strains and other cultivars on several rootstocks and 'Hardy' interstems. Fruit Varieties Journal, 36: 37-45.

FERRÉ, G.; MASSOL, G.; LE FUR G.; VILLENEUVE, F., 1987. Couleur des pommes et maturité. Utilisation d'un colorimetre: perspectives. *Infos-Ctifl*, 30: 19-24.

FERRÉ, G; AUBERT, S., 1988. Pomme. Amelioration de la couleur de 'Starkrimson' par micro-aspersion. Essais Ctifl, 9: 508.

FERREE, D.C.; CARLSON, R.F., 1987. Apple rootstocks, 4. In: "Rootstocks for fruit crops". Ed. Jhon Wiley & Sons. New York; pág.107-138.

FISHER, D.V.; MEHERIUK, M.; AWALES, J.E., 1970. *Spur* and *Standard 'Delicious'* strains compared.. British Columbia Fruit Grower Assn. Quarterely Rpt., 14: 7-19.

FISHER., D.V.; MEHERIUK, M.; AWALES, J.E., 1980. *Spur* and *standard 'Delicious'* strains compared. Br. Columbia Fruit Growers Assoc. Quart. Rept. 14(4); pág.15-21.

FISHER, D.V.; KETCHIE, D.O., 1981. Survey of literature on red strains of 'Delicious'. Washington State Univ. Coop. Ext., Pullman. Bul. 0898; pág.17.

FISHER, D.V.; KETCHIE, D.O., 1989. Survey of literature on red strains of 'Delicious'. Washington State Univ. Coop. Ext., Pullman. Bul. EB 1515; pág.23-37.

FORKMANN, G., 1991. Flavonoids as flower pigments: the formation of the natural spectrum and its extension by genetic engineering. *Plant Breeding*, 106: 1-12.

FRANCIS, F.J., 1952. A method of measuring the skin color on apples. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 60: 223-226.

FRANCIS, F.J.; HARVEY, P.H.; BULSTRODE, P.C., 1955. Color and pigment changes in the flesh of 'Mcintosh' apples after removal from storage. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci., 65: 211.

FRANCIS, F.J.; CLYDESDALE, F.M., 1975. Food colorimetry: Theory and applications. AVI Publishing Co., Westport, CT; pág.32-87.

FRANCIS, F.J., 1980. Color quality evaluation of horticultural crops. *HortsScience*, 15: 58-59.

FRY, S.C., 1979. Phenolic components of the primary cell wall and their possible role in the hormonal regulation growth. *Planta*, 146: 343-351.

GIANFAGMA, T.J.; BERKOWITZ, G.A., 1986. Glucose catabolism and anthocyanin production in apple fruit. *Phytochem.*, 25: 607-609.

GILBERT, D.E.; MYER, J.L.; KESSLER, J.J.; LAVINE, P.D.; CARLSON, C.V., 1970. Evaporative cooling of vineyards. *Calif. Agr.* 24: 12-14.

GIVEN, N.K.; VENIS, M.A.; GRIERSON, D., 1988. Phenylalanine ammonia-lyase and anthocyanin synthesis in ripening strawberry fruits. *J. Plant Physiol.*, 133: 25-30.

GIWEN, W.; PATRICK, J., 1991. Activity of Phenilalanine ammonia-lyase and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *J.Amer.Soc.Hort.Sci.*, 116(5):865-869.

GOLDSTEIN, J.L.; SWAIN, T., 1963. Changes in tannins in ripening fruits. *Phytochem.*, 2: 371-383.

GODRIE, P.D., 1982. Kleur en smack van 'Jonagold'. Fruitteelt, 45: 1314-1316.

GODRIE, P.D., 1990. Resultats obtenus dans les recherches sur les variétés et mutants de pommier aux Pais-Bas. *Le Fruit Belge*, 431: 201-205.

GOODWIN, T.W., 1980. The biochemistry of the carotenoids. Vol.1, Plants. Ed. Chapman & Hall, 2<sup>a</sup> edición; pág.41-145.

GOTO, T.; KONDO, T., 1991. Structure and molecular staking of antocyanins - flower color variation. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 30; pág.17-76.

GORSKI, P.; CREASEY, C.L., 1977. Color development in 'Golden Delicious' apples. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 102:73.

GRAELL, J., 1991. Frigoconservación de manzanas tratadas con Daminozida en atmósfera controlada con reducción del etileno. Tesis Doctoral. Universitad Politécnica de Catalunya.

GRAELL, J.; IGLESIAS, I.; MARTI, R., 1993. Evaluación objetiva del color superficial en manzanas rojas del grupo '*Red Delicious*'. Comunicación presentada al III Symposium Nacional sobre maduración y postrecolección de frutas y hortalizas. Sevilla, 3-5 de Junio de 1993.

GRAF, H., 1986a. Die Anwendungsbereiche des Wachstumsregulators Alar im Apfelanbau an der Niederelbe. Mitt. OVR Jork, 41; pág.186-201.

GUIWEN, W.; PATRICK, J., 1991. Activity of Phenylalanine ammonia-lyase and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. J. Amer. Soc

*Hort. Sci.*, 116(5): 865-869.

HANSEN, P.; OSTERMANN, J., 1988. Source-skin relations in fruits II. Fruit growth and composition in black currants (*Ribes Nigrum* L.). *Gartenbauwissenschaft*, 53: 155-159.

HALVORSON, A.R.; DOW, A.I., 1975. Interpretation of chemical analysis of irrigation water. Wash. St. Col. Of Agric. Extension Mimeo 3522. Pullman. WA; pág.12.

HARBORNE, J.B., 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids, 8. In: "Inheritance and biosynthesis of flavonoids in plants", Ed. Acad. Press; pág.250-271.

HARBORNE, J.B., 1986. The natural distribution in angiosperms of anthocyanins acyclated with aliphatic dicarboxylic acids. *Phytochemistry*, 25: 1887.

HEGAZI, E.S.; PLICH, H., 1980. The effect of gibberellin, auxin, cytokinin and abcisic acid on ethylene production and some other symtoms of fruit ripening in apples. *Bull. Acad. Polon. Sci., Sér. Sci. Biol.*, 28: 253-258.

HEINICKE, D.R., 1964. The micro-climate of fruit trees. III The effect of tree size light penetration and leaf area in 'Red Delicious' apple trees. Proc. Am. Soc. Hort. Sci., 85: 33-41

HEINICKE, D.R., 1966. Characteristics of 'McIntosh' and 'Red Delicious' apples as influenced by exposure to sunlight during the growing season. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci., 89: 10-13.

HEINZMANN, U.; SEITZ, U., 1977. Synthesis of phenylalanina ammonia-lyasa in anthocyanin- containing and anthocyanin-free callus of *Daucus carota* L. *Planta*, 135: 63-67.

HELLER, W.; FORKMANN, G., 1988. Biosynthesis, 11. In "The Flavonoids", Harborne, J.B., Ed. Chapman & Hall, London; pág.34-56.

HERRERO, A.; GUARDIA, J., 1992. Conservación de frutos, manual técnico. Ed. Mundi Prensa; pág. 97-111.

HRAZDINA, G.; CREASY, L.L., 1979. Light-induced changes in anthocyanin concentration, activity of phenylalanina ammonia-lyasa, and flavonona synthasa, and some other propieties in *Brassica Oleracea*, *Phytochemistry*, 18: 581-589.

HULME, A.C., 1970. The biochemistry of fruits and theirs products. Vols.I y II, Academic Press. London; pág.56-107.

HUNTER, R.S., 1975. The measurement of appearance. Wiley-Interscience, New York.

HYODO, H., 1971. Phenylalanina ammonia-lyasa in strawberry fruits. *Plant Cell Physiology*, 12: 989-991.

IBARZ, A., 1989. El color como parámetro de caracterización de los alimentos. *Teknos*, 112: 48-52.

IGLESIAS, I.; DALMAU, R.; FAYOS, B.; JIMENEZ, J.M.; REINOSO, D.; DOMEYÓ, J.A., 1989. Varietats i peus de pomera i perera. Servei d'Extensió Agrària-DARP. Generalitat de Catalunya; pág.38-58.

IGLESIAS, I., 1989a. Nuevas variedades. Ensayos "B" de manzano y peral. *Fruticultura Profesional*, 21: 2-7.

IGLESIAS, I., 1989b. Diversificación varietal (I). Las variedades rojas del grupo 'Red Delicious'. Fruticultura Profesional, 23: 3-17.

IGLESIAS, I., 1990. Colección de variedades del grupo 'Red Delicious' del campo experimental de frutales de Seana-Bellpuig (Lleida). Inf. Téc. Econ. Agrária, 85: 45-56.

IGLESIAS, I., 1991a. Ensayo sobre el comportamiento de 16 variedades de manzano en el Campo Experimental de Frutales de Seana-Bellpuig (Lleida). *Inf. Téc. Econ. Agrária*, 87: 67-96.

IGLESIAS, I., 1991b. Variedades de manzano: situación actual y perspectivas.

Fruticultura Profesional: "Especial manzano",38: 4-22.

IGLESIAS, I., 1991c. Fruticultura en Cataluña. Agricultura, 709: 720-731.

IGLESIAS, I.; BOIXADERA, J., 1992. Mapa agroclimatic de la zona fruitera de Lleida. Versió 1.1. DARP, Generalitat de Catalunya.

IGLESIAS, I.; ONCINOS, J.A.; PRATS, X., 1994. Primeras aportaciones al comportamiento de 'Fuji' y algunos de sus mutantes en la zona tardía de Lleida (2ª parte). Fruticultura Profesional, 64: 4-14.

IGLESIAS, I., 1994a. Variedades de manzano. Revista de Hortofruticultura, 9: 36-52.

IGLESIAS, I., 1994b. Patrones de manzano. Fruticultura Profesional, 65: 5-26.

INGLE, M., 1972. Studies on the maturity and storage behaviour of 'Red Delicious' bud-sports. W. Va. Univ. Agr. Exp. Sta. Bull. 609T; pag.24-32.

JACKSON, J.E., 1967. Variability in fruit size and colour within individual trees. Rep. East. Malling Res. Stn. 1966; pág.110-115.

JANSEN, A.J., 1986. Verbetering rruchtkwaleteit. Bevorderen van rode kleur. *Groenten Fruit*, 5: 68-70.

JONES, R.L., 1973. Gibberellins: their physiological role. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 24: 571-598.

KAETHER, K.E., 1965. Der Einfluß der mineralischen Stickstoffernährung auf Inhaltsstoffe des Apfels, insbesondere auf die pigments der Fruchtschale. *Gartenbauwissenschaft*, 30: 361-402.

KAPPEL, F.; DEVER, M.; BOUTHILLER, M., 1992. Sensory evaluation of 'Gala' and 'Jonagold' strains. Fruit Varieties Journal, 46(1): 37-43.

KARASZEWSKA, A.; JANKOWSKA, B.; GROCHOWSKA, M.J., 1986. Effects of growth regulator treatments on the hormone pattern in the trunk and the collar tissue of apple trees. *Acta Horticulturae.*, 179: 185-194.

KAZARINOVA-FUKSHANSKY, N.; SEYFRIED, M.; SCHÄFER, E., 1985. Distortion of action spectra in photomorphogenesis by light gradients within the plant tisue. *Photochem. Photobiol.*, 41: 689-702.

KARNATZ, A., 1979. Progeny analysis of self-fertilization in apple cultivars, some results. Proc. Eucarpia Fruit Section; pág. 29-39.

KETCHIE, D.O, 1984. Flowering, *spur* ormation and limb angles of '*Delicious*' apple strains. *Fruit Varieties Journal*, 38: 150-152.

KETCHIE, D.O, 1988. 'Delicious' strain evaluation summary. Washington State Horticultural Association. Proceedings of eighty second annual meeting; pág.106-114.

KIKUCHI, T., 1964. Influence of fruit bag practice on coloration process in apples of different varieties. Bull. Fac. Agric., Hirosaki Univ., 10; pág.89-99.

KLEIN, L.G., 1958. The inheritance of certain fruit characters in the apple. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 72: 1-14.

KLEIN, R.M., 1978. Plants and near-ultraviolet radiation. Bot. Rev., 44: 1-27.

KNEE, J., 1972. Anthocyanin, carotenoid and chlorophyll changes in the peel of 'Cox's Orange Pippin' apples during ripening on and off the tree. J. Exp. Bot., 23: 184.

KNEE, 1980. Methods of measuring green color and chorophyll content of apple fruit. *J. Food Technol.* 15: 493-500.

KRAMER., P.J., 1963. Water stress and plant growth. Agron. J., 55: 31-35.

KRAUSE, J.; REZNIK, H., 1976. Investigation on flavonol accumulation in *Fagopyrum esculentum* M. as influenced by P- and N- deficiency. *Z. Pflanzenphysiol.*, 79: 392-400.

KUBO, Y.; TAIRA, S.; ISHIO, S.; SUGIURA, A.; TOMANA, N., 1988. Color

development of 4 apple cultivars grown in the Southwest of Japan, with special reference to fruit bagging. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci., 57: 191-199.

KUO, C.G.; PHARIS, R.P., 1975. Effects of AMO-1618 and B-995 on growth and endogenous gibberelin content of *Cupressus arizonica* seedlings. *Physiol. Plant.*, 34: 288:292.

LANCASTER, J.E., 1992. Regulation of skin color in apples. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10(6): 487-502.

LANCASTER, J.E.; GRANT, J.E.; LISTER, C.E.; TAYLOR, M.C., 1994. Skin color in apples - Influence of copigmentation and plastid pigments on shade and darkness of red color in five genotypes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119 (1): 63-69.

LARRIGAUDIERE, C.; PINTÓ, E.; VENDRELL, M., 1995. Differential effects of ethefon and seniphos on color development of 'Starking Delicious' apple. Presented for publication to J. Amer. Soc. Hort. Science.

LARRIGAUDIERE, 1995. Color improvement on Seniphos-treated apples. Effect of the date of treatment. Annual Report, 1995; pág.12-15 (pendiente publicación).

LAU, O.L.; LIU, Y.; YANG, S.F., 1986. Effects of fruit detachement on ethylene biosyntesis and loss of flesh firmness, skin colour, and starch in ripening of 'Golden Delicious' apples. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 111: 731-734.

LE LEZEC, M.; LESPINASSE, J.M.; MASSERON, A.; TRONEL, C.; CHARTIER, C., 1983. Les 'Delicious' Rouge. INRA, Ctifl, Paris; pág.55.

LE LEZEC, M., 1990. Etat actuel de l'experimentation variétale en pommier, essais B. *L'arboriculture fruitière*, 407: 26-33.

LESPINASSE, Y.; LESPINASSE, J.M.; GANNE, B., 1985. Inheritance of two agronomical characters in the apple tree (*Malus pumilla Mill*): Compact type habit and fruit colour. *Acta Hortic.*, 159, *Tree fruits and nuts breeding*: 35-47.

LICHOU, J.; EDIN, M.; TRONEL, C.; SAUNIER, R., 1990. Le cerisier: La cerise de table. Ctifl, Paris; pág. 333-334.

LINK, H., 1985. Alar und Ethrel im Apfelanbau. *Einsatzmöglichkeiten und Erfolgsaussichten. Erwerbsobstbau*, 27: 112-114.

LITTLE, M.T.; HILLS, F.J., 1987. Transformaciones, 12. En: "Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura". Ed. Trillas, Mexico; pág.125-143.

LOMBARD, P.B.; WESTIGARD, P.H.; CARPENTER, D., 1966. Overhead sprinkler systems for environmental control and pesticide application in pear orchards. *HorsScience*, 1: 95-96.

LORD, W.J.; DAMON, R.A.; ANDERSON, J.F.; SOUTHWICK, F.W., 1979. Evaluation of '*Delicious*' strains for fruit color, productivity, tree size and suceptibility to water core. Proceedings Massachusetts Fruit Growers Assoc. 85; pág.76-83.

LORD, W.J.; DAMON, R.A.; ANDERSON, J.F., 1980. A comparison of tree size, productivity, and fruit quality of 'Delicious' strains. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 105: 883-887.

LOSCHEKE, D.C.; HADRIGER, L.A., 1981. Effects of light and or 'Fusarium Solani' on synthesis and activity of phenilalanina ammonia-lyasa in Peas. Plant Physiol, 68: 680-685.

LOWEL, E.L.; SAURE, M., 1964. Neue 'Cox Orange' Mutationen aus unseren Mitgliedsbetrieben. Mitt. OVR Jork, 19: 106-107.

LOWEL, G., 1981. Over tree irrigation for cooling for increased color. Procedings of fifth annual warehouses seminar and trade show; pág.55-56.

LÜDDERS, P.; BÜNEMANN, G., 1969. Der EinfluB jahrreszeitlich unterschiedlicher Stickstoffversorgung auf das Wachstum von Apfelbäumen.IV. Der EinfluB auf das

generative Wachstum. Gartenbauwissenschaft, 34: 539-564.

MACRAE, K.B.; LIDSTER, P.B.; DE MARCO, A.C.; DICK, J.A., 1990. Comparison of the polyphenol profiles of apple fruit cultivars by correspondence analysis. *J. Sci. Food Agr.*, 50: 329-342.

MAEYER DE L., 1984. Colour promotion in apple. Boer en de Tuinder, 90: 17-21.

MANCINELLI, A.L., 1985. Light-dependent anthocyanin synthesis: a model system for the study of plant morphogenesis. *Bot. Rev.*, 51: 107-157.

MAPA, 1995a. Anuario de Estadística Agrària-1993: 304-345.

MAPA, 1995b. Boletín mensual de Estadística-1993. Secretaria General Técnica; pág.29-50.

MAPA, 1995c. Norma de calidad para manzanas. Secretaria General Técnica (MAPA), Madrid; pág.24.

MASSERON, A., 1986. Le choix des variétès. Fruits et Legumes, 36: 14-17.

MASSERON, A., 1989. Les porte-greffe du pommier. In: "Les porte-greffe pommier, poirier et nashi". Ctifl, Paris; pág.297.

MAYLES, K., 1989. Optimizing red color development. Proc. Wash. State Hortic. Assoc., Wenatchee, Wash.: The Association (85 th); pág.186.

McGLASSON, W.B.; WADE, N.L.; ADATO, I., 1978. Phytohormones and fruit ripening. In: "Phytohormones and related Compounds - A Comprehensive Treatise". D.S. Letham, P.B. Goodwin and T.J.V., Higgins (Editors), Vol.2. Elsevier; pág.447-493.

McGUIRE R.G., 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27: 125-1255.

MISIC, P.D.; TESOVIC, Z.V., 1971. Anthocyanin colour distribution in the skin of 'Cox's Orange Pippin' apple and its dark-red sports. Horticulturae Research, 11: 161-165.

MOL., J.N.M.; STUITJE, A.R.; GERATS, A.G.M.; KOES, R.E., 1988. Cloned Genes of phenyl propanoid metabolism in plants. *Plant. Mol. Biol. Rep.*, VI, 274.

MORGAN, D.C.; STANLEY, C.J.; VOLZ, R.; WARINGTON, I.J., 1984. Summer pruning of 'Gala' apple: the relationship between pruning time, radiation penetration, and fruit quality. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 109(5): 637-642.

MOSEL, H.D.; HERRMAN, K., 1974a. Changes in catechins and hidroxycinnamic acid derivates during development of apples and pears. *J. Sci. Food Agric.*, 25:251.

MOSEL, H.D.; HERMANN, K., 1974b. The phenolics of fruits III. The contents of catechins and hydroxy-cinnamic acids in pome and stone fruits. Z. Lebensm. Unters-Forsch., 156; pág.6.

NAUMANN, W.D., 1964. Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf die Nachreife von Äpfeln der Sorten 'Jonathan' und 'Ontario'. Gartenbauwissenschaft, 29: 523-539.

NEVERS, P.; SHEPHERD, N.S.; SAEDLER, H., 1986. Plant transposable elements. In "Advances in Botanical Research", Vol. 12, Calow, J. A., Ed., Academic Press, London; pág.103.

NORO, S.; KUDO, N.; KITSUWA, T., 1988. Diferences in sugar content and organic acids between red and yelow apple cultivars at time of coloring, and effect of citramalic acid on development of anthocyanin. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.*, 57: 381-389.

OLESZEK, W.; LEE, C.Y.; JAWORSKI, A.W.; PRICE, K.R., 1989. Identification of some phenolic compounds in apples. *J.Agr.Food Chem.*, 30: 430-432.

PLOTTO, A., 1988. Pomme: de toutes couleurs. Fruits et Legumes, 59: 25-27.

POLESELLO, A.; GORINI, F., 1980. Objective evaluation of the surface colour of apple fruits from cultivars of the '*Red Delicious*' group. Confructa, Bd.25; pág.16-27.

PORTER, L.J., 1989. Tannins, 11. In: "Methods in PLant Biochemistry", Vol.1, Harborne, J.B., Ed., Academic Press, London; pág.123-143pp.

POWELL, A.A.; MCGUIRE, J.A., 1984. Evaluation of five non spur strains of 'Red Delicious' apples in central Alabama. Alabama Agr. Expt. Sta., Auburn. Bul. 557; pág.56.

PRABHA, T.N.; PATWRDHAN, M.V., 1985. A comparison of the polyphenolic patterns in some Indian varieties of apples and their endogenous oxidation I. *J. Food. Sci. Technol.*, 22: 404-414.

PRATT, C.; OURECKY, D.K.; EINSET, J., 1967. Variation in apple cytochimeras. *American Journal of Botany*, 54 (10): 1295-1301.

PRATT, C.; WAY, R.D.; EINSET, J., 1975. Chimeral structure of red sports of 'Northern Spy' apple. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 100(4), 419-422.

PRIMO, E., 1979. Química agrícola: Alimentos. Tomo III. Ed. Alhambra. Madrid.

PROCTOR, J.T.A.; CREASY, L.L.; 1971. Effect of supplementary light on anthocyanin synthesis in 'McIntosh' apples. J.Am. Soc. Hortic. Sci, 96: 523-526.

PROCTOR, J.T.A., 1974. Color stimulation in attached apples with supplementary light. *Can. J. Plan. Sci.*, 499-503.

PROCTOR, J.T.A.; LOUGHEED, E.C., 1976. The effect of covering apples during development. *HortScience*, 11: 108-109.

PROCTOR, J.T.A.; CREASY, L.L., 1971. Effect of supplementary light on anthocyanin synthesis in 'McIntosh' apples. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 96: 523-526.

PROEBSTING, E.L.; DRAKE, S.R.; EVANS, R.G., 1984. Irrigation management, fruit quality, and storage life of apple. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 109(2):229-232.

PROGNOSFRUIT. Apple and pear forecast 1995 in Europe. Merano (Italy), August, 4,5; pág.122.

RAVAGLIA, G; SANSAVINI, S.; VENTURA, M.; TABANELLI, D., 1996. Indici de maturazione e miglioramento qualitativo delle pesche. *Frutticoltura*, 3: 61-66.

RECASENS, D.I.; BARRAGAN, J., 1981. Influencia del riego refrescante sobre la producción de antocianos en la manzana *'Starking Delicious'*. Comunicación presentada en la IV reunión de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas, Salamanca.

RECASENS, D.I., 1982. Estudio de diversos parámetros fisiológicos durante el crecimiento del fruto. Aplicación a la variedad *'Starking Delicious'*. Resumen de Tesis Doctoral. Publicaciones de la Universidad Autónoma de Barcelona; pág. 24-31.

RECASENS, D.I., RECASENS, J.; MOLINA, M., 1983. Influencia de las bajas temperaturas sobre la síntesis de antocianos, en variedades rojas de manzana. Comunicaciones I Congreso Nacional SECH, Valencia. Tomo II; pág.605-614.

RECASENS, D.I.; BARRAGAN, J., 1984. Utilización del riego por aspersión para obtención de un clima refrescante en plantaciones frutales: algunas experiencias en manzanos. *Inf. Téc. Econ. Agrária*, 57: 21-31.

RECASENS, D.I.; RECASENS, J., BARAGAN, J., 1988. Sprinkler irrigation to obtain a refreshing microclimate. Effect on fruit growtt rates and quality of 'Jonee' and 'Golden Smoothee' apples. Acta Horticulturae, 228: 197-204.

ROBINSON, M., 1995. Cooling problems prompt growers to try covers. *Good Fruit Grower*, July: 24-25.

ROOIJEN VAN, W.J., 1984. Alar as a fruit colour improver. Fruitteelt, 74:28.

ROEMER, K., 1984. Zusammenhänge zwischen Fruchtgröbe und Qualität. Mitt. OVR Jork, 21; pág.200-233.

RUIZ, S.R.; VALENZUELA, B.J.; MUÑOZ, S.C., 1986. Asociación de la nutrición nitrogenada con problemas de coloración en manzanas 'Granny Smith'. Agr. Técnica, 46:

369-371.

SALMON, W., 1993. 'Fuji' production in Washington. Personal comunication; pág.1-3. SALTER, P.J.; GOODE, 1967. Crop reponse to water at different stages of growth. Common Agr. Bureaux, England.

SAMARAWEERA, M.K.S.A.; COTTINGHAM, D.G., 1980. Uptake, distribution and persistence of C12 -labelled N-dimethyl aminosuccinamic acid in fruiting apple trees. *J. Hortic. Sci.*, 55: 199-205.

SAS Institute Inc., SAS/STAT User's Guide, Version 2, Fourth Edition, Volume 1, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1990a; pág.912.

SAS Institute Inc., SAS Procedures Guide, Version 6, Third Edition, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1990b; pág.705.

SAURE, M.C., 1987. Summer pruning effects in apple a review. *Scientia Hortic*, 30: 253-282.

SAURE, M.C., 1990. External control of anthocyanin formation in apple. *Scientia Hortic.*, 42: 181-218.

SCHUMACER, R.; STADLER, W., 1985. Einflu der Fruchtfarbe und verschiedener Ausdunnungs methoden auf die Fruchtqualität. *Schweiz. Z. Obst. Weinbau*, 121:478-483.

SCHUMACER, R.; FRANKHAUSER, F.; STADLER, W., 1986. Influence of growth regulators, ringing and root cutting on apple quality and physiological disorders. *Acta Hortic.*, 179:731-742.

SCHMID, P., 1967. Idaein-abbauende Enzyme in Äpfeln. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 133: 304-310.

SCHMIDT, H.; KRUGER, J., 1983. Fruit breeding at the Federal Research Centre for horticultural plant breeding, Ahrensburg/Holstein. *Acta Horticulturae: Fruit Breeding*, 140:15-33.

SCHULZ, H., 1969. Untersuchungen über die Farbstoffveräderungen in Apfelfrüchten während ihrer der Chlorophylle, Carotine und Carotinoide. Habilitation Universität Halle, 216

SCHULZ, H., 1986. Aroma-und Farbstoffe. In: "Physiologie der Obstgehölze", G. Friedrich, D. Neumann, M. Vogl (Editors), Akademie, Berlin, 2nd de; pág.235-341.

SEIPP, D.; ROEMER, K., 1984. Vergleich von Fruchtmerkmalen roter Apfelmutanten mit denen ihrer Ausgangsformen. *Gartenbauwissenschaft*, 49:131-140.

SEYMUR, G.; TAYLOR, J.; TUCKER, G., 1993. Colour changes, 1. In: "Biochemistry of fruit ripening". Ed. Chapman & Hall, London; pág.361-365.

SIEGELMAN, H.W.; HENDRICHS, S.B., 1958. Photocontrol of anthocyanin synthesis in apple skin. *Plant Physiol.*, 33: 185-190.

SINGHA, S.; BAUGHER, T.A.; TOWNSEND, E.C., 1989. In situ measurement of fruit color development in six 'Red Delicious' strains. HortScience, 24: 219-224.

SINGHA, S.; BAUGHER, T.A.; TOWNSEND, E.C.; D'SOUZA M.C., 1991a. Anthocyanin distribution in 'Delicious' apples and the relationship between anthocyanin concentration and chromaticity values. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 116(3): 497-499.

SINGHA, S.; TOWNSEND, E.C.; BAUGHER T.A., 1991b. Relationship between visual rating and chromaticity values in 'Delicious' apple strains. Fruit varieties Journal, 45(1): 33-36.

SINGHA, S.; BAUGHER, T.A.; TOWNSEND, C., 1994. In situ differences in fruit color development of six 'Delicious' apple strains. Fruit Varieties Journal, 48, 103-108.

SMITH, H.M.; FRYE, R.E., 1964. How color of 'Red Delicious' apples affects their sales. U. S. Dept. Agr. Mkgt. Res. Rpt; pág.618.

SMITH, H.M., 1982. Light quality, photoperception, and plant strategy. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 33: 481-518.

SMOCK, R.M., 1963. Laboratory studies of anthocyanin development in 'McIntosh' apples. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci., 88: 80-88.

STAFAKIOTAKIS, E.M.; DILLEY, D.R., 1973. Internal ethylene concentration in apple fruits attached to or detached from de tree. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 98: 501-503.

STAFFORD, H.A., 1990. Flavonoid metabolism, CRC Press, Boca Raton, Fl.; pág.57-89.

STEVENS, R.G., 1989. Water quality for orchard cooling. Proceedings of fifth annual warehouse seminar and trade show. Washington State Horticultural Association; pág.53-54.

STTEBINS, R., 1992. Nouvelles variéties, nouveaux gouts. *Fruits et Legumes*, 98: 19-20.

SUN, B.H.; FRANCIS, F.J., 1967. Apple anthocyanins: Identification of cyanidin 7-arabinoside. *J. Food Sci.* 32: 647-648.

SWINDEMAN, A.M.; DILLEY, D.R., 1988. Anthocyanin biosynthesis and maturity of 'McIntosh' apples as influenced by ethylene-releasing compounds. J.Am.Soc.Hortic.Sci., 113: 718-723.

TAN, S.C., 1979. Relationships and interactions between pheylalanina ammonia-lyasa, phenylalanina ammonia-lyasa inactivating system, and anthocianin in apples. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 104: 581-586.

TAN, S.C., 1980. Phenylalanine ammonia-lyase and the phenylalanine ammonia-lyase inactivating system: effects of light, temperature and mineral deficiencies. *Aust. J. Plant Physiol.*, 7: 159-167.

THAI C.N.; SHEWFELT, R.L.; GARNER, J.C., 1990. Tomato color changes under constant and variable storage temperatures: empirical models. Transactions of the ASAE. Vol.33(2); pág.607-614.

TIMBERLAKE, C.T.; BRIDLE, P., 1971. The anthocyanins of apples and pears: the occurrence of acyl derivates. *J. Sci. Food Agric.*, 22:509-512.

TIMBERLAKE, C.F., 1981. Anthocyanins in fruit and vegetables. In Recent advances in the biochemistry of fruit vegetables. Ed. J. Friend and M.J.C. Rhodes. Academic Press; pág.241-247.

TOBIN, E.M.; SILVERTHORNE, J., 1985. Light regulation of genes expression in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 36: 569-593.

TRILLOT, M.; MASSERON, A.; TRONEL, C., 1993. Pomme: les variétés: 37-179pp, Ctifl, Paris; pág.37-179.

TUSTIN, D.S.; HIRST, P.M.; WARRINGTON, I.J., 1988. Influence of orientation and position of fruiting laterals on canopy light penetration, yield, and fruit quality *of 'Granny Smith'* apple. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 113: 693-699.

UNRATH, C.R., 1972a. The evaporative cooling effects of overtree sprinkler irrigation on 'Red Delicious' apples. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97: 55-58.

UNRATH, C.R., 1972b. The quality of 'Red Delicious' apples as affected by overtreee sprinkler irrigation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97(1): 58-61.

UNRATH, C.R., 1975. Cool off for better apples. American Fruit Grower, 95: 11-12.

UOTA, M., 1952. Temperature studies on the development of anthocyanin in 'McIntosh' apples. Proc. Am. Soc. Hortic. Sci., 59: 231-237.

URBINA, V., 1990. La calidad de los frutos. Frut Vol. II, nº2; pág.120-127.

WALKER, J.R.L., 1964. Flavonoid pigments in the skins of New Zealand apples. N. Z. J. Sci. 7: 585-565.

WALSH, C.S.; VOLZ, R., 1990. 'Gala' and the Red 'Gala' sports: A preliminary comparison of fruit maturity. Fruit Varieties Journal, 44(1): 18-22.

WALSH, C.S., 1991. Apple cultivars, current situation and future trends around de world, Australia and New Zealand. *Fruit Varieties Journal*, 45(2): 76-79.

WALTER, J.R.L., 1967. Factors affecting fruit colour in apples: a review of world literature. Rep. East Malling Res. Stn. for 1966; pág.70-82.

VAN BUREN, J., 1970. Fruit phenolics, 11. In: "The biochemistry of fruits and their products". A.C. Hulme, Vol. 1, Ed. A. C. Hulme; pág.269-300.

VAN DEN BRINK, C.; CAROLUS, L., 1965. Removal of atmospheric stresses from plants by overhead sprinkler irrigation. Mich. State Univ. Quart. Bul., 47; pág.358-363.

VAN LAER, P., 1990. Variétés de pommes pour l'avenir. Le Fruit Belge, 431: 211-216.

VILLOTA, R.; HAWKES, J.G., 1992. Reaction kinetics in foods systems. In: "Handbook of food engineering". Heldman, D.R. & Lund, D.B. (Eds). Marcel Dekker. New York; pág.47-66.

WATANABE, S.; ARAKAWA, O., 1983. Development and the distribution of red color (anthocyanin) in the fruit skin of apple varieties. Bull. Yamagata Univ. (Agric. Sci.), 9; pág.197-213.

WARNER, G., 1995a. Evaporative cooling reduces codling moth damage. *Good Fruit Grower*, March: 24-25.

WARNER, G., 1995b. Cycled system is best for evaporative cooling. *Good Fruit Grower*, March: 27-28.

WARNER, G., 1995c. Color requirement debated for top grade apples. *Good Fruit Grower*, May: 27-29.

WARNER, G., 1995d. Overhead cooling may not be total sunburn cure. *Good Fruit Grower*, July: 20-21.

WARNER, G., 1995e. Cooling problems prompt growers to try covers. *Good Fruit Grower*, July: 24-25.

WARNER, G., 1995e. No proof yet that copper sprays inprove color. *Good Fruit Grower*, October: 31-34.

WARRINGTON, I.J.; STANLEY, C.J.; VOLZ, R., MORGAN, D.C., 1984. Effects of summer pruning on 'Gala' apple quality. Orchardist of New Zealand, 57:11, 518-522.

WARRINGTON, I.J.; FERREE, D.C.; SCHUPP, J.R.; DENNIS, F.G.; BAUGHER, T.A., 1990. Strain and rootstock effects on spur characteristics and yield of '*Delicious'* apple strains. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 115:348-356.

WELLMANN, E., 1983. UV radiation in photomorphogenesis, 10. In.: "Enciclopedia of Plant Physiology", A. Pirson and M.H. Zimmermann (Editors), New Series Vol 16b. Springer, Berlin; pág.745-756.

WESTWOOD, M.N., 1963. Some differences in growth chemical, composition and maturity between a spur mutant and standard growing 'Delicious' apples. Proc. Wash. State Hort. Assoc., 59:119-120.

WESTWOOD, M.N.; ROBERTS, A.N., 1970. The relationship between trunk cross-sectional area and weight of apple trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 95: 28-30.

WESTWOOD, N.H., 1982. Maduración. En: "Fruticultura de zonas templadas". Capítulo 11. Ed. Mundi Prensa. Madrid; pág.250-267.

WHITE, A.G.; LESPINASSE, Y., 1986. The inheritance of fruit color in apple (*Malus Pumilla* Mill.). *Agronomie*, 6 (1): 105-108.

WHITE, A., 1991. The 'Gala' apple. Fruit Varieties Journal, 45 (1): 2-3.

WIJSMULLER, J., 1988. Kleurbevordering bij 'Jonagold', Fruittelt, 78: 16-17.

WILLIAMS, K.M.; MAYLES, K., 1989. Use of evaporative cooling for enhancing red color in apple. Proc. Wash. State Hortic. Assoc., Wenatchee, Wash.: The Association (85 th); pág.186-187.

WILLIAMS, K.M., 1989. Factors affecting color development. Proceedings of fifth annual warehouse seminar and trade show. Washington State Horticultural Association; pág.51-52.

WILLIAMS, K.M., 1993. Use of evaporative cooling for enhancing apple fruit quality. *Good fruit grower*, August: 23-27.

WILLET, M., 1989. Color development and enhancement in '*Red Delicious*' using over tree irrigation. Proceedings of fifth annual warehouse seminar and trade show. Washington State Horticultural Association; pág.50.

WILLS, R.M.; LEE, T.H.; McGLASSON, W.B.; HALL, E.G.; GRAHAM, D., 1984. Fisiología y manipulación de frutas y hortalizas postrecolección. Ed. Acribia, Zaragoza; pág.135.

WORKMAN, M., 1963. Color pigment changes in 'Golden Delicious' and 'Grimes Golden' apples. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 83: 149.

YANG, S.F.; LUI, Y.; LAU, O.L., 1986. Regulation of ethylene biosynthesis in ripening apple fruits. *Acta Hortic.*, 179: 711-720.

ZELLES, L., 1967. Untersuchungen über den farbstoffgehalt der schale Äpfeln und unter verschieedenen Legerbedingungen, dissertation, Friedrich-Willhelms-Universität, Bonn, Germany; pág.54.

YATSUHASHI, H.; HASHIMOTO, T., 1985. Multiplicative action of a UV-B photoreceptor and phytochrome in anthocyanin synthesis. *Protochem Photobiol.*, 41: 673-680.