

DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN PEDICELO Y FRUTO DE *Citrus sinensis* (L.) Osbeck DURANTE EL CRECIMIENTO INICIAL

Libia E. Laskowski

RESUMEN

A fin de establecer los cambios en el contenido de carbohidratos solubles en pedicelo y fruto de naranja dulce, *Citrus sinensis* 'Salustiana', se evaluaron plantas en ambiente mediterráneo, en Valencia, España. Desde la antesis hasta 118 después (dda) de ella, se determinó la masa seca del pedicelo, pericarpio y vesículas, y se cuantificó los niveles de glucosa, fructosa y sacarosa empleando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En el pedicelo se registró un máximo de 14% de carbohidratos solubles al momento de la antesis, y desde 62dda hasta el final del estudio los niveles de glucosa y fructosa fue-

ron imperceptibles y la sacarosa se mantuvo baja y constante (5%), coincidiendo con la mayor tasa de crecimiento. En el fruto se observó un incremento progresivo en el contenido de carbohidratos solubles, a mayor tasa a partir de los 48dda, coincidiendo inicialmente con el incremento en masa seca del pericarpio, y luego de 76 dda con el desarrollo de las vesículas. Al final del estudio, en el fruto se registró 25% de carbohidratos reductores y 18,5% de sacarosa, principalmente en las vesículas, las cuales sustituyen al pericarpio como órgano de reserva.

Introducción

En la determinación del valor comercial de una cosecha de cítricos, el tamaño del fruto y la calidad del jugo constituyen los parámetros de mayor importancia, los cuales están regulados por factores genéticos y ambientales. En relación al crecimiento del fruto, inicialmente y bajo condiciones favorables, su tasa depende de la acumulación de materia seca y agua, y luego de una fase exponencial, está limitado básicamente por la incorporación de agua (Guardiola y García-Luis, 2000; García-Luis *et al.*, 2003).

El transporte de fotoasimilados y agua al joven fruto requiere a su vez de un rápido desarrollo del tejido vascular del pedicelo, lo cual puede constituir un factor limitante durante la primera fase de crecimiento si se considera que la movilización de la sacarosa al fruto ocurre a través del floema del pedicelo hasta los haces del albedo (Koch

y Avigne, 1990; Burns *et al.*, 1992). Parte de la sacarosa es metabolizada en el albedo y desde allí los azúcares reductores difunden a las vesículas donde se acumulan. Esta hidrólisis de la sacarosa puede variar a medida que ocurre el crecimiento del fruto, metabolismo finamente regulado por los niveles de carbohidratos en la planta (Li *et al.*, 2003, Rivas *et al.*, 2007).

En ambientes subtropicales, el contenido en carbohidratos de reserva en los cítricos, fundamentalmente de almidón, alcanza en las hojas adultas un valor máximo al principio de la floración y se movilizan durante el desarrollo del fruto (Goldschmidt *et al.*, 1985). Sin embargo, las pautas de movilización de los carbohidratos de reserva en la planta varían con la especie, observándose desde una movilización gradual que se extiende desde antesis hasta el fin de la caída de junio (Sanz *et al.*, 1987), hasta un consumo rápido durante la post-antesis que

conduce a un mínimo en las reservas en un plazo de 4-6 semanas (Ruiz *et al.*, 2001).

En *Citrus sinensis* 'Salustiana', Almeida (2003) ha descrito la pauta de movilización de los carbohidratos en la planta, observándose una rápida disminución de las reservas de carbohidratos presentes en raíces y hojas durante la floración, un aumento transitorio de estos niveles al inicio de la abscisión de los frutos y franca disminución hasta un valor mínimo al final del periodo de abscisión fisiológica, con lo cual la nutrición del fruto pasa a depender de la fotosíntesis más que de las reservas del árbol. Se desconoce, sin embargo, la pauta de movilización de los carbohidratos no estructurales en el pedicelo y fruto a medida que ocurre su desarrollo, aspectos relevantes en el conocimiento sobre la relación entre la tasa de crecimiento del fruto y la disponibilidad de carbohidratos. El presente trabajo tiene como objetivo determinar los

cambios en el contenido de los carbohidratos reductores (glucosa y fructosa) y no reductores (sacarosa) en relación con el crecimiento inicial del pedicelo y el fruto de *Citrus sinensis* 'Salustiana'.

Materiales y Metodos

Material vegetal y toma de muestras

El estudio se realizó en naranja dulce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) 'Salustiana', injertado sobre patrón citrange 'Troyer' (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck × *Citrus trifoliata* (L.) Raf.), empleando plantas de un huerto ubicado en Valencia, España, a 17msnm, bajo condiciones climáticas del mediterráneo seco, caracterizado por presentar inviernos suaves y veranos largos, secos y muy calurosos, mientras que las escasas precipitaciones se concentran en otoño y primavera. La plantación contó con riego, fertilización y control fitosanitario adecuados. Se se-

PALABRAS CLAVE / Cítricos / Contenido de Azúcares / Desarrollo del Fruto / HPLC /

Recibido: 05/03/2009. Modificado: 19/04/2010. Aceptado: 20/04/2010.

Libia E. Laskowski. Licenciada en Biología, Universidad de los Andes (ULA), Venezuela. M.Sc. en Horticultura, Univer-

sidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), Venezuela. Doctora en Biología Vegetal, Universidad Politécnica

de Valencia, España. Profesora, UCLA, Venezuela. Dirección: Decanato de Agronomía, UCLA. Apto 400. Barquisi-

meto, estado Lara, Venezuela. e-mail: llaskowski@ucla.edu.ve

SOLUBLE CARBOHYDRATES CONTENT IN PEDICEL AND FRUIT DURING THE INITIAL GROWTH OF *Citrus sinensis* (L.) Osbeck

Libia E. Laskowski

SUMMARY

To establish the changes in the content of soluble carbohydrates during the initial growth of the pedicel and fruit of the sweet orange *Citrus sinensis* 'Salustiana', plants growing under mediterranean environment were evaluated in Valencia, Spain. Reproductive structures were collected from anthesis up to 118 days afterwards (daa). Dry mass of pedicels, pericarp and vesicles was determined, as well as levels of glucose, fructose and sucrose, which were quantified by HPLC. In pedicels, a maximum of 14% of soluble carbohydrates was recorded at the time

of the anthesis; from 62dda until the end of the study, fructose and glucose levels were undetectable, and sucrose content stayed low and constant (5%), coinciding with the greater rate of pedicel growth. The fruit soluble carbohydrate content increased progressively and steadily from 48dda, coinciding initially with the increase in pericarp dry mass, and after 76dda with vesicle development. At the end of the study, 25% of reducing carbohydrates and 18.5% of sucrose were recorded in fruits, mainly in vesicles, which replaced the pericarp as a reserve organ.

DETERMINAÇÃO DE CARBOIDRATOS SOLÚVEIS EM PEDICELO E FRUTO DE *Citrus sinensis* (L.) Osbeck DURANTE O CRESCIMENTO INICIAL

Libia E. Laskowski

RESUMO

Com o fim de estabelecer as mudanças no conteúdo de carboidratos solúveis em pedicelo e fruto de laranja doce, *Citrus sinensis* 'Salustiana', se avaliaram plantas em ambiente mediterrâneo, em Valencia, Espanha. Apartir da antese até 118 depois (dda) dela, foi determinada a massa seca do pedicelo, pericarpo e vesículas, e foram quantificados os níveis de glicose, frutose e sacarose empregando cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). No pedicelo foi registrado um máximo de 14% de carboidratos solúveis ao momento da antese, e desde 62dda até o final do estudo os níveis de glicose e frutose

foram imperceptíveis e a sacarose se manteve baixa e constante (5%), coincidindo com a maior taxa de crescimento. No fruto foi observado um incremento progressivo no conteúdo de carboidratos solúveis, a maior taxa apartir dos 48dda, coincidindo inicialmente com o incremento de massa seca do pericarpo, e logo de 76 dda com o desenvolvimento das vesículas. No final do estudo, no fruto foi registrado 25% de carboidratos redutores e 18,5% de sacarose, principalmente nas vesículas, as quais substituem ao pericarpo como órgão de reserva.

leccionaron 25 árboles al azar con características similares en vigor y nivel de floración y se etiquetaron un total de 152 brotes uniflorales con 4-5 hojas, recién en antesis, para ser utilizados como patrón de referencia del estado de desarrollo del fruto durante el estudio. Se realizaron nueve muestreos de órganos reproductivos con su pedicelo desde antesis hasta 118 días después de antesis (dda), en intervalos de tiempo entre 10 y 14 días. El tamaño de la muestra varió en función de la masa seca, tomando entre 300 flores y 40 frutos a medida que ocurrió el crecimiento del fruto. En cada fecha la muestra se dividió al azar en dos submuestras.

Variables bajo estudio

Como parámetro de crecimiento se determinó la masa seca del pedicelo y del fru-

to (pericarpo y vesículas). Como variables bioquímicas asociadas al crecimiento se determinó la concentración de carboidratos reductores (glucosa y fructosa) y no reductores (sacarosa), todo ello durante el periodo de tiempo comprendido entre la antesis floral y la caída fisiológica del fruto o caída de junio.

Contenido de carboidratos en pedicelo y frutos

En el laboratorio, empleando un bisturí, los pedicelos fueron cortados entre el cáliz y el tallo, a los frutos se le eliminó externamente el estilo y el cáliz, y a partir del tercer muestreo se separaron las vesículas del pericarpo y se desechó el eje y septos (Laskowski *et al.*, 2006). Todo el material vegetal se liofilizó durante 24-48h y se determinó la masa seca de las dos submuestras utilizando una

balanza de precisión. Cada muestra de pedicelos, pericarpo y vesículas fue pulverizada y guardada en congelador a -20°C para la posterior determinación de los niveles de carboidratos utilizando cromatografía líquida de alta precisión (HPLC), que incluyó extracción, purificación y separación cromatográfica.

Para la extracción de los carboidratos, 1g de peso seco de cada una de las submuestras vegetales fueron homogenizadas en 35ml de metanol 80% con 100mg·l⁻¹ de HTB (hidroxitoluenobutilado, Sigma) a 4°C por 20h. El extracto fue centrifugado y re-extraído dos veces por 3h, hasta completar 85ml de metanol. Luego, el extracto fue centrifugado a 12000rpm, evaporado a sequedad y resuspendido en 10ml de acetato amónico 10mM. Se prepurificó en columnas de PVPP (polyvinylpyrrolidona,

Sigma) de 20ml, utilizando como eluyente 50ml de acetato amónico 10mM, y el eluato obtenido se recogió en dos fracciones utilizando frascos color topacio. De acuerdo con análisis previos, los primeros 20ml de eluato contenían los carboidratos solubles y se utilizaron para la purificación y determinación de carboidratos por HPLC (fracción carboidratos solubles).

Para la purificación de los carboidratos se conectaron cartuchos C18 (Waters) a jeringas desechables plásticas y se acondicionaron pasando 10ml de metanol y a continuación 10ml de ácido acético 0,1M. Los 20ml de las muestras correspondientes a la fracción de carboidratos resultantes de la prepurificación fueron acidificados con ácido acético glacial (0,2ml en 10ml del extracto) y cargadas en el cartucho, recogiendo el eluato en un frasco de rotavapor. Los

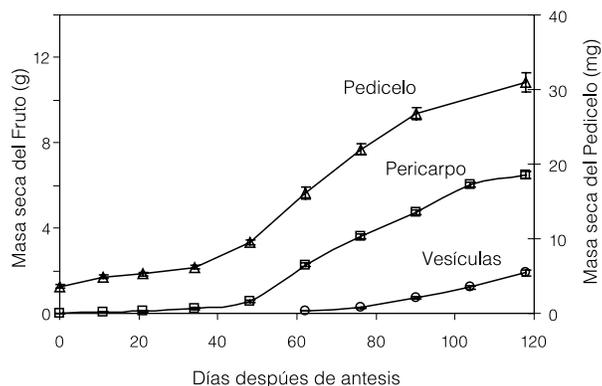


Figura 1. Cambios en la masa seca del fruto (g) y el pedicelo (mg) de *Citrus sinensis* 'Salustiana' durante su crecimiento inicial. Las barras representan el error estándar de dos muestras independientes. Δ : pedicelo, \circ : vesícula, \square : pericarpo.

cartuchos fueron lavados con 5ml de ácido acético 0,1M y se recogió los primeros 2ml del eluato, que se añadieron al extracto anterior. Se evaporó con rotavapor (Eyela) a 50°C hasta sequedad. Se añadió 2ml de agua Milli Q, se filtró con millipore tipo HV de 0,45 μ y se guardó en el congelador en tubos Eppendorf. La separación de los carbohidratos se llevó a cabo en una columna Tracer Carbohidrat (25 0,46cm) de tamaño de partícula, equipada con precolumna para carbohidratos de Teknokroma. Se tomó 20 μ l del extracto conteniendo entre 100 y 500 μ g de carbohidratos y se eluyó con un flujo de 1,5ml \cdot min⁻¹ de acetonitrilo:agua (80% acetonitrilo para la separación de la glucosa y fructosa y 70% acetonitrilo para la separación de la sacarosa).

La identificación y cuantificación de los carbohidratos solubles se realizó utilizando un refractómetro diferencial R401 (Waters Associates), comparando los perfiles cromatográficos de al menos dos repeticiones de cada submuestras (n= 4), con los obtenidos con patrones de glucosa, fructosa y sacarosa. El cálculo de los resultados se realizó utilizando el programa de procesamiento de datos cromatográficos

Millennium 32 (Water Associates).

Resultados

Crecimiento del pedicelo

Los cambios en masa seca del pedicelo durante su desarrollo inicial (Figura 1) mostraron una cinética de crecimiento que se ajusta a una curva sigmoidea. Durante los primeros 34 días que siguieron a la antesis el crecimiento fue muy lento y a continuación se incrementó de forma sostenida hasta alcanzar una tasa de asimilación máxima promedio de 0,45mg/día a los 76dda. A partir de ese momento y hasta el final de la toma de datos (118 dda) la masa seca del pedice-

TABLA I
CAMBIOS EN LA MASA SECA PROMEDIO DEL PEDICELO Y COMPONENTES DEL FRUTO EN *Citrus sinensis* 'SALUSTIANA' DURANTE SU CRECIMIENTO INICIAL

dda	Pedicelo (mg)	Corteza (g)	Vesículas (g)
0	3,62 \pm 0,20	0,01 \pm 0,00	-
11	4,90 \pm 0,21	0,04 \pm 0,01	-
21	5,30 \pm 0,24	0,09 \pm 0,02	-
34	6,17 \pm 0,37	0,21 \pm 0,05	-
48	9,55 \pm 0,34	0,57 \pm 0,09	-
62	16,17 \pm 0,80	2,27 \pm 0,11	0,12 \pm 0,03
76	22,04 \pm 0,76	3,61 \pm 0,12	0,27 \pm 0,05
90	26,77 \pm 0,85	4,75 \pm 0,14	0,72 \pm 0,08
104	-	6,00 \pm 0,11	1,23 \pm 0,09
118	30,96 \pm 1,28	6,51 \pm 0,16	1,90 \pm 0,15

dda: días después de antesis. El total de frutos colectados varió entre 300 (antesis) y 40 (118 dda), divididos en dos submuestras.

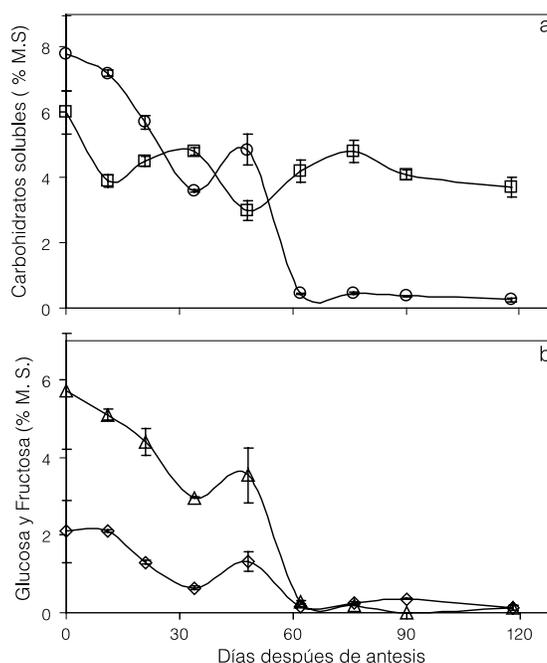


Figura 2. Cambios en la concentración de carbohidratos solubles en el pedicelo durante el crecimiento inicial del fruto de *Citrus sinensis* 'Salustiana'. a: carbohidratos solubles totales (\circ), reductores (glucosa + fructosa) (Δ) y sacarosa (\square). b: concentración de glucosa (Δ) y fructosa (\diamond). Barras: error estándar.

lo continuó incrementándose pero a menor tasa promedio (0,2mg/día). Durante el periodo de estudio, la masa seca media del pedicelo varió de 3,6mg en antesis a 31mg a los 118dda (Tabla I).

Cambios en el contenido de carbohidratos en el pedicelo

Como se aprecia en la Figura 2a, en el momento de la antesis ~14% de la masa seca del pedicelo estaba constituida por carbohidratos solubles (reductores+sacarosa). La concentración de estos carbohidratos disminuyó marcadamente durante los primeros 62dda, hasta constituir sólo el 5% de la masa seca promedio del pedicelo, valor que se mantuvo aproximadamente constante hasta el final de la toma de datos, a los 118dda. Este descenso se debió fundamentalmente al comportamiento de los carbo-

hidratos reductores (glucosa+fructosa), cuyo contenido disminuyó a partir del momento de la antesis, mostró una leve recuperación el día 48 y a continuación sufrió una drástica reducción hasta el final del periodo de estudio (118dda), cuando representaron el 0,4% de la masa seca (Figura 2a). Este patrón se mostró por igual tanto en el contenido de glucosa como de fructosa (Figura 2b) pero con una mayor participación porcentual de la glucosa en el total de azúcares reductores en el periodo entre antesis y 48dda. A partir de 62dda tanto la glucosa como la fructosa mostraron niveles muy bajos en concentración (0,2%).

En relación a la sacarosa (Figura 2a), durante el periodo de estudio su concentración en el pedicelo mostró ser baja y de moderada variación, con un valor máximo de 6% al momento de la antesis y a continuación su concentración disminuyó hasta representar el 4% de la masa seca total a los 11dda. A partir de ese momento y hasta 62dda la sacarosa osciló entre el 5 y 3% de la masa seca del pedicelo, coincidiendo máximos de sacarosa con mínimos de carbohidratos reductores. A continuación, la concentración de sacarosa se mantuvo aproximadamente constante, ~4,5% de la masa seca de pedicelo, hasta 118dda.

En términos generales (Figura 2), durante los primeros 21 días de crecimiento del pedicelo, la concentración media de los carbohidratos reductores fue mayor que la de sacarosa, principalmente debido a los aportes de glucosa. A continuación, entre los 21 y 48dda, la concentración de carbohidratos reductores y

sacarosa fueron similares, y a partir de 62dda y hasta el final del estudio la sacarosa mostró ser el carbohidrato soluble predominante en el pedicelo, al desaparecer prácticamente la glucosa y la fructosa.

Crecimiento del fruto

Durante el periodo de estudio la masa seca promedio del pericarpo varió de 0,01g en antesis a 6,51g a 118dda (Tabla I), mostrando una cinética de crecimiento ajustada a las primeras fases de una curva sigmoideal (Figura 1), con un incremento en masa seca muy lento entre antesis y el 34dda (~0,008 g/día) y a partir de allí y hasta 118 dda el incremento en masa seca fue sostenido, con una tasa máxima de 0,09g/día a los 104dda.

En relación a las vesículas, estas mostraron un aumento creciente en masa seca promedio, pasando de 0,12g a los 62dda hasta 1,90g a los 118dda, cuando se registró una tasa máxima de crecimiento (0,048g/día; Tabla I).

En general, tanto el pericarpo como las vesículas mostraron incrementos significativos en masa seca durante el periodo de estudio (Figura 1); sin embargo, a partir de los 76dda la participación porcentual del pericarpo en el total de la masa seca del fruto comenzó a disminuir, mientras que el aporte de las vesículas se incrementó debido a su mayor tasa de crecimiento.

Cambios en el contenido de carbohidratos en el fruto

De acuerdo con las Figuras 3 y 6, al momento de la antesis el 6,6% de la masa seca del fruto correspondió a los carbohidratos solubles, distribuidos en

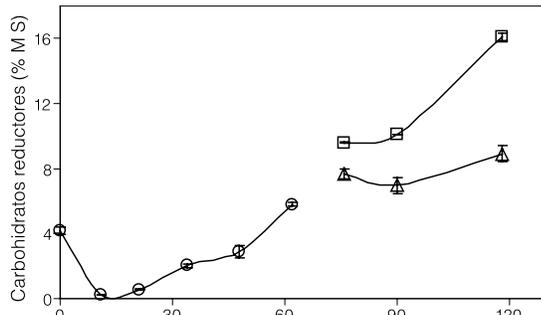


Figura 3. Cambios en la concentración de carbohidratos reductores (glucosa + fructosa) durante el crecimiento inicial del fruto de *Citrus sinensis* 'Salustiana'. ○: fruto completo, △: corteza, □: vesículas. Barras: error estándar.

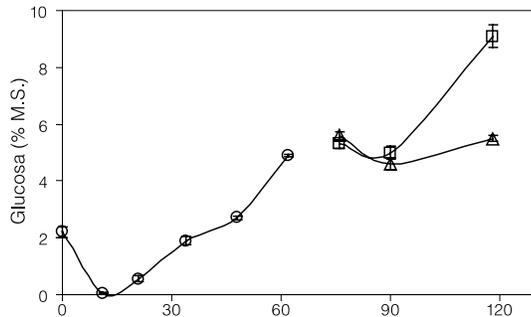


Figura 4. Cambios en la concentración de glucosa durante el crecimiento inicial del fruto de *Citrus sinensis* 'Salustiana'. ○: fruto completo, △: corteza, □: vesículas. Barras: error estándar.

4,2% de carbohidratos reductores y 2,4% de sacarosa.

En relación a los carbohidratos reductores (Figura 3), se observó tras la antesis una brusca disminución, siendo prácticamente indetectables entre los días 11 y 21 después de antesis y a continuación su concentración se incrementó en forma acentuada, representando el día 62 después de antesis el 5,8% de la materia seca del fruto. A partir de esa fecha el incremento en la concentración de carbohidratos

reductores fue continuo hasta el final de la toma de datos (118 dda), debido fundamentalmente a su acumulación en las vesículas.

De acuerdo con la cinética observada, la concentración de carbohidratos reductores en las vesículas se incrementó de un 10% a un 16% entre los días 76 y 118 después de antesis, mientras que durante ese mismo periodo el contenido de carbohidratos reductores en la fracción corteza osciló entre el 8 y 9% de la materia seca (Figura 3). Al final de la toma de datos la concentración de carbohidratos reductores tanto en corteza como vesículas representó el 25% de la materia seca del fruto.

El análisis por separado de la glucosa y fructosa mostró idéntica concentración (2%) para estos carbohidratos en el momento de la antesis (Figuras 4 y 5). A continuación tanto la glucosa como la fructosa mostraron una fuerte disminución hasta ser indetectables a los 11 dda, participando por igual en el descenso de los carbohidratos reductores. A partir del día 11 después

de antesis, la concentración de glucosa en el fruto se incrementó de forma sostenida, mostrando entre los 76 y 90 dda un porcentaje similar (5,5%) en vesículas y corteza y a partir de ese momento se registró en las vesículas un fuerte incremento en la concentración de glucosa representando el 9% de la masa seca a los 118 dda, mientras que en la corteza la concentración de glucosa se mantuvo aproximadamente constante en 5,5% al final de la toma de datos (Figura 4).

La fructosa por su parte continuó indetectable hasta 48 días después de antesis y a partir de ese momento registró un incremento significativo hasta el final de la toma de datos (Figura 5). Este aumento fue más notable en la fracción vesículas donde la concentración de fructosa alcanzó a los 118 dda el 7,1% de su masa seca, mientras que en la fracción corteza la fructosa representó el 3,6 % (Figura 5).

En relación a la concentración de sacarosa expresada en porcentaje de materia seca del fruto (Figura 6), esta se mantuvo prácticamente constante durante los primeros días después de antesis, registrándose un mínimo de 1,5% a los 21 dda y un máximo de 3,2% a los 62 dda. A continuación, entre 76 y 118 dda la concentración de sacarosa en el fruto se incrementó notablemente, principalmente en la fracción vesículas donde se observó un incremento sostenido hasta el final de la toma de datos (118

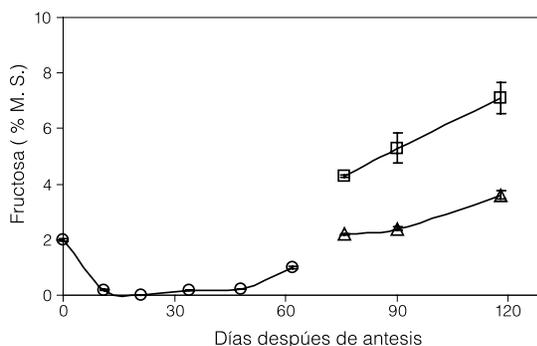


Figura 5. Cambios en la concentración de fructosa durante el crecimiento inicial del fruto de *Citrus sinensis* 'Salustiana'. ○: fruto completo, △: corteza, □: vesículas. Barras: error estándar.

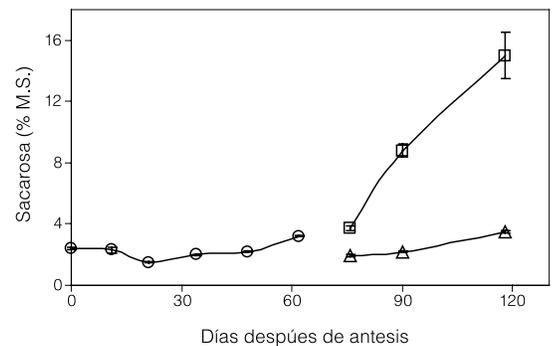


Figura 6. Cambios en la concentración de sacarosa durante el crecimiento inicial del fruto de *Citrus sinensis* 'Salustiana'. ○: fruto completo, △: corteza, □: vesículas. Barras: error estándar.

dda), cuando representó el 15% de la masa seca (Figura 6). Paralelamente, entre los 76 y 118 dda, la fracción corteza mostró una concentración de sacarosa aproximadamente constante, constituyendo entre el 2% y el 3,5% de su masa seca. Al final de la toma de datos la concentración de sacarosa tanto en corteza como vesículas representó el 18,5% de la materia seca del fruto.

Discusión

En el pedicelo de *Citrus sinensis* 'Salustiana' el periodo de menor tasa de crecimiento coincidió con el acelerado consumo de la glucosa y la fructosa presentes al momento de la antesis y una ligera disminución del contenido de sacarosa (Figuras 1 y 2). La rápida metabolización de estos azúcares se justifica ya que durante los primeros días después de la antesis en el pedicelo de Salustiana ocurren procesos de división y diferenciación celular los cuales demandan fotoasimilados cuya reposición está limitada por el escaso desarrollo del tejido conductor (Laskowski *et al.*, 2008). A continuación, durante el crecimiento exponencial del pedicelo, el contenido de carbohidratos solubles se mantuvo muy bajo, en tenores similares al señalado en mandarina Satsuma por Iglesias *et al.* (2006). Si bien parte importante del incremento en masa seca debe corresponder a los carbohidratos estructurales (no cuantificados) del tejido vascular secundario (Laskowski *et al.*, 2008), la baja disponibilidad de carbohidratos solubles puede explicar el limitado desarrollo del pedicelo al final del estudio, e implica además una competencia con el fruto por fotoasimilados durante el crecimiento inicial de ambos órganos.

Contrariamente a lo observado en el pedicelo, el crecimiento en masa seca el fruto de *C. sinensis* 'Salustiana' (Figura 1) mostró una fuerte

vinculación con el contenido de carbohidratos solubles (Figuras 3 a 6), observándose bajas concentraciones durante el crecimiento lento y altas durante el exponencial. De acuerdo con Almeida (2003), en esta variedad no existe limitación de carbohidratos en la planta durante el cuajado inicial de frutos, por lo cual el marcado descenso en carbohidratos reductores observado luego de la antesis debe relacionarse con el reinicio de la actividad en el ovario (Guardiola y García-Luis, 2000) y con el menor desarrollo del tejido vascular (Laskowski *et al.*, 2006). Entre los 11 y 34 dda el aumento en la concentración de carbohidratos reductores puede a su vez considerarse un indicador de una alta actividad metabólica que favorece la continua hidrólisis de sacarosa, cuyo contenido permaneció bajo y constante durante esta primera fase de crecimiento del fruto.

Coincidiendo con la mayor tasa de crecimiento del fruto (pericarpo y vesículas), tanto el contenido de carbohidratos reductores como de sacarosa mostraron un incremento sostenido, alcanzando niveles similares a los señalados por García-Luis *et al.* (1991) y Harada *et al.* (2001) durante el desarrollo de la mandarina Satsuma.

El incremento en carbohidratos solubles se ajustó inicialmente al período de mayor crecimiento del pericarpo, con una actividad fotosintética reconocida (Goldschmidt y Koch, 1996) que favorece la acumulación de glucosa, y posteriormente se relacionó con el crecimiento de las vesículas, principales órganos de reserva del fruto. Este cambio en la acumulación de los carbohidratos del pericarpo a las vesículas a medida que el fruto crece concuerda con lo señalado por Mehouchi *et al.* (1995) y Ruiz *et al.* (2001) durante el desarrollo de otras especies de cítricos y ocurrió durante la mayor tasa de vascularización del

pedicelo (Laskowski *et al.*, 2008).

En Salustiana el periodo de mayor movilización de carbohidratos solubles hacia el fruto coincidió además con una disminución de las reservas de la planta (Almeida, 2003) y con la mayor tasa de caída de frutos registrada para la variedad (Laskowski, 2006). De acuerdo con Guardiola y García-Luis (2000) en condiciones de baja disponibilidad de carbohidratos está comprometido el número de frutos que la planta puede sostener y en consecuencia se produce su abscisión. Los resultados obtenidos en este trabajo refuerzan este planteamiento, al vincular estrechamente el crecimiento del fruto con la acumulación de carbohidratos solubles.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece a la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), por el financiamiento de los estudios doctorales, a Consuelo Monerri y Amparo García-Luis, Universidad Politécnica de Valencia (UPV), España, bajo cuyas directrices se realizó este trabajo, al personal docente y técnico de los Departamentos de Biología Vegetal (UPV) y Ciencias Biológicas (UCLA) por su colaboración.

REFERENCIAS

- Almeida AF (2003) Acumulación y movilización de carbohidratos durante el cuajado del fruto en el naranjo dulce Salustiana (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Tesis. Universidad Politécnica de Valencia. España. 169 pp.
- Burns J, Achor D, Echeverría E (1992) Ultrastructural studies on the ontogeny of grapefruit juice vesicles (*Citrus paradisi* Macf. Cv Star Ruby). *Int. J. Plant Sci.* 153: 14-25.
- García-Luis A, Didehvar F, Guardiola JL, Baker D (1991) The transport of sugars in developing fruits of satsuma mandarin. *Ann. Bot.* 68: 349-357.
- García-Luis A, Oliveira ME, Bordón Y, Siquiera DL, Tominaga S, Guardiola JL (2002) Dry matter accumulation in Citrus fruit is not limited by transport

capacity of the pedicel. *Ann. Bot.* 90: 775-764.

- Goldschmidt EE, Koch E (1996) Citrus. En Zamski E, Schaffer A (Eds.) *Photoassimilate distribution in plant and crops*. Dekker. Nueva York, EEUU. pp.797-823.
- Guardiola JL, García-Luis A (2000) Increasing fruit size in *Citrus*. Thinning and stimulation of fruit growth. *Plant Growth Regul.* 31: 121-132.
- Harada H, Mukai H, Takagi T (2001) Effects of explant age, growth regulators and carbohydrates on sugar accumulation in Citrus juice vesicles cultured in vitro. *Sci. Hort.* 90: 109-119.
- Iglesias D, Tadeo F, Primo-Millo E, Talon M (2006) Carbohydrate and ethylene levels related to fruitlet drop through abscission zone A in citrus. *Trees* 20: 348-355.
- Mehouchi J, Serna D, Zaragoza S, Agustí M, Talon M, Primo-Millo E (1995) Defoliation increases fruit abscission and reduces carbohydrate levels in developing fruits and woody tissues of *Citrus unshiu*. *Plant Sci.* 107: 189-197.
- Li C, Shi J, Weiss D, Goldschmidt E (2003) Sugars regulate transporter gene expression in Citrus. *Bioch. Bioph. Res. Comm.* 306: 402-407.
- Laskowski L (2006) Características de la abscisión del fruto de Naranja *Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. Salustiana. *BioAgro* 18: 25-30.
- Laskowski, L., García-Luis A. y Torres J. (2006). Desarrollo del fruto de *Citrus sinensis* var. Salustiana. *BioAgro* 18(1):15-23
- Laskowski L, Monerri C, García-Luis A, Guardiola JL (2008) Vascularización del pedicelo y crecimiento del fruto de *Citrus sinensis* var Salustiana y su relación con el contenido de ácido indol acético. *Bioagro* 20: 11-20.
- Rivas F, Agustí M, Gravina A (2007) Girdling effects on fruit set and quantum yield efficiency of PSII in two Citrus cultivars. *Tree Physiol.* 27: 527-535.
- Ruiz R, García-Luis A, Monerri C, Guardiola JL (2001) Carbohydrate availability in relation to fruitlet abscission in citrus. *Ann. Bot.* 87:8 05-812.
- Sanz A, Monerri C, Gonzalez-Ferrer J, Guardiola JL (1987) Changes in carbohydrates and mineral elements in citrus leaves during flowering and fruit set. *Physiol. Plant.* 69: 93-98.