

***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

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 Comisión Internationale de l'Eclairage (C.I.E.)

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

2.4.- 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 año

2.7.1.- Parámetros colorimétricos

2.7.2.- Contenido de antocianos

2.8.-Efecto del riego refrescante en los porcentajes 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 porcentajes 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

4.3.- 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 amonioliase (PAL)

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

4.10.- Influencia del riego por aspersión en los parámetros de calidad del fruto

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

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

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 número 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.

ABREVIATURAS

a = Coordenada de color. Sistema Hunter.
 a* = Coordenada de color. Sistema CIELAB.
 a*₀ = 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*₀ = Coordenada de color inicial. Sistema CIELAB.
 BV = Azul violeta.
 °C = Grado Celsius.
 cm² = 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.
 GA₃ = Acido giberélico.
 g = Gramo.
 h = Hora.
 HIR = Respuesta de alta energía.
 kg = Kilogramo.
 l = Litro.
 L = Luminosidad. Sistema Hunter.
 L* = Luminosidad. Sistema CIELAB.
 L*₀ = Luminosidad inicial. Sistema CIELAB.
 MAPA = Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
 MDS = Mínima Diferencia Significativa.
 ml = Mililitro.
 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.
 X₀ = 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.

RESUMEN

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 amonioliase (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. Fue 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 Índices 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*' fue 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 Índices de Productividad correspondieron a '*Early Red One*' y '*Sharpred*'.

INTRODUCCIÓN

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 cláusula 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. prevé 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 están 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 bicolors 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 predisposto a la harinosidad de los mismos y consecuentemente a su rechazo por el consumidor. En otras variedades bicolors, como las del grupo '*Gala*', la falta de color constituye un problema importante dado que ocasiona una pérdida 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 alternativa, 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 bicolors 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 bicolors 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 bicolors, 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
<i>Red Delicious</i>	891.000	12%	
<i>Granny Smith</i>	362.000	5%	
<i>Gala</i>	116.000	1,5%	
<i>Jonagold</i>	605.000	8,2%	
<i>Bstar</i>	264.000	3,6%	
<i>Otras</i>	2.369.000	31 %	
<i>Golden Delicious</i>	2.779.000	38,7%	
TOTAL	7.386.000	100%	

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 reúne la mayor concentración frutícola de Cataluña y de España. En el [Cuadro 2](#) (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 porcentajes 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 porcentaje 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 bicolors, 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 asociada, en general, a una mayor calidad gustativa del fruto, mayor dureza, contenido en azúcares 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 pérdida de calidad; mientras que en otras variedades, como las del grupo '*Gala*', ocasiona la pérdida parcial o total de su valor comercial, y el retraso de la recolección provoca con frecuencia "cracking" en la cubeta peduncular con la consiguiente depreciación del fruto.

En la actualidad la valoración de las variedades rojas y bicolors 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 bicolors 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	<i>Starking</i> (> 75 mm)		<i>Topred</i> y similares (> 75 mm)		<i>Royal Gala</i> (>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 porcentajes 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 porcentajes expuestos en el [Cuadro 3](#) (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 porcentaje de color para las mejores cotizaciones se fijó en el 85%, mientras que para las campañas 1992-93 y 1994-95 este porcentaje fue del 70 y del 60%, respectivamente. Dichos porcentajes fueron para '*Starking Delicious*' 70% (1993-94) y 60% (1992-93, 1994-95). Para esta variedad el porcentaje mínimo de color exigido fue 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 porcentajes 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 porcentaje 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 implícito que solamente los frutos con una adecuada coloración, sean los que alcancen precios satisfactorios.

La producción media de las dos principales variedades del grupo '*Red Delicious*': '*Starking Delicious*' y '*Topred Delicious*', fue en el año 1994 de 34.900 t (DARP, 1995b). Considerando un precio medio de venta de 55 pta/kg y una pérdida 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 pérdidas 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 líneas fundamentales de síntesis y regulación de los antocianos.

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

La aparición del color está 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. Pigmentos cloroplásticos. 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 clorofila 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 pérdida de clorofila está acompañada por la biosíntesis de uno o más pigmentos, normalmente antocianos o carotenoides. Los pigmentos carotenoides 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. Pigmentos vacuolares. Se encuentran disueltos en el jugo vacuolar y son de tipo flavonoide. Dentro de éstos, los más abundantes en los frutos son los antocianos 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 flavonoide, destacan: los antocianos, los flavonoles, los flavones y las proantocianidinas (Lancaster, 1992); siendo los más importantes los antocianos, pudiéndose 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 son 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 poseen dos anillos en su estructura, denominados A y B (*Figura 1-4*).

Los antocianos 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_3 y R_5 , 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_3 y R_4 del anillo B dos grupos hidroxilo. La condensación en el grupo hidroxilo de la posición R_3 a la galactosa (fracción glucídica o glicón), da lugar a la síntesis del cianidín 3-galactósido 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 azúcar 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 flavonoles (quercitín glicósidos), habiéndose identificado 6, todos ellos incluyen los mismos azúcares que los encontrados en los cianidín glicósidos, siendo también 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 3-0-galactósido	Hiperina	554-924
Quercitín 3-0-glucósido	Isoquercitina	
Quercitín 3-0-xilósido	Reinoutrina	119-297
Quercitín 3-0-arabinósido	Avicularina	546-801
Quercitín 3-0-rainnósido	Quercitina	71-661
Quercitín 3-0-ramnoglucósido	Rutina	57-185
Floretín glucósido	Florizina o Floridizina	87-331
Floretín glucósido		
Ácido clorogénico		20-149
Catequina		455-1431
Epicatequina		980-1590
Gaflocatequina		20-180

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

(*) gpf: gramos de peso fresco.

Los flavonoles y los flavones 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 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 exhiben 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 flavonoles 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, manteniendolos 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 células 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 fase de inducción requiere como punto de partida la luz ultravioleta; la síntesis o su posterior producción depende de la disponibilidad de productos carbonatados (azúcares que se asocian a la cianidina para formar 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, transformándose 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 Forkmman (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	+
6	(2S)-Flavanona 3'-hidroxilasa	
7	Flavonoide 3'-hidroxilasa	
8	Flavonol sintetasa	
9	Dihidroflavonol 4-reductasa	+
10	Flavan-3, 4-cis-diol 4-reductasa	
11	Anthocianidína flavonol	+
	3-O-glucosiltransferasa	

Cuadro 5: Enzimas implicados en la biosíntesis de antocianos 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 biosintética 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 la 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 NH₂ 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 flavanona 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 L-fenilalanina es el compuesto de mayor interés, dado que es el precursor 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 proteínas y del RNA (Amrhein et al., 1971; Creasy et al., 1974; Blankenship et al., 1988; Faragher 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 cloroplastos, mitocondrias y microcuerpos (glioxisomas y peroxisomas), así como en la fracción microsomal. Muestra una elevada especificidad 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) sugirieron 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 estas 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 galactosa (GI-), se derivan los antocianos ([Figura 1-6](#)).

[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 penúltima reacción de la biosíntesis de los cianidín glicósidos, en la cual la leucocianidina (intermediario demasiado inestable para ser aislado) se transforma en cianidín ([Figura 1-6](#)), 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 ([Figura 1-6](#)). Las reducciones enzimáticas que originan la catequina han sido revisadas recientemente (Mosel et al., 1974a; Porter, 1989; Stafford, 1990). Las proantocianidinas están formadas por

cadena de unidades de flaván-3-ol, siendo las más comunes las procianidinas que están formadas por cadenas de catequina y/o epicatequina. La presencia de catequinas en la piel de manzanas rojas y verdes, indica que la regulación de las enzimas involucradas en la síntesis de cianidín glicósido, debe producirse posteriormente a la síntesis del leucocianidín.

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 fletina. Para los dos primeros es la galactosa la que está presente en elevadas cantidades con menores cantidades de arabinósido de quercitina, ramnosa, xilosa, glucosa y el disacárido ramnoglucosa. Las enzimas glicosiltransferasa flavonoles han sido mencionados en numerosas especies y difieren en la especificidad del sustrato, siendo la flavona aceptor y el azúcar 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 íntimamente 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 abscisión. 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. Después de la polinización el control del desarrollo del fruto lo asumen las semillas; estas influyen en el desarrollo de los tejidos 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 intervalo 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. Maduración: 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 abscisión del fruto del árbol, marcan las pautas de la maduración de los frutos. Además de los cambios visibles, se producen en el fruto una serie de cambios básicos en su composición y metabolismo, como son los cambios hormonales y de la actividad respiratoria, y la producción de etileno.

4. Senescencia: 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 están íntimamente 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) Un primer máximo, 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) Un segundo máximo, 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/cm²) 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 rápidamente 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 sombreado), los niveles de antocianos disminuían en la piel de frutos inmaduros, mientras que continúan 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 azúcares- para procesos metabólicos que se encuentran bajo control endógeno, o bien interferir con el mismo. Los mecanismos de control endógeno no son necesariamente idénticos en frutos jóvenes 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 jóvenes 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 jóvenes 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 jóvenes sea completamente endógena, dado que dicha formación puede observarse incluso en los trópicos con elevadas temperaturas.

Otros factores externos actúan 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 difícil 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 varía 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) sugirieron 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 GA₃ retarda la pérdida 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 expuestas al sol. La GA₃ 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 da la siguiente secuencia: más luz implica una menor actividad de 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 GA₃, 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 están 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 azúcares previniendo su degradación. Sin embargo, podría también existir una promoción directa de la formación de antocianos por los azúcares, como indicó Jones (1973), según el cual una conjunción de las giberelinas con el azúcar podría ser importante secuestrando las giberelinas y de ésta forma disminuyendo su efecto represor en la formación de antocianos.

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 esto, 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 contrarrestar 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 azúcares para la formación de antocianos es imprescindible; sin embargo, cabe diferenciar cuando una sustancia actúa 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 azúcares 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 azúcares, 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 azúcares 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 azúcares, 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 azúcares 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 azúcares (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 actúa 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 jóvenes 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 proteólisis. 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 actúa independientemente del fitocromo. Yatsushashi 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 pérdida 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 estrechamente 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 GA₃ han sido parcialmente atribuidos al retraso de maduración, un fenómeno también observado en naranjas y otros frutos que no exhiben 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 porcentaje 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 interactuar 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 prerequisites 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 extraídas 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 Loughheed (1976) observaron una estimulación de la síntesis de antocianos después de un día de haber eliminado las bolsas.

La luz actúa 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 sombreado 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 sombreado del fruto una carencia de color. El efecto del sombreado puede observarse fácilmente 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 porcentaje 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 azul-violeta (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 un mayor porcentaje de radiación UV 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 porcentaje 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 porcentaje 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 nitrógeno 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 rápidamente 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 misma 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 (Clenix, 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 porcentaje 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.

Poda

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 una práctica efectiva para inducir la formación del color; se realiza un mes después de la plena floración, cubriendo los frutos con bolsas de papel o de otros materiales; transcurridos algunos meses los frutos desarrollan rápidamente color rojo y algunos días después su color es superior, en la mayoría de las variedades, al de los frutos no embolsados (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 actúa liberando etileno y acelerando así el proceso de maduración, con lo que el fruto adquiere la coloración propia 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 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 deseados, 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 está 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 daminozida 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 (Gianfagna, 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 aspersion, 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 prerequisite 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). Consecuentemente 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 porcentaje 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 variaciones diarias de las temperaturas, 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 temperaturas mínimas tendrían un mayor efecto en la coloración que las oscilaciones de las mismas (Uota, 1952; Diener, 1977; Williams, 1989; Williams et al., 1989), y serían las causantes de las variaciones del color entre años; 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 factor localidad; 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 temperaturas que provoquen una mayor alternancia de las mismas, 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, fue muy superior con alternancia 6°C y 18°C (para 12 horas en cada 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 pérdida 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, esto 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 fue 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 azúcares (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 CO₂ requerido para la síntesis de carbohidratos.

Las bajas temperaturas influyen reduciendo la pérdida de azúcares 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 azúcares 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.- Influencia del riego refrescante en el desarrollo del fruto y en la coloración de las 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 utilizarán 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^{++} o de $(\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^-)$ 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 $\text{CO}_3 \text{ Ca} < 100\text{ppm}$, no presentan limitaciones para su aplicación en riego refrescante. La reacción que explica la deposición de carbonato cálcico es la siguiente:



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 intervalo 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) sugirieron 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, sugiriendo 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 [Cuadro 6](#) (ver tabla siguiente).

Sistema de riego	Temperatura (°C)			
	Aire	Madera	Hoja	Fruto
Aspersión	29,7	25,6	26,1	27,6
Testigo	31,6	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 porcentaje 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 porcentajes 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 de riego	Porcentajes de cosecha recolectada (%)					
	19/ago.	26/ago.	Acumulado*	2/sept.	Acumulado	9/sept
Aspersión	18,1	71,4	89,5	10,6	100	0
Testigo	16,9	40,8	57,4		86,4	14

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

(*) Porcentajes de cosecha acumulados en las diferentes fechas.

En el mismo ensayo, se evaluó además del riego refrescante por aspersión, el efecto de la aportación de varios riegos suplementarios a manta. Los resultados obtenidos con respecto

a la modificación de temperaturas, porcentaje de frutos recolectados semanalmente, tamaño, forma, firmeza, contenido de azúcares 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 sólidos 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 microjets, 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 porcentaje de frutos de primera categoría), mayor firmeza, mayor tamaño y menor porcentaje 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 porcentaje 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 azúcares 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 Smoothie*', 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 azúcares 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.-Patrones

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 idénticas 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 difícil 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 erróneamente a una recolección anticipada, si se tiene en cuenta solamente el color y el calibre, lo que puede implicar una pérdida importante de la calidad del fruto (Baugher et al., 1990; Fallahi et al., 1994).

En las variedades rojas de manzana, existen importantes diferencias 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 porcentaje 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 et 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 rápidamente 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 porcentaje 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 células 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 células 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 célula). El porcentaje de células rojas en la hipodermis de los mutantes de '*Gala*', oscila entre el 20 y el 38 %, siendo este porcentaje 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*', N° 4926 y N° 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 está 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 et al., 1975). Los mutantes rojos se originan -de forma espontánea o por irradiación-, por una alteración genética en el núcleo 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 apical, 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; sugiriéndose 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 posibilidad 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 carácter en los programas de hibridación y mejora genética.

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'*, *'Starkspur 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 *'Oregon 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 trabajos 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 intervalo 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 Índice de Productividad permite evaluar la eficiencia productiva de las diferentes combinaciones patrón variedad (Lord et al., 1980); las variedades que presentaron los mejores índices 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 Índice 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 diámetro/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.

Baughner 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 visualmente por un panel de consumidores en una escala de 0 a 10, en base a la cual, la mejor coloración correspondió a: '*Ultra stripe*', '*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 fue 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 *estándar* 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 permitirá 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 visualmente 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 portátil 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 R^2 ; 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 portátil 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'*, *'Oregon 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^* está poco relacionado con la concentración de antocianos ($R^2 = 0,10$). 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 extraídos ($R^2 = 0,59$ 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 portátil 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 *'Starkrimson'* 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^* fue el que mejor se relacionó con la apreciación visual del color del fruto (Singha et al., 1991b), ya que variedades como *'Oregon 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 *'Starkrimson'* permanecía verde el 16 de agosto, desarrolló rápidamente 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 índice 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 índice 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 Oregon 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 Oregon 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 heterogénea. 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 espontáneas 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 Índice 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 *estándar*, 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 Índices de Productividad. El mejor tamaño

de fruto correspondió a '*Topred Delicious*' y '*Early Red One*', mientras que los calibres más homogéneos 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 difícil 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 fue 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 conjuntamente 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 ($380 \text{ nm} < \text{ } < 780 \text{ nm}$) 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 instrumentales 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, fácilmente reproducible. Entre los métodos más utilizados se encuentran los utilizados en medidas espectrofotométricas

y posterior tratamiento matemático de los distintos parámetros indicativos del color.

3.5.1.- Espacio físico de colores definido por la Comisión Internationale de l'Eclairage (C.I.E.)

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 reconstruir cualquier estímulo coloreado mediante una mezcla de cantidades adecuadas de tres estímulos fundamentales del color. La CIE estableció como colores fundamentales 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 X, Y, o Z, diferentes de cero, donde X, Y, o 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.

$$X = \frac{X}{X+Y+Z} \quad Y = \frac{Y}{X+Y+Z} \quad Z = \frac{Z}{X+Y+Z}$$

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

$$L^* = 116 \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{1/3} - 16 \quad a^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_0} \right)^{1/3} - \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{1/3} \right]$$

donde X, Y, Z son los valores triestímulos CIE correspondientes a la muestra, y X_0 , Y_0 , Z_0 , las correspondientes al estímulo de referencia blanco, o iluminante 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° y 10° .

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 y DE^*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:

$$\text{TONO } (^{\circ}) = \arctan (b^*/a^*) \times 57,3$$

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 abscisas 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 disminuye 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:

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

corresponde al radio del círculo del espacio bidimensional de color CIELAB, que es la distancia entre el punto (a^* , b^*) al origen de coordenadas ([Figura 1-10](#)). 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 es:

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

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 ([Figura 1-10](#)). 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 único 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:

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

siendo en este caso:

$$\Delta L^* = L^* - L^*_o \quad \Delta a^* = a^* - a^*_o \quad \Delta b^* = b^* - b^*_o$$

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 evaluación 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° . También se han establecido las relaciones entre los valores colorimétricos y el contenido de antocianos de la piel de los frutos.

OBJETIVOS

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

a) Riego

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 climáticas diferentes en los tres años en que se realizaron las experiencias, en la síntesis de antocianos.

CAPÍTULO I :

**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 bicolors 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 estudiado 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).

'*Early Red One*'(Erovan), (*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 homogéneo en el conjunto del árbol, por lo que la recolección puede realizarse en una sola pasada, incluso en zonas poco favorables a la coloración. Calibre medio y homogéneo.

'*Topred Delicious*' (*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*'.

'*Starking Delicious*' (*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 homogéneo (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 homogéneo, 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 *Phytophthora*.

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 *Phytophthora*.

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 -Situación

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 E₂), la situada en Torrefarrera a la Zona-5 (Unidad G₃) y las de Mollerussa y El Poal a la Zona-6 (Unidad H₂). 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 –Suelo

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 [Cuadro 8](#), (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)	M. Orgánica (%)	Fosforo (P)ppm	Potasio (K)ppm	Caliza activa (%)	Textura (USDA)
Juneda	8,2	0,28	1,8	18	143	9,9	Franco-limosa
Torrefarrera	8,3	0,21	3,1	25	138	7,2	Franco-limosa
Mollerussa	8,1	0,37	2,2	38	233	11,1	Fr.-arci.-limosa
El Poal	7,9	0,25	1,8	61,5	159	6,5	Fr.-are.-arcillosa

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 porcentajes 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 mes 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 dio 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 prácticamente despreciables y muy irregulares. El mes 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 humedad- en 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 termohigrógrafos 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, manteniéndose 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 termómetro digital 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 [Cuadro 10](#). (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 jóvenes 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	Varietal/Patrón	Año de plantación	Marco de plantación	Sistema de formación	Superficie y Riego	Protección antihelada
Juneda	<i>Oregón Spur/ MM-111</i> <i>Early Red One/ MM-106</i>	1988	4 x 1,7m	Pal-spindle	1,7 haManta	Aspersión
Torrefarrera	<i>TopredDelicious/ M- 7</i>	1987	3,8 x 2,4m	Palmeta	2,8 haManta	Aspersión
Mollerussa	<i>Starking Deficious/ M- 7</i>	1971	4 x 2,5m	Palmeta	2,1 haManta	Aspersión
El Poal	<i>Mondial GalaIM-26</i>	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 una buena regularidad, lo que era deseable a la hora de plantear los diferentes ensayos.

[Figura 1-14](#)

[Figura 1-16](#)

[Figura 1-15](#)

[Figura 1-17](#)

1.6.- Técnicas culturales

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 dosis 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 intervalo 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 correspondientes al agua que se utilizaría para riego refrescante. Los resultados obtenidos figuran en el [Cuadro 11](#) (ver tabla siguiente)

Finca	Juneda El Poal	Torrefarrera	Mollerussa
Procedencia del agua	Canal d'Urgell	Canal de Pinyana	Pozo(zona Canal d'Urgell)
pH	8	7,8	8,1
C.E a 25°C (dS/m)	0,6	0,5	0,4
Na ⁺ (meq/l)	1,5	0,3	0,8
Ca ⁺⁺ (meq/l)	3,2	1,4	2,7
Mg ⁺⁺ (meq/l)	2,5	0,27	4,4
Ca ⁺⁺ + Mg ⁺⁺ (meq/l)	5,7	1,67	7,1
K ⁺ (meq/l)	0,2	0,02	0,06
Cl ⁻ (meq/l)	0,9	0,2	0,7
SO ₄ ⁼ (meq/l)	4,0	0,4	inap.
CO ₃ ⁼ (meq/l)	inap.	inap.	inap.
CO ₃ H ⁻ (meq/l)	2,7	1,4	inap.
CO ₃ ⁼ + CO ₃ H ⁻ (meq/l)	2,7	1,4	inap.
SAR	0,9	0,27	0,42

Cuadro 11: Resultados analíticos 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 Índice 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⁺⁺ o de (HCO₃⁻ + CO₃), 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 [Cuadro 12](#) (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 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 4,4 mm.

Finca	Variedades	Años de ensayo	Aspersores: pluviometría	Estrategias de riego	Duración riego	Frecuencia riego	Inicio riego
Juneda	<i>Oregón Spur</i>	1992		15 - 17 h			25-40 días
	<i>Early R. One</i>	1993	4 l/m ² -h	21 - 23h	2 horas	Diaria	
		1994		Testigo			
Torrefarrera	<i>Topred</i>	1993	4 l/m ² -h	15 - 17 h	2 horas	Diaria	antes de la
		1994		21 - 23h 6-8 h (1994) Testigo			
El Poal	<i>M Gala</i>	1993 1994	4,5 l/m ² -h	15 - 17 h 21 - 23h Testigo	2 horas	Diaria	
Mollerussa	<i>Starking.</i>	1993	5 l/m ² -h	Aspersión			Mediados
		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.

(*) 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 intervalos: N = 110-140 U.F./ha; P₂ O₅ = 20-60 U.F./ha; K₂ O = 120-160 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, subdividiéndolo 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 [Cuadro 13](#) (*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 aplicadas	Año	Localización
Evaluación de estrategias de riego refrescante por aspersión a diferentes horas del día	1.- Variedades 'Early Red One' y 'Oregón Spur'	1992	Juneda
	RIEGO: Noche, Mediodía, Testigo	1993	
		1994	
	2.- Variedad 'Topred Delicious'	1993	Torrefarrera
RIEGO: Noche, Mediodía, Testigo. Amanecer (1994)	1994		
Comparación de dos sistemas de riego	3. - Variedad 'Mondial Gala'	1993	El Poal
	RIEGO: Noche, Mediodía, Testigo	1994	
	4.- Variedad 'Starking Delicious'	1993	Mollerussa
	RIEGO: Manta, Aspersión	1994	

Cuadro 13: Resumen de las experiencias de riego 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 las fechas en que se realizaron los muestreos de precolección y recolección, así como las determinaciones realizadas en los mismos.

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, iniciándose 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 intervalo 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 inicio, 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 [Cuadro 14](#). 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 *Cuadro 14 (figura 1-18)*; dado que el desarrollo del color se produce en la mayoría de variedades rojas de manzana a partir de los 20 días antes de la recolección (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 [Cuadro 14](#), 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 porcentajes 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 recolecciones 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 porcentajes 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 portátil Minolta Chroma Meter CR-200, que lleva incorporado el iluminante D₆₅ con un ángulo de observación de 2°. El colorímetro previamente a la realización de las lecturas se calibró en condiciones del iluminante D₆₅ con placa de porcelana tipo CR-A₄₃, 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 ([Cuadro 14](#)). En cada fecha y una vez recolectadas las manzanas, se determinó el color de las mismas en base al esquema representado en las *Figuras 1-19 y 1-20*, 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 era 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 pérdidas en la luz reflejada y por tanto variaciones no deseadas en las lecturas.

Dicho instrumento posee una ventana de medición de 8 mm de diámetro, 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 D₆₅, 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'Eclairage (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 fácilmente 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 gráficamente 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 [Cuadro 14](#) 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 (CIH)-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 extraídos.

La determinación cuantitativa de los antocianos, se realizó midiendo la absorbancia de la solución a 532 nm, mediante un espectrofotómetro 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 desequilibra con facilidad.

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

$$\frac{\text{Abs}}{3,43 \times 10^4} \times \frac{5}{1000} \times \frac{1}{S} \times 10^9 = \text{nmoles/cm}^2$$

donde:

Abs: *absorbancia proporcionada por el espectrofotómetro.*

$3,43 \times 10^4$: *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 cm².*

10^9 : *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 realizadas 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 extraído los discos de piel para la cuantificación de los antocianos (2-3 horas después de su recolección).

3) La piel se congela en nitrógeno 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 enzimática de este enzima han sido:

*** Preparación de tampones**

La función de los tampones es solubilizar las proteínas 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 actúa 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 aproximadamente 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 homogénea que se congela por la adición de nitrógeno líquido (-160°C), posteriormente se irá licuando, evitando en todo momento su exposición a la luz.

El PVP es un polímero 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 de centrifuga "ependorf", de 1 ml cada uno y se centrifuga durante 10 minutos a 17.000 rpm a temperatura de 1°C. Se produce la precipitación de los fenoles, de las membranas y del resto de estructuras celulares con el PVP, recuperando y midiendo el sobrenadante.

3) Fraccionamiento de las partículas por precipitación selectiva mediante la adición de sales: 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 interactuar 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 proteínas deseadas. Después de añadir el sulfato al 30%, el extracto se agita y se divide en 8 tubos de centrifuga "ependorf", 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) Purificación del extracto enzimático por filtración molecular: El sulfato amónico añadido para provocar la precipitación selectiva inhibe la acción de la actividad enzimática,

para evitarlo, se hace pasar el extracto a través 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 espectrofotómetro 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 términos 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:

$$\frac{\text{Abs}}{17400} \times 3,1\text{ml} \times \frac{1\text{l}}{1000\text{ml}} \times \frac{1}{4\text{g}} \times \frac{1\text{h}}{3600\text{s}} \times \frac{1000\text{g}}{1\text{Kg}} \times$$

$10^9 = \text{nkat/kg}$ peso fresco

donde:

Abs: *absorbancia proporcionada por el espectrofotómetro.*

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.*

10^9 : *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 esquema de toma de muestras, tanto en prerecolección como en recolección, se expone en las *Figuras 1-19* y *1-20*. 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 individualmente 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 rápidamente 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 porcentajes 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 conjunta 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, extraído 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 fenolftaleína, 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 uniformidad, se tradujo 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 sí 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 fue de 1.000 m². 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, fue en todos los casos superior a 50 m.

La unidad de muestreo dentro de cada árbol fue 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) Independencia de las parcelas. 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) Homogeneidad de las parcelas. 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 hipótesis 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 homogéneas. 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 ([Cuadro 15](#), 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 factores utilizados para el análisis de la varianza, fueron los siguientes: año, fecha de muestreo, variedad (cuando en el mismo ensayo había más de una variedad), riego, árbol, fruto y cara. La naturaleza de dichos factores (fijos- aleatorios), así como la relación entre ellos (cruzados-jerarquizados), se expone en el [Cuadro 15](#) (*tabla 1-14*). A partir de dicha información, se construyeron los **modelos para el análisis 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; 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 modelos 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 precolección, 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 porcentaje 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^2) entre dichas variables. El cálculo de los modelos de regresión, su significación, los intervalos 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 colorimétricas en el modelo, se analizaron mediante los procedimientos PROC CORR y PROC UNIVARIATE, y posteriormente mediante el método FORWARD 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.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.- VARIETADES '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 difícil 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 diferenciando de forma importante entre años; correspondiendo también la mayor diferencia entre humedades máxima 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 estrecha 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.- Efecto del riego refrescante por aspersion en la temperatura y en la humedad 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 aspersion, 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 anochecer (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 porcentajes 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 sí existente (vease testigo) y incrementada por el efecto del riego.

Tanto en el testigo 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). La disminución de las temperaturas mínimas incrementa la síntesis de antocianos, al reducir la pérdida de azúcares a lo largo de la noche a través 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 azúcares, 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 difícil 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 prácticamente 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.- Efecto del riego por aspersión en la evolución de los parámetros colorimétricos del fruto

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 simultáneamente el contenido de antocianos, para posteriormente relacionar ambas variables. Las coordenadas colorimétricas 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 (R^2), 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 homogénea (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 portátil 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 fácil 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 únicamente 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 Cuadro 16 (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 '*Early Red One*', en el momento de la recolección 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 fechas previas 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	'EARLY RED ONE											
Parámetro/ Riego	29/julio			11/agosto			25/agosto			8/septie. (recolección)		
	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
L*												
Noche	60,1 ⁺ a	58,5 ⁺⁺ a	62 ⁺⁺ a	49,9 ⁺ b	48,4 ⁺⁺ b	52,2 ⁺⁺ b	47,1 ⁺ a	45 ⁺⁺ a	49 ⁺⁺ a	39,5* b	38** a	41**a
Mediodía	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
Testigo a*	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
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
Mediodía	-5,6 a	-2,9a	-8,4a	11,9a	14,7a	9,1a	17,2 b	20,2 b	14,3ab	26,3a	28,1 b	24,6a
Testigo a*/b*	-6,1 a	-2,3a	-9,8a	10,3a	11,7 b	8,9a	16,5 c	19,8 b	13,2 b	27,1a	29,2 ab	25,2 a
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
Mediodía	-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
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 (
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
Mediodía	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
Testigo	101,2 a	93,4a	107,9a	67,2a	60,3 a	85,8 a	51,4 a	44,5a	56,5a	33,5 b	34,0a	34,0a
	'OREGONSPUR'											
L*												
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
Mediodía	65,6 a	64,0a	67,4a	58,8 b	54,2 ab	63,5 a	56,5 b	51,3 b	60,9a	42,1a	36,0 ab	48,1 a
Testigo a*	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
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
Mediodía	-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	29,1a	17,1ab
Testigo a*/b*	-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
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
Mediodía	-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
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)												
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
Mediodía	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	45,8ab	33,0 ab	58,1 b
Testigo	105,7 a	101,0a	110,4a	82,0a	91,2 a	107,7 a	83,9 a	-9,2 a	98,5a	50,0a	36,5a	

Cuadro 16: Valores medios y separación de medias de los parámetros colorimétricos, 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 'Oregon Spur', bajo dos estrategias de riego refrescante, año 1992. Tratamientos con la misma letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0,05$).

(⁺)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 el momento de la recolección de la variedad '*Oregón Spur*', 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 '*Early Red One*', debido a la menor coloración de esta variedad.

En la fecha previa a la recolección 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 retrasó 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 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 colorimétricos, 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 recolección, 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		'EARLY RED ONE'								
Parámetro	Riego	12/agosto			25/agosto			8/septiembre (recolección)		
ro		Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CV	CV
L*	Noche	54,2 ⁺ a	47,3 ⁺⁺ a	62,6 ⁺⁺ a	48,9 ⁺ a	40,6 ⁺⁺ b	57,2 ⁺⁺ a	40,8 ⁰ a	34,7 ⁰⁰ a	46,9 ⁰⁰ a
	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	41,1 a	35,4 a	46,9 a
a*/b*	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
	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
Tono (°)	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
	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	32,1 a	20,5 a	43,8 a
DE*	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
	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	53,7 a	70,1 a	58,2 a	50,5 a	66,2 a	50,8 a	45,4 a	56,3 a
'OREGON SPUR'										
		Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
L*	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
	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
a*/b*	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
	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
Tono (°)	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
	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
	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
DE*	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
	Mediodía	66,6 a	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 colorimétricos, 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 'Oregon Spur', bajo dos estrategias de riego refrescante, año 1993. Tratamientos con la misma letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0,05$).

* 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).

1994		'EARLY RED ONE'								
Parámetro	Riego	9/agosto			22/agosto			S/septiembre (recolección)		
		Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	CV
L*	Noche	58,5 a	56,1 a	61,0 a	51,7 a	48,2 b	55,2 a	47,1 b	41,1 a	53,2 b
	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	59,1 a
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	16,1 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
a*/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
	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
Tono (°)	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
	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	58,1 a	41,0 a	75,2 a
		'OREGONSPUR'								
		Total	CR	CV	Total	CR	CV	Total	CR	C
L*	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
	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
a*	Noche	-8,9 a	-8,7 a	-9,1 a	5,4 a	12,4 a	-1,7 a	18,1 a	25,3 a	10,8 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
a*/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
	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
Tono (°)	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
	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
	Testigo	103,7a	105,4a	102,1a	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 colorimétricos, 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 'Oregon Spur', bajo dos estrategias de riego refrescante, año 1994. Tratamientos con la misma letra en las columnas, no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0,05$).

Para la variedad 'Early Red One', en el momento de la recolección, 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 fecha previa 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 colorimétricos se vieron influenciados por el riego.

En 'Oregon Spur', las diferencias entre los tratamientos de riego y el testigo, fueron más manifiestas, que en 'Early Red One'; igualmente ocurrió entre riegos. En la recolección, 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 vio influenciado por el efecto del riego refrescante, correspondiendo los mayores

valores de a^* y de a^*/b^* , al riego al anochecer.

En la fecha previa 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 '*Early Red One*', 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 desde el punto de vista del color. En experiencias realizadas en la presente Tesis con las variedades '*Topred Delicious*' y '*Starking Delicious*', 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 '*Oregón Spur*', 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 difícil, 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 a 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 colorimétricos 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 colorimetría 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 determinaciones 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 '*Early Red One*', en la recolección, 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 fecha previa 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.

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 dos caras del fruto, ha presentado diferencias entre años, entre tratamientos, y entre variedades (*Figuras 1-27 y 1-28*).

Para la variedad '*Early Red One*' (*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 '*Oregón Spur*', 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 difícil, 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 parámetros 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 colorimetría 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 observaciones 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 pérdida de azúcares a lo largo de la noche a través 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 consistido 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 difícil 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 [Cuadro 20](#) (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			
	Anto.	L*	a*/b*	Tono	Anto.	L*	a*/b*	Tono	Anto.	L*	a*/b*	Tono
EarlyRed One												
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												
Oregón Spur												
ARBOLx	ns	ns	*	*	ns	*	ns	ns	*	ns	**	*
RIEGO												
AP, x RIL x	ns	*	**	**	*	*	*	ns	*	ns	**	**
FRUTO												
CARA	**	**	**	ns	**	**	**	ns	**	**	**	**
RIEGO x	*	**	*	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	*	ns
CARA												

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 =0,05 y =0,01; 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 fue 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, fue menos homogéneo con respecto a '*Early Red One*'; resultados análogos se han obtenido en el Capítulo II.

La interacción triple *árbol x riego x fruto*, fue 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, fue 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 homogénea 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 homogéneo, 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 homogéneo 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.- Análisis conjunto años 1992, 1993 y 1994. Influencia de los factores riego, año y variedad

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 fecha, 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 [Cuadro 21 \(tabla 1-20\)](#), 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'					
Parámetro	Riego	DETERMINACIONES (FECHAS)			Interacción
		1: Primera	2: Segunda	3:Recolección	
L*	Noche	54,6 a	50,1 a	42,9 a	ns
	Mediodía	56,5 a	50,7 a	42,1 a	
	Testigo	55,7 a	50,8 a	49,7 a	
a*/b*	Noche	0,35 a	0,90 a	1,7 a	ns
	Mediodía	0,29 a	0,83 a	1,6 a	
	Testigo	0,40 a	0,76 a	1,4 a	
Tono (°)	Noche	77,0 a	55,2 a	35,8 a	ns
	Mediodía	79,6 a	54,0 a	38,6 a	
	Testigo	75,2 a	58,1 a	41,3 a	
'OREGONSPUR'					
L*	Noche	59,1 a	54,7 b	45,8 a	ns
	Mediodía	61,5 a	56,3 ab	48,0 a	
	Testigo	60,4 a	57,2 a	47,1 a	
a*/b*	Noche	0,04 a	0,60 a	1,42 a	
	Mediodía	0,07 a	0,38 b	1,18 b	
	Testigo	0,09 a	0,25 b	0,95 c	
Tono (°)	Noche	86,6 a	67,4 a	40,8 a	ns
	Mediodía	91,6 a	72,5 ab	48,1 b	
	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 años 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 colorimétricos, 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 variedad 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 a 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 fecha, 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 respecto 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 año. En las experiencias realizadas durante los años 1992, 1993 y 1994, 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 los 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 variedad 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 manifiesto la influencia 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 el 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 también 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 actúa 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 observado 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 la PAL, es diferente a la de la síntesis de antocianos, a pesar 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 determinación fueron:

$$y = 0,92 e^{0,72 \cdot x} R^2 = 0,98$$

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, actúan 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 ([Figura 1-73](#)), 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 portátil, 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 según 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 recolección 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 regresión lineal múltiple, obtenidos para 1993 + 1994 (conjuntamente), 1993, 1994, cara roja (1993+1994) y verde (1993+1994), figuran en el Cuadro 22 (tabla 1-21). Todos los modelos de regresión fueron altamente significativos (**: $\alpha=0,01$).

Período/cara	Ecuación del modelos de regresión: 'EARLY RED ONE' [Intervalo de confianza]*	R ²
1993 + 1994	$y = 6,3 - 0,46 a^* + 24,4 (a^*/b^*)$ a* = [-0,24 -0,68]; a*/ b* = [26,6 21,9]	0,70
1993	$y = -7,6 + 24,8 (a^*/b^*)$ a*/b*=[26,1 23,4]	0,85**
1994	$y = -2,6 + 16,3 L^* - 3,9 b^* + 11,5 \text{ sat.} -17,9 \text{ DE}^*$ L* = [30,3 2,3]; b* [-2,4 -5,4]; sat. = [21,2 2,8]; DE* = [-1,9 33,9];	0,63
Cara roja	$y = 4,5 + 20,5 (a^*/b^*)$ a*/b* = [23,3 17,7]	0,58 **
Cara verde	$y = 21,1 - 1,6 b^* + 1,1 \text{ sat.}$ b* = [-1,37 -1,81]; Sat. =[1,48 0,68]	0,47 **
	'OREGÓN SPUR'	
1993 + 1994	$y = -31,6 + 1,2 b^* + 27,3 (a^*/b^*)$ b* = [1,7 * -0,76]; a*/b*=[30,9 23,6]	0,74**
1993	$y = 20,9 - 2,3 a^* - 2,2 b^* + 36,1 (a^*/b^*) - 0,8$ Tono a* = [-1,5 -3]; b* = [3,4 0,9]; a*/b* = [41,2 31,1]; Tono = [-0,26 * -1,42]	0,91 **
1994	$y = 10,7 + 12,6 (a^*/b^*)$ a*/b* [14,4 10,8]	0,58**
Cara roja	$y = -58,7 + 2,6 b^* + 32,3 (a^*/b^*)$ b* = [3,7 1,4]; a*/b*=[39,1 25,4]	0,52 **
Cara verde	$y = -30,2 + 25,3 (a^*/b^*) - 0,45 \text{ Tono}$ a*/b* = [30,1 20,5]; Tono = [0,57 0,33]	0,45**

Cuadro 22. Modelos de regresión lineal múltiple, intervalos 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 'Oregon Spur' en el momento de la recolección. Años 1993 y 1994.

(y): contenido de antocianos.

(*) nivel de significación =0,05.

(**): nivel de significación =0,01.

En la variedad 'Early Red One', el valor del coeficiente de determinación (R²), para 1993 y 1994 conjuntamente, fué de 0,70; mientras que considerando unicamente 1993, se elevó a 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^2 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^2 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 regresión simple entre el contenido de antocianos y los valores colorimétricos; 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 R^2) 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 1993 proporcionaron los mejores ajustes; así, para '*Early Red One*' los mejores coeficientes de determinación (R^2) 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 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 colorimétrico 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 correspondieron, 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. Posteriormente, se relacionó dicho parámetro con el contenido de antocianos de los mismos, calculando diferentes modelos de regresión simple; los valores de los coeficientes de 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 R^2 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 porcentaje 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 x RIEGO
Calibre¹ (mm)	<i>Noche</i>	79,1 a	76,5 b	82,3 ab	ns
	<i>Mediodía</i>	81,9 a	77,2 a	83,0 a	
	<i>Testigo</i>	74,8 b	75,6 e	81,5 b	
Firmeza² (kg)	<i>Noche</i>	7,6 b	7,2 b	6,5 ab	*
	<i>Mediodía</i>	7,8 a	7,4 a	6,6 a	
	<i>Testigo</i>	7,3 c	7,0 c	6,3 b	
Sólidos Solubles³ (°Brix)	<i>Noche</i>	9,9 b	11,6 b	12,8 a	**
	<i>Mediodía</i>	10,7 a	11,3 ab	12,6 ab	
	<i>Testigo</i>	10,5 a	11,7 a	12,4 b	
Acidez³ (g/l)	<i>Noche</i>	2,6 b	2,4 ab	2,1 a	**
	<i>Mediodía</i>	2,5 b	2,5 a	2,2 a	
	<i>Testigo</i>	2,7 a	2,3 b	2,2 a	
Sólidos s./ acidez³	<i>Noche</i>	3,8 a	4,8 a	6,0 a	**
	<i>Mediodía</i>	4,2 b	4,5 b	5,8 ab	
	<i>Testigo</i>	3,9 a	4,9 a	5,6 b	
'OREGONSPUR'					
Calibre¹ (mm)	<i>Noche</i>	79,1 ab	78,9 b	80,1 a	ns
	<i>Mediodía</i>	79,4 a	80,3 a	80,9 a	
	<i>Testigo</i>	78,7 b	78,7 b	79,5 a	
Firmeza² (kg)	<i>Noche</i>	7,8 a	7,0 b	6,6 ab	**
	<i>Mediodía</i>	7,7 a	7,2 a	6,7 a	
	<i>Testigo</i>	7,3 b	6,7 e	6,4 b	
Sólidos Solubles³ (°Brix)	<i>Noche</i>	11,4 b	11,6 b	12,8 a	**
	<i>Mediodía</i>	10,8 a	11,7 b	12,6 b	
	<i>Testigo</i>	11,2 b	11,9a	12,5 b	
Acidez³ (g/l)	<i>Noche</i>	2,3 b	2,3 b	2,3 b	**
	<i>Mediodía</i>	2,5 b	2,5 a	2,3 b	
	<i>Testigo</i>	2,9 a	2,6 a	2,1 a	
Sólidos s./ acidez³	<i>Noche</i>	4,9 a	4,9 a	5,5 b	**
	<i>Mediodía</i>	4,3 b	4,6 b	5,4 b	
	<i>Testigo</i>	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 Red One' y 'Oregon 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 *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 $\alpha = 0,05$ 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 vio mejorada por el riego refrescante, dado que se obtuvieron los mayores valores para el riego al mediodía y los menores para el testigo, a