



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN PRODUCCIÓN VEGETAL Y
ECOSISTEMAS AGROFORESTALES**

**EL PAPEL DEL ETILENO EN LA REGULACIÓN DE LA MADURACIÓN
DEL NÍSPERO JAPONÉS (*Eriobotrya japonica* Lindl)**



Trabajo Fin de Máster

Marta Català Oltra

Tutora

Prof. Carmina Reig Valor

Valencia, septiembre de 2013

AGRADECIMIENTOS

Gracias por vuestra dedicación, por el apoyo que cada uno, de una manera u otra, me habéis ofrecido y por animarme cada día a seguir aprendiendo.

Con cariño,

A Esteban Soler y la Cooperativa de Callosa d'En Sarrià

A Amparo y Vicent

A Carmina Reig y Manolo Agustí

A mis compañeras y amigas Berta, Susana, Sugenith e Isabel

A M^a Eugénia Rodrigo

A mis padres, mi hermana y Juan

INTRODUCCIÓN	1
<u>1.- Origen y difusión de la especie</u>	1
<u>2.- Zonas productoras e importancia económica.</u>	1
<u>3.- Características botánicas y ciclo vegetativo.</u>	2
<u>4.- La maduración</u>	4
4.1.- El papel del etileno	5
4.2.- Comportamiento del fruto en condiciones pre y poscosecha	6
4.3.- Tratamientos para anticipar la maduración. Mecanismo de acción del ethephon.	8
OBJETIVO	11
MATERIAL Y MÉTODOS	13
<u>1.-Material Vegetal</u>	13
<u>2.-Influencia de la aplicación de ethephon en la anticipación de la maduración</u>	13
<u>3.-Influencia de la aplicación de ethephon en la síntesis endógena de etileno.</u>	16
<u>4.-Análisis estadístico</u>	17
RESULTADOS	19
<u>1.-Influencia de la aplicación exógena de ethephon en la anticipación de la maduración</u>	19
1.1. Influencia en el color	19
1.2. Influencia en el contenido sólidos solubles	21
1.3. Influencia en la acidez libre	22
1.4. Influencia en el diámetro	22
1.5. Influencia en la cosecha	23
<u>2.-Influencia de la aplicación exógena de Ethephon en la producción de etileno</u>	26
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	33



INTRODUCCIÓN

1.- Origen y difusión de la especie

El níspero japonés (*Eriobotrya japonica* Lindl.) es un árbol subtropical originario del sudeste de China, donde se conoce desde hace 2000 años (Lin.*et al.*, 1999). De China pasó a Japón donde se cultiva desde 1180 (Ichinose, 1995) y desde donde se introdujo a Europa por los jesuitas en el siglo XVIII (Morton, 1987). Posteriormente se extendió por toda la cuenca del Mediterráneo, en países como Italia, Turquía, Israel, Argelia y España (Calabrese, 2006).

En España fue introducido por los marinos mercantes en la zona de Sagunto (Valencia), desde donde se expandió por todo el levante español (Rodríguez, 1983).

Actualmente el níspero japonés se puede encontrar en buena parte del mundo de clima subtropical y templado, ya sea con fines comerciales u ornamentales (Calabrese, 2006).

2.- Zonas productoras e importancia económica.

Actualmente el cultivo del níspero japonés se concentra en áreas localizadas entre el paralelo 25º N y 38º S, siendo las principales zonas productoras Asia y el Sur de Europa. (Lin.*et al.*, 1999; Calabrese, 2006).

China es el primer país productor a nivel mundial seguido de España que se sitúa como principal productor del área mediterránea (Caballero y Fernández, 2002), destacando las provincias productoras de Alicante que concentra el 37% de la superficie total y un 54% de la producción, y Granada con un 29% de superficie y un 31% de producción (MAGRAMA, 2011).

Tabla 1 Área, producción y exportación mundial del níspero japonés en el mundo (Caballero y Fernández, 2002)

Countries	Area (ha)	Production (t)	Exports (t)
China	42,000	200,000	2,000
Japan	2,420	10,245	
Pakistan	10,000 (var. local)	12,800	
	1,000 (Tanaka)	16,000	1,600
Israel	330	3,000	
Egypt	33	440	
Greece	300	2,750	
Morocco	385	6,400	
Portugal	243	950	
Italy	663	4,412	
Turkey	1,470	13,500	147
Chile	138		37
Brazil	300	2,400	
Spain	2,914	41,487	19,400
Total	62,196	314,384	23,184

En Alicante la producción se concentra principalmente en la comarca de La Marina Baixa en los valles de los ríos Algar y Guadalest, donde pueblos como Callosa d'En Sarrià, Polop o Altea han desarrollado en los últimos 30 años, un cultivo intensivo de níspero japonés en terrazas y bajo mallas. A pesar de ser un cultivo minoritario, está consiguiendo en nuestro país altas producciones y rentabilidades debido a su alto grado de tecnificación (Llácer, 2008).

Este cultivo tiene un periodo de recolección y vida poscosecha corta. Para evitar picos de venta, se han ido buscando en los últimos años variedades más precoces con el objetivo de alargar el periodo de cosecha. Posponer la fecha de recolección no interesa ya que se juntaría con la aparición de las primeras frutas de primavera, así que el empleo de técnicas de cultivo para adelantar la maduración están siendo estudiadas, como es la aplicación exógena de ethephon.

3.- Características botánicas y ciclo vegetativo.

El níspero japonés (*Eriobotrya japonica* Lindl.) pertenece al orden *Rosales*, familia *Rosaceae* y subtribu *Pyrinae* (Philips *et al.*, 1991; Potter *et al.*, 2005; 2007).

Es un árbol perennifolio, vigoroso y productivo que suele alcanzar los 5-6 m de altura, con tendencia a la verticalidad y rápida entrada en producción. Sus hojas son coriáceas, elíptico-lanceoladas, de borde fuertemente aserrado con el haz

verde oscuro y el envés muy veloso de tonalidad grisácea. Sus flores se distribuyen en panículas terminales; son pequeñas, de pétalos blancos y cáliz marrón pubescente. El fruto es en pomo, oval o piriforme, de color amarillo-anaranjado y contiene entre 2 y 4 semillas grandes de cubierta marrón oscuro.

Esta especie, en climas templados, presenta tres periodos diferentes de desborre de sus yemas a lo largo del año. La más importante tiene lugar durante la primavera, adquiriendo su mayor desarrollo una vez el árbol se ha liberado de los frutos. Estos brotes considerados principales, son largos con hojas grandes que aportan inflorescencias y yemas que iniciarán la brotación del año siguiente. Le sigue la brotación de verano que es más débil y su rápido crecimiento dificulta que sus yemas adquieran la madurez suficiente para desarrollar brotes de calidad el año siguiente (Agustí y Reig, 2006). La tercera brotación se desarrolla en otoño y apenas tiene importancia. (Gariglio *et al.*, 2002; Agustí y Reig, 2006).

El desarrollo radicular coincide con el vegetativo particularmente durante las brotaciones de verano y otoño. Estas inician su desarrollo en primavera pero el crecimiento del fruto lo reduce hasta que éste alcanza su tamaño final y cambia de color (Agustí y Reig, 2006).

La floración de esta especie se realiza en otoño y durante el invierno cuaja y desarrolla sus frutos hasta madurar en primavera.

La época de floración varía con las variedades y condiciones climáticas, desde mediados de septiembre para las más precoces, hasta finales de diciembre para las más tardías (Martínez-Calvo *et al.*, 1999). El tiempo necesario para que todas las flores de ésta estén en antesis oscila entre 2 y 4 semanas, según las condiciones climáticas (Rodríguez, 1983),

Presenta una floración centripeta, típica de las Rosáceas, con un desarrollo inicial de las flores basales de los racimos progresivamente hacia el ápice de la panícula. Las flores de la mayoría de las variedades cultivadas en España presentan un sistema de incompatibilidad gametofítica (GSI) en los estados previos a su antesis (Carrera, 2009). Por eso, en condiciones óptimas de polinización, el porcentaje de cuajado de esta especie es bajo y solo alcanza entre el 10% y el 15%. Por esta razón el cultivo intensivo del níspero japonés presenta problemas de cuajados

erráticos en algunas zonas que hace necesario la presencia de polinizadores para mejorar el rendimiento del cultivo (Kan *et al.*, 1986; Martínez-Calvo *et al.*, 1999; Karadeniz, 2002; Cuevas *et al.*, 2003).

El crecimiento del fruto se inicia a finales de otoño aunque los principales cambios tienen lugar durante los últimos 45 días de su desarrollo, cuando éste acumula el 85% del peso fresco y el 80% del peso seco. El agua se acumula casi exclusivamente en la pulpa (90%) y la materia seca se reparte en un 37% para ésta y un 73% para la semilla. Como consecuencia de todo ello, durante este periodo la pulpa reduce a la mitad el porcentaje de su materia seca mientras que la semilla lo duplica (Gariglio *et al.*, 2002).

4.- La maduración

La maduración es un proceso fisiológico mediante el cual el fruto desarrolla una serie de cambios físico-químicos, programados genéticamente y regulados por factores ambientales, hasta que entra en senescencia. Entre estos cambios tiene lugar la degradación de las clorofilas y el aumento de la síntesis y acumulación de carotenoides hasta alcanzar la tonalidad amarillo-anaranjada. La acidez libre de la pulpa desciende tras el cambio de color del fruto y el contenido de SST aumenta cuando la piel ha perdido prácticamente todas las clorofilas (González *et al.*, 2004). Por otro lado la textura del fruto también se ve alterada y va perdiendo su firmeza gradualmente.

En la maduración del níspero japonés, la coloración del fruto avanza progresivamente desde la zona estilar a la peduncular, el ácido málico representa prácticamente la totalidad de su acidez libre y la sacarosa, fructosa, glucosa y sorbitol son los azúcares más abundantes, (Serrano *et al.*, 2004).

Tabla 2 Características del fruto maduro de níspero japonés de las principales variedades cultivadas en España (Martínez-Calvo et al.,2000)

Variedad	Peso (g)	Calibre(mm)	SST (°Brix)	Acidez(g/l ac.málico)	Firmeza(Kg/cm ²)
Algerie	65	50,03	10,86	13,35	1,11
Cardona	45,43	41,0	11,73	13,90	1,45
Golden Nugget	54,55	45,33	10,96	3,95	0,91
Peluche	95	51,18	11,63	6,07	1,02
Moggi	30,77	35,45	12,10	10,32	1,03

4.1.- El papel del etileno

El etileno (C₂H₄) es una hormona vegetal que se manifiesta prácticamente en todas las etapas del ciclo biológico de las plantas especialmente en procesos como la maduración, la senescencia y la abscisión (Zacaría *et al.*, 2002).

La ruta de biosíntesis del etileno en las plantas superiores ha sido ampliamente estudiada (Yang and Hoffman 1984; Bleecker y Kende, 2000; Guo y Ecker, 2004; Argueso *et al.*, 2007; Hall *et al.*, 2007). Ésta se inicia con el aminoácido metionina, el cual por acción de la enzima S-adenosilmetionina sintasa se convierte en S-adenosil-L-metionina (SAM), etapa que se comparte con otras rutas metabólicas de las plantas. La primera etapa específica de la síntesis de etileno es la conversión de SAM en el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), reacción que es catalizada por la enzima ACC-sintasa (ACS). Posteriormente el ACC se oxida a etileno por acción de la enzima ACC-oxidasa (ACO), generándose, al mismo tiempo CO₂ y HCN.

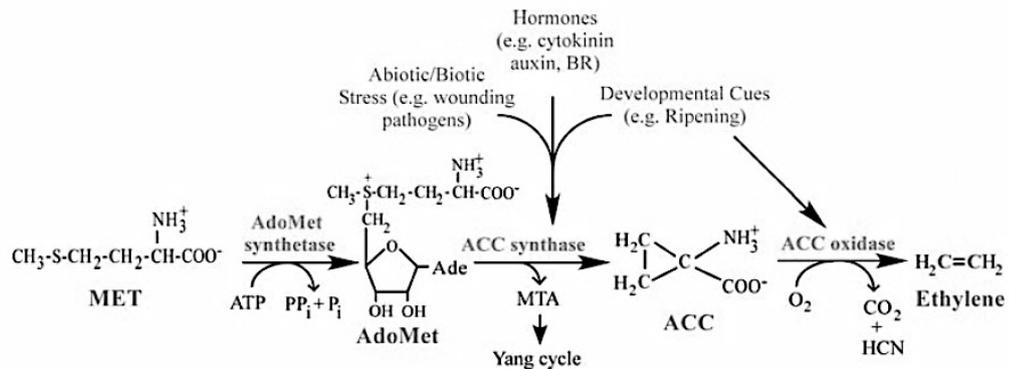


Ilustración 1 Ruta de biosíntesis de etileno. Las enzimas que catalizan cada paso se muestra encima de las flechas. MET: aminoácido metionina; AdoMet: S-adenosil-L-metionina(SAM); ACC: aminociclopropano-1-carboxílico .

En numerosos sistemas y situaciones del desarrollo, maduración o de respuestas al estrés se ha demostrado que el paso limitante de la síntesis de etileno es la formación de ACC y la actividad ACC sintetasa. Esta enzima tiene un mecanismo de regulación por sustrato y se codifica por una amplia familia de genes altamente divergentes, siendo este uno de los mecanismos principales en los que reside la especificidad de etileno. Así, se ha comprobado que la expresión de cada gen está controlada de forma muy precisa por la especificidad de tejido y por el tipo de estímulo, de modo que cada uno de los miembros de la ACC sintetasa se introduce y

regula de forma particular y diferente, lo que determina la distinta capacidad de cada especie o tejido particular para producir etileno ante las distintas etapas del desarrollo o de la respuesta del estrés. La enzima ACC oxidasa también está codificada por una familia de genes pero de menos miembros que la ACS. Esta enzima actúa como una dioxigenasa dependiente de Fe y ascorbato, requiere oxígeno para su actividad y es estimulada por dióxido de carbono. Los diferentes genes de esta enzima también se expresan de forma específica, lo que unido a la más compleja expresión de la ACS, coordinada la producción de etileno característica de cada proceso del desarrollo o de respuesta al estrés.

La primera etapa es la percepción y transducción de la acción del etileno en la unión a los receptores. Se han identificado al menos dos familias de receptores del etileno, estructuralmente similares a elementos de transducción de la señal de bacterias, denominados ETR y ERS, que en la unión del etileno utilizan cobre. Las evidencias genéticas y moleculares y las características de los mutantes de *Arabidopsis* insensibles al etileno, muestran que el mecanismo de transducción de la señal de etileno es mediante represión, es decir, que en ausencia de etileno existe una interacción entre los componentes de la ruta para suprimir las respuestas al etileno. Cuando la hormona se une al receptor, se suprime la cascada de represión y se activan las respuestas.

4.2.- Comportamiento del fruto en condiciones pre y poscosecha.

Tradicionalmente los frutos se han clasificado en función de su comportamiento fisiológico durante la maduración en dos grandes grupos: climatéricos y no-climatéricos. Dicho comportamiento se ha asociado a la producción de etileno y la tasa respiratoria.

Ambos frutos tanto los climatéricos como los no climatéricos producen etileno durante su maduración, observándose en el caso de los climatéricos se observa un incremento previo a la maduración fisiológica además de un incremento en la tasa respiratoria. En los frutos no climatéricos, sin embargo, no se producen cambios ni en la tasa respiratoria ni en la producción de etileno, con independencia de la intensidad de ambos procesos, que descienden progresivamente con la

maduración. Ejemplos de este comportamiento son los cítricos, la uva y la fresa (Barry y Giovannoni, 2007).

El papel del etileno ha sido bien estudiado en los frutos climatéricos y se considera clave para muchos en el control de la maduración (Ayub et al., 1996; Wang et al., 2009). En estos frutos la producción de etileno se caracteriza por su carácter autocatalítico, esto es, la capacidad del etileno de inducir y aumentar su propia síntesis de etileno. Este proceso, en el momento de la maduración, está inducido por la acción de un gen, ACS, que es sensible al etileno y se sobre estimula por acción de éste, mientras que antes del inicio de la maduración o en respuestas a otras situaciones del crecimiento o del estrés se inducen otros miembros de la familia ACS que no responden al etileno o incluso son inhibidos por éste (Argueso et al., 2007). En los frutos no climatéricos, sin embargo, no se produce aumento ninguno de la producción de etileno durante la maduración, ya que no poseen una actividad ACS que tenga la capacidad de responder al etileno y por lo tanto carecen de la respuesta autocatalítica de la producción de etileno (Barry y Giovannoni, 2007).

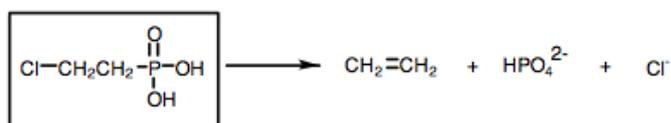
Uno de los efectos más destacables del etileno sobre la maduración de los frutos es su implicación en el desarrollo de la coloración. El etileno es capaz de modular la expresión de ciertos genes de la ruta de biosíntesis de carotenoides, modificando así la acumulación de estos pigmentos y, por tanto, la coloración del fruto. En estudios realizados sobre el mutante de tomate 'Never Ripe', que se caracteriza por tener un receptor del etileno alterado (Alba et al., 2005), se determinó que el etileno favorece la síntesis y acumulación de carotenoides. Son varios los trabajos que se han realizado en diferentes especies vegetales que indican la existencia de distintas etapas en la ruta de biosíntesis de carotenoides dependientes e independientes del etileno (Marty et al., 2005, Kita et al., 2007, Rodrigo y Zacarías, 2007).

En el caso del níspero japonés, existe actualmente controversia en cuanto al comportamiento durante su maduración en el árbol y la prolongación de la vida del fruto para clasificarlo como climatérico o no-climatérico. Mientras algunos autores indican la ausencia de un incremento de la respiración y de un pico en la producción de etileno tanto en el árbol como tras su recolección y concluyen que el

níspero japonés es un fruto no-climatérico (Blumenfeld, 1980; Zheng *et al* 1993; Hamauzu *et al.*, 1997; Ding *et al*, 1998; Kader, 2002; González *et al.*, 2004), otros encuentran producción de etileno a lo largo de todo el periodo de desarrollo del fruto (Gariglio *et al.*, 2002) y picos en la producción de etileno y de la tasa respiratoria en etapas precoces de la maduración, de un modo similar a como sucede en los frutos climatéricos (Hirai, 1982; Chachin *et al*, 1990; Gariglio *et al.*, 2002; Amorós *et al.*, 2003b). Por otro lado, Undurraga *et al.* (2011) observan un incremento en la concentración de etileno al momento del cambio de color pero un decrecimiento en la tasa respiratoria, comportamiento este último más similar al de los frutos no climatéricos. La afirmación de un modelo de maduración climatérica o no para un fruto particular, como el níspero, puede ser difícil, y Amorós *et al.*, (2003a) establecen que quizás podrían existir algunos frutos intermedios.

4.3.- Tratamientos para anticipar la maduración. Mecanismo de acción del ethephon.

El ethephon (ácido-2-cloroetil-fosfónico) es un regulador de desarrollo en plantas con propiedades sistémicas. Una vez aplicado en la planta, penetra en el interior de los tejidos y es translocado y metabolizado, produciendo etileno, ion fosfato y cloruro en solución acuosa..



Esta propiedad del ethephon se ha aprovechado en agricultura para alterar la maduración, en precosecha y en poscosecha, de los frutos. La aplicación precosecha de ethephon se emplea para estimular y uniformar la maduración y mejorar la coloración de frutos climatéricos como el mango, el plátano, o la manzana, y su utilización poscosecha en los no climatéricos como los cítricos promueve la pérdida de clorofilas de la corteza del fruto, proceso que se conoce como desverdización (Salveit, 1999).

En el níspero japonés, la aplicación de ethephon no ha presentado resultados concluyentes. Aunque Undurraga et al. (2011) atribuyen a su aplicación una respuesta estimuladora del cambio de color del fruto y su maduración, los resultados no han podido ser ratificados por otros autores. Aunque en este trabajo se estudia la acción de esta hormona como medio para determinar la condición climatérica o no-climatérica de la maduración de este fruto, se analiza, al mismo tiempo, su capacidad promotora de la maduración del níspero japonés.



OBJETIVO

- Estudiar la respuesta fisiológica del fruto a las aplicaciones de ethephon con el fin de anticipar su maduración.



MATERIAL Y MÉTODOS

1. Material Vegetal

Los experimentos se llevaron a cabo en dos parcelas situadas en el campo de prácticas de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural de la Universidad Politécnica de Valencia (Valencia) (parcela A) y en la parcela experimental de la Cooperativa Agrícola de Callosa d'En Sarrià (Alicante)(parcela B).

En ambas parcelas se cultivaban árboles adultos de la cv. Algerie de níspero japonés (*Eriobotrya japonica* Lindl.), injertados sobre patrón franco, con formación en vaso, bajo condiciones normales de cultivo, con riego localizado y en perfecto estado fitosanitario.



Ilustración 1 Localización de las parcelas de los experimentos. A: parcela UPV (0 m.s.n.m, 39°33'N, 00°34'W). B: parcela Callosa d'En Sarrià (170 m.s.n.m, 38°39'N, 00°06'W)

2. Influencia de la aplicación de ethephon en la anticipación de la maduración

En la parcela B se seleccionaron 24 árboles agrupados por parejas, en dos filas, homogéneos en tamaño de copa y producción.

Los tratamientos realizados se detallan a continuación (Tabla 3).

Tabla 3 Tratamientos realizados en la parcela de Callosa d'En Sarrià, con las concentraciones aplicadas y momento según el estado fenológico en escala BBCH.

T1: Tratamiento 1	Control
T2: Tratamiento 2	Aplicación de ethephon, 500 ppm, en el estado 709 de la escala BBCH (90% del tamaño final del fruto)
T3: Tratamiento 3	Aplicación de ethephon, 500 ppm, en el estado 801 de la escala BBCH (cambio de color)
T4: Tratamiento 4	Aplicación A de ethephon, 250 ppm, en el estado BBCH 709 de la escala BBCH + ethephon, 250 ppm, en el estado 801 de la escala BBCH
T5: Tratamiento 5	Rayado de ramas en el estado 707 de la escala BBCH (70% del tamaño final del fruto) + aplicación de ethephon, 500 ppm, en el estado 801 de la escala BBCH.
T6: Tratamiento 6	Aplicación de 3,5,6-TPA, 15ppm, en el estado 707 de la escala BBCH + aplicación de ethephon, 500 ppm, en el estado 801 de la escala BBCH

Todas las aplicaciones se realizaron con un tanque de pulverización a una presión de 25-30 atm hasta el goteo. En todos los casos se añadió un agente tensoactivo no iónico (éter alquil poliglicol) a una concentración de 0,01%. El rayado se realizó en las ramas secundarias del árbol utilizando unas tijeras especiales de filo curvo y con la precaución de no dañar el xilema (Foto 2).



Foto 2 Tratamiento de los árboles y el rayado de ramas del experimento en árboles adultos del cv. Algerie de níspero japonés.

Las fechas de realización de los tratamientos fueron las siguientes:

- 12-marzo-2013 (707 BBCH)
 - Rayado de árboles del T5
 - Aplicación de 3,5,6-TPA del T6
- 25-marzo-2013 (709 BBCH)
 - Aplicación de ethephon del T2
 - Primer aplicación de ethephon del T4
- 3-abril-2013 (801 BBCH)
 - Aplicación de ethephon del T5
 - Aplicación de ethephon del T6
 - Segundo aplicación de ethephon del T4
 - Aplicación de ethephon del T3

De cada tratamiento se siguió periódicamente la evolución del diámetro y el color de los frutos y en el momento de la maduración se seleccionaron completamente al azar 10 frutos por árbol y tratamiento a los que se les midió la concentración de sólidos solubles totales (SST), la acidez, el color, el diámetro ecuatorial y el contenido endógeno de etileno.

La concentración de SST se midió con un refractómetro digital (Atago, Tokio, Japón). La acidez libre se valoró con NaOH 0.1 N utilizando fenoltaleína como indicador y el diámetro ecuatorial se midió utilizando un pie de rey digital. Para el color se empleó un colorímetro Minolta Chroma Meter CR-300 (Osaka, Japón) determinando las coordenadas *a* y *b* de Hunter.

La producción de etileno se determinó a partir de frutos recién recolectados y mantenidos en envases cerrados herméticamente y con volumen conocido. Transcurridas 3 horas se extrajeron tres alícuotas de la atmósfera de cada recipiente mediante jeringas de 1 ml en la que se analizó el etileno en un cromatógrafo de gases Finnigan Trace GC Ultra (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, MA, USA), equipado con un Perkin Elmer Autosample Analyzer y detector de ionización de llama, una columna de alúmina (óxido de aluminio activado) de acero inoxidable de 2 m de longitud y 2 mm de diámetro interno, y nitrógeno como gas portador, a un flujo de 45 ml/min. La temperatura de la

columna, del inyector y del detector fue de 140 °C, 160 °C y 180 °C, respectivamente. La concentración de etileno en cada muestra se calculó por comparación a partir de un patrón de etileno a concentración 1 mg l⁻¹ y se expresó en nl g pf⁻¹ h⁻¹.

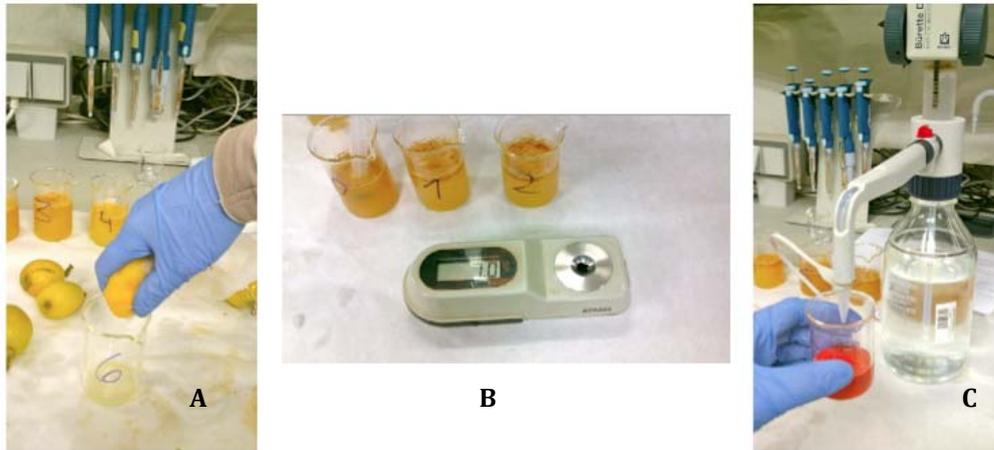


Foto 3 Procedimiento utilizado para la determinación de sólidos solubles totales (SST). Extracción del zumo (A), refractómetro (B) y valoración de la acidez libre (C).



Foto 4 Medición del color (A) y del contenido de etileno de los frutos (B).

3. Influencia de la aplicación de ethephon en la síntesis endógena de etileno.

Se seleccionaron 2 árboles por tratamiento de la parcela A a los que se les realizaron los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1	Control
Tratamiento 2	Ethephon, 500 ppm, en el estado 801 de la 24-abril-2013 escala BBCH.
Tratamiento 3	Ethephon, 1000 ppm, en el estado 801 de la 2-mayo-2013 escala BBCH.

Las aplicaciones se realizaron con una mochila manual. A la solución de ethephon se le añadió un agente tensoactivo no iónico (éter alquil poliglicol), a una concentración de 0.01%.

Tras los tratamientos se midió periódicamente el contenido endógeno de etileno de los frutos siguiendo el protocolo anteriormente descrito.

Adicionalmente, y tras extraer las alícuotas correspondientes de los frutos del tratamiento 3, éstos permanecieron herméticamente cerrados realizando durante las 24 h siguientes sucesivas mediciones de la producción de etileno.

4. Análisis estadístico

A los resultados obtenidos se les aplicó el análisis de la varianza (ANOVA) con un nivel de confianza de $P \leq 0.05$. Para la separación de las medias se aplicó el test de Student-Newman-Keuls. Para normalizar la población de los valores porcentuales se utilizó la transformación $\text{arc sen}(\sqrt{p})$.



RESULTADOS

1. Influencia de la aplicación exógena de ethephon en la anticipación de la maduración

1.1. Influencia en el color

El efecto de los tratamientos en la coloración del fruto no resultó eficaz ya que en el momento de la primera y segunda recolección, principios y mediados de abril, respectivamente, no se observaron diferencias significativas en las coordenadas a y b de Hunter para los diferentes tratamientos (Fig.1). Sin embargo, 10 días después de la aplicación de ethephon, cuando el fruto había alcanzado prácticamente su tamaño final, consiguió aumentar significativamente la coordenada b respecto del control. Este efecto se perdió con el tiempo y en el momento de la primera y segunda recolección no se detectaron diferencias significativas con el control. Algo parecido ocurrió cuando la aplicación de ethephon se combinó con el rayado o la aplicación de 3,5,6-TPA (Fig.1). En ambos casos 10 días después del rayado de ramas o de la aplicación de la auxina de síntesis cuando el fruto había completado prácticamente su tamaño, el valor de la coordenada b de Hunter fue significativamente superior a la del control. A pesar de ello el efecto se perdió posteriormente en el momento de la maduración mostrándose la aplicación suplementaria de ethephon durante el cambio de color ineficaz para anticipar la recolección. El efecto del rayado también consiguió aumentar significativamente el valor de la coordenada a de Hunter 10 días después de su realización perdiéndose de nuevo su efecto en el momento de la maduración a pesar de la posterior aplicación de ethephon (Fig. 1).

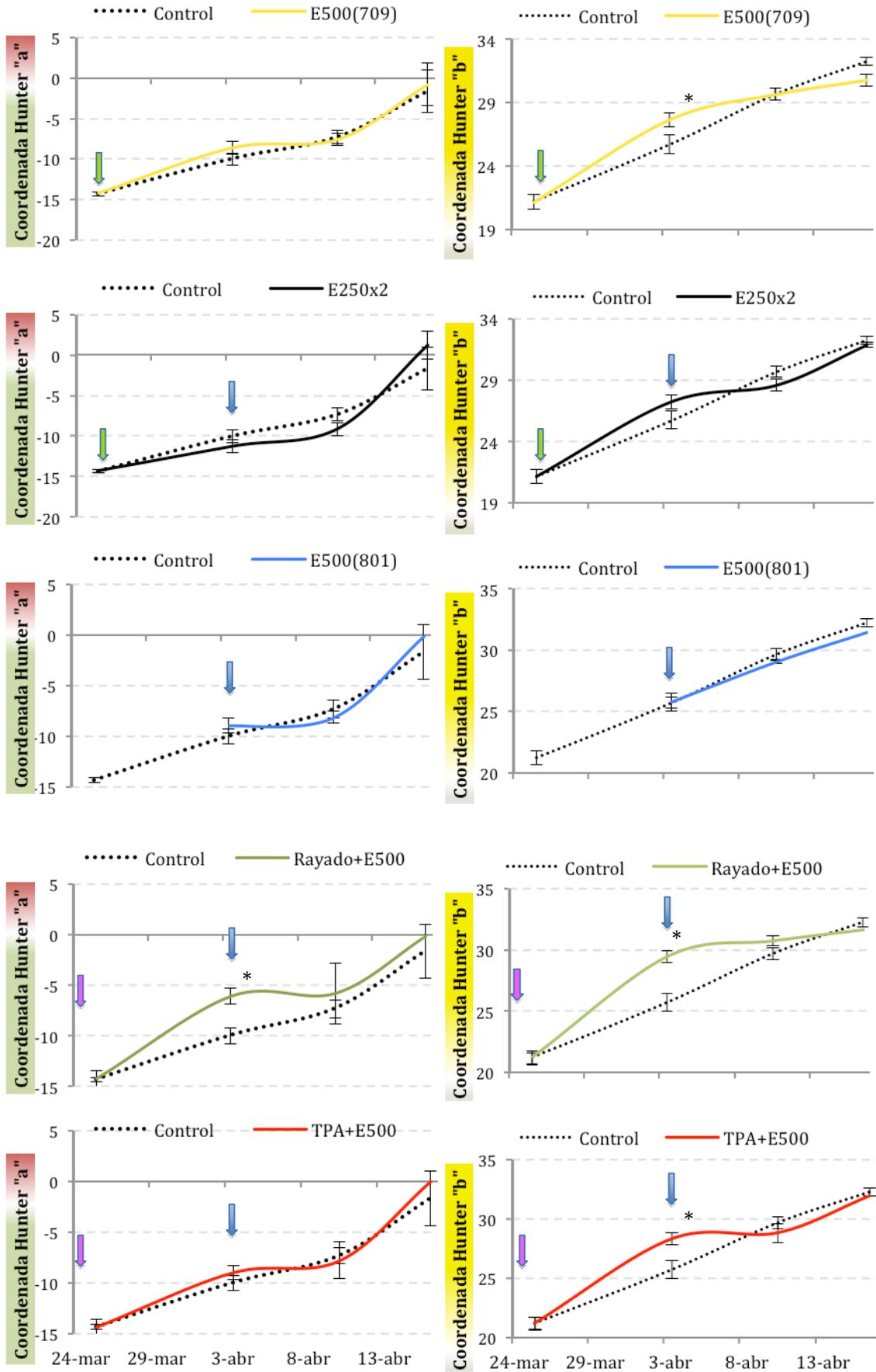


Figura 1 Influencia del ethephon, del 3,5,6-TPA y del rayado de ramas sobre la evolución del color de la piel de frutos de níspero japonés cv. Algeria, a lo largo de la maduración. Valores expresados como coordenadas 'a' y 'b' de Hunter. Cada valor es la media de 10 frutos por tratamiento. Las barras verticales representan el error estándar. * Indica diferencias significativas (P<0,05). Las flechas violeta, verde y azul indican 1º, 2º y 3º fecha de tratamiento respectivamente. Clave de los tratamientos: E500(709)(Ethephon 500 ppm en el estado 709 BBCH); E500(801) (Ethephon 500 ppm en el estado 801 BBCH); E250x2 (Ethephon 250 ppm en el estado 709 BBCH y 250 ppm en el estado 801 BBCH); Rayado+E500 (Rayado de ramas en el estado 707 BBCH y Ethephon 500 ppm en el estado 801 BBCH); TPA+E500 (3,5,6-TPA a 15ppm en el estado 707 BBCH y Ethephon 500ppm en el estado 801 BBCH).

1.2. Influencia en el contenido sólidos solubles

La concentración de sólidos solubles de la pulpa del fruto apenas se vio apenas afectada por los tratamientos, y fue ligeramente inferior en los frutos de los árboles tratados respecto del control, independientemente del tratamiento y de la época de recolección, y sin alcanzar la significación estadística (Fig. 2). Los frutos con mayor contenido de SST fueron los controles con, aproximadamente, 8.2 °Brix de media para los recolectados en un primer y segundo pase, seguido muy de cerca por los rayados en 709 BBCH y tratados con ethephon en 802 BBCH con 7.9 °Brix. El resto de tratamientos obtuvieron valores medios entre 6 y 7 °Brix según la fecha de recolección y el tratamiento (Fig. 2). Aunque en todos los tratamientos los frutos recolectados en el segundo pase tuvieron mayor contenido de SST, entre un 3% y 16% según el tratamiento, en ningún caso se llegó a alcanzar la significación estadística.

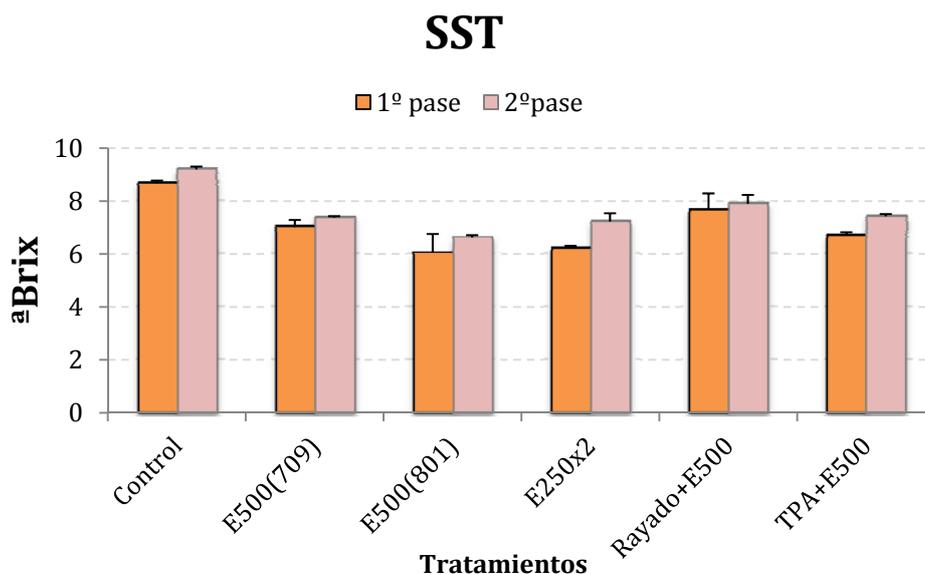


Figura 2 Influencia del ethephon, del 3,5,6-TPA y del rayado de ramas sobre la concentración de sólidos solubles totales en la pulpa de frutos de níspero japonés cv. Algeria recolectados en dos pases

(10/04/13 y 16/04/13, respectivamente). Cada valor es la media de 10 frutos por tratamiento. Las barras verticales representan el error estándar. Clave de los tratamientos: E500(709)(Ethephon 500 ppm en el estado 709 BBCH); E500(801) (Ethephon 500 ppm en el estado 801 BBCH); E250x2 (Ethephon 250 ppm en el estado 709 BBCH y 250 ppm en el estado 801 BBCH); Rayado+E500 (Rayado de ramas en el estado 707 BBCH y Ethephon 500 ppm en el estado 801 BBCH); TPA+E500 (3,5,6-TPA 15ppm en el estado 707 BBCH y Ethephon 500ppm en el estado 801 BBCH).

1.3. Influencia en la acidez libre

La acidez de los frutos sólo se vio alterada por los tratamientos durante la segunda recolección en la que los frutos presentaron, por término medio una menor acidez (3%) que los controles (3.9%) (Fig. 3).

Las diferencias registradas en este descenso, de un 18% a un 38%, según el caso, dependió del tratamiento realizado (Fig. 3)

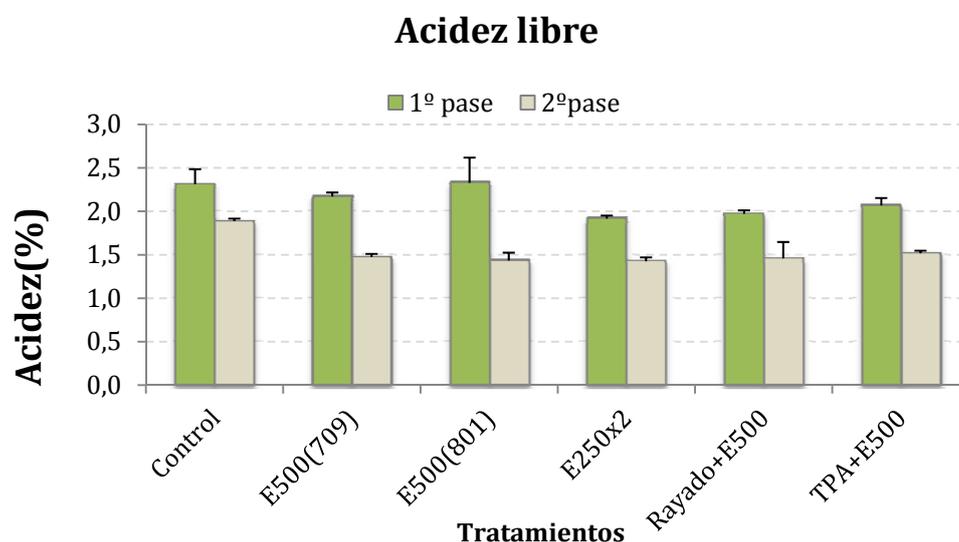


Figura 3 Influencia del ethephon, del 3,5,6-TPA y del rayado de ramas sobre la acidez libre de la pulpa de frutos de níspero japonés cv. Algerie recolectados en dos pases (10/04/13 y 16/04/13, respectivamente). Cada valor es la media de 10 frutos por tratamiento. Las barras verticales representan el error estándar. Clave de los tratamientos: E500(709)(Ethephon 500 ppm en el estado 709 BBCH); E500(801) (Ethephon 500 ppm en el estado 801 BBCH); E250x2 (Ethephon 250 ppm en el estado 709 BBCH y 250 ppm en el estado 801 BBCH); Rayado+E500 (Rayado de ramas en el estado 707 BBCH y Ethephon 500 ppm en el estado 801 BBCH); TPA+E500 (3,5,6-TPA 15ppm en el estado 707 BBCH y Ethephon 500ppm en el estado 801 BBCH)

1.4. Influencia en el diámetro

La evolución del diámetro del fruto durante su fase final de crecimiento no mostró diferencias significativas entre los tratamientos que mostraron la misma pauta de crecimiento.

En todos ellos, el fruto aumentó linealmente su tamaño hasta principios de abril que cambió de color y maduró, manteniéndose prácticamente estable con un diámetro medio de 40 mm hasta su recolección (Fig. 4).

La aplicación de ethephon, por tanto, independientemente del momento en que se llevó a cabo (709 o 801 BBCH), de la concentración aplicada (500 ppm fraccionada y sin fraccionar) y de su combinación con otros tratamientos (Rayado ó 3,5,6-TPA) resultó ineficaz en el aumento del tamaño final del fruto.

1.5. Influencia en la cosecha

De acuerdo con los resultados anteriores, la aplicación de ethephon, en combinación o sin ella con otros tratamientos (rayado y aplicación de auxinas de síntesis), no consiguió resultados relevantes en la anticipación de la maduración. Así lo reflejan los resultados de la Fig.5 en los que no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de frutos recolectados en el primer pase a principios de abril y que fue, aproximadamente del 8%. Una semana después tampoco se encontraron diferencias significativas en el segundo pase de la recolección. En este caso, la aplicación de ethephon (500 ppm) a árboles rayados 20 días antes, cuando el fruto había alcanzado prácticamente su tamaño final, y había iniciado su cambio de color, no consiguió mejorar el porcentaje de frutos recolectados respecto del control, que fue entre el 30% y 38%. Sin embargo en el resto de tratamientos, es decir, cuando se aplicó el ethephon a 500ppm en el momento del cambio de color, cuando se realizó a 250 ppm al final del crecimiento del fruto y en su cambio de color, y cuando se aplicó combinado con el 3,5,6-TPA, el porcentaje de frutos recolectados en el segundo pase fue un 10% inferior a los controles(Fig. 5). Como consecuencia de ello, el porcentaje de recolección en el 3º pase fue entre un 8% y 10% superior en los árboles tratados respecto de los anteriores (Fig. 5).

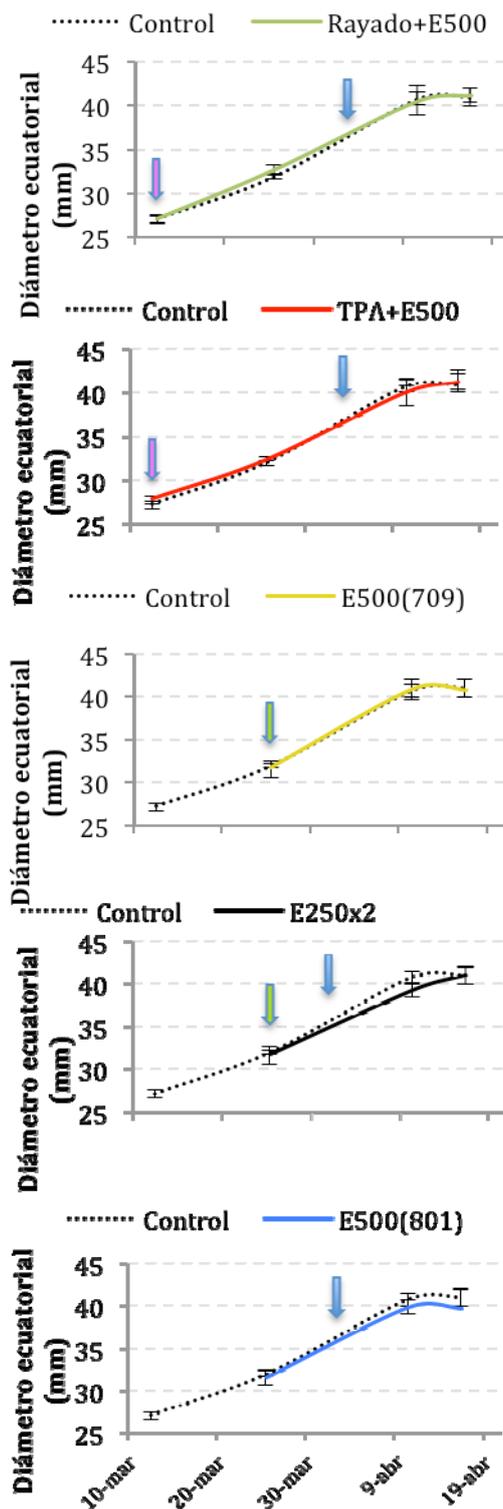


Figura 4 Influencia del ethephon, del 3,5,6-TPSA y del rayado de ramas sobre la evolución del diámetro del fruto de níspero japonés, cv. Algerie a lo largo del periodo de maduración. Cada valor es la media de 10 frutos por tratamiento. Las barras verticales representan el error estándar. Las flechas violeta, verde y azul indican 1º, 2º y 3º fecha de tratamiento respectivamente. Clave de los tratamientos: E500(709)(Ethephon 500 ppm en el estado 709 BBCH); E500(801) (Ethephon 500 ppm en el estado 801 BBCH); E250x2 (Ethephon 250 ppm en el estado 709 BBCH y 250 ppm en el estado 801 BBCH); Rayado+E500 (Rayado de ramas en el estado 707 BBCH y Ethephon 500 ppm en el estado 801 BBCH); TPA+E500 (3,5,6-TPA 15ppm en el estado 707 BBCH y Ethephon 500ppm en el estado 801 BBCH).

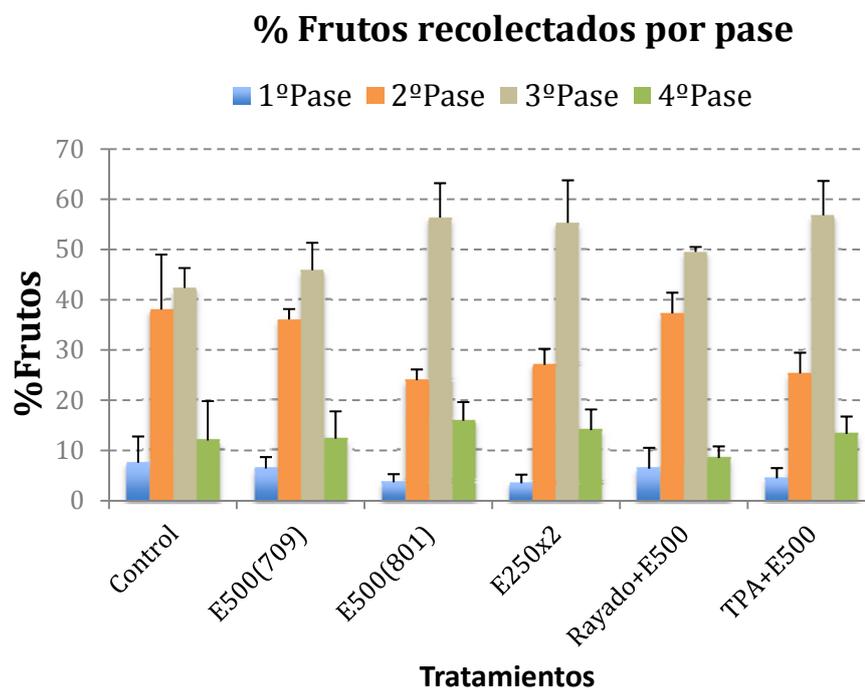


Figura 5 Influencia del ethephon, el 3,5,6-TPA y el rayado de ramas sobre el porcentaje de frutos cosechados de níspero japonés cv. Algeria en las cuatro fases de recolección y según tratamientos: E500(709)(Ethephon a 500 ppm en BBCH 709); E500(801) (Ethephon 500 ppm en BBCH 802); E250x2 (Ethephon 250 ppm en BBCH 709 y 250 ppm en BBCH 709); Rayado+E500 (Rayado de ramas en BBCH 707 y Ethephon 500 ppm en BBCH 801); TPA+E500 (3,5,6-TPA 15ppm en BBCH 707 y Ethephon 500ppm en 801).

2. Influencia de la aplicación exógena de ethephon en la producción de etileno

La respuesta de los frutos a la aplicación de ethephon fue inmediata; treinta minutos después de su aplicación, los frutos aumentaron significativamente la producción de etileno en un 37.3 % respecto de los controles sin tratar, alcanzando el umbral máximo ($3.7 \text{ nl gPf}^{-1} \text{ h}^{-1}$) siete horas más tarde y descendiendo drásticamente a las 72 horas hasta valores prácticamente idénticos a los iniciales que se mantuvieron durante el resto del periodo estudiado (Fig. 6). Algo parecido se observó en la evolución de la producción de etileno en los frutos control. En este caso, la máxima producción se detectó a primera hora de la mañana (8.30 am), treinta minutos después de la aplicación de ethephon a los árboles tratados, con valores máximos de $2.6 \text{ nl gPf}^{-1} \text{ h}^{-1}$, que descendió rápidamente 30 minutos después, alcanzando valores prácticamente iguales a los iniciales, $1.9 \text{ nl gPf}^{-1} \text{ h}^{-1}$, 7 horas más tarde y, hasta el final del periodo estudiado cuando los tratados habían alcanzado su máxima producción (Fig.6). A pesar de ello, la producción de etileno siempre fue significativamente mayor en los frutos de los árboles tratados que en los controles. Es de destacar que la máxima producción de etileno en los frutos tratados alcanzada 8 horas después del tratamiento fue un 33% superior a la de los controles (Fig.6).

Algo parecido se observó cuando se aplicó ethephon a 1000 ppm, si bien en este caso la máxima producción de etileno fue aproximadamente el doble respecto del control. Al compararlo con el tratado a 500 ppm la diferencia entre ambos fue del 31.7% favorable al tratamiento con 1000ppm. Es de resaltar que 120h después de tratar los frutos con 1000 ppm de ethephon la producción de etileno se mantuvo en niveles elevados ($3.9 \text{ nl gPf}^{-1} \text{ h}^{-1}$), mientras que los tratados a 500 ppm prácticamente la habían igualado a la de los controles (2.1 y $1.6 \text{ nl gPf}^{-1} \text{ h}^{-1}$), respectivamente (Fig. 6).

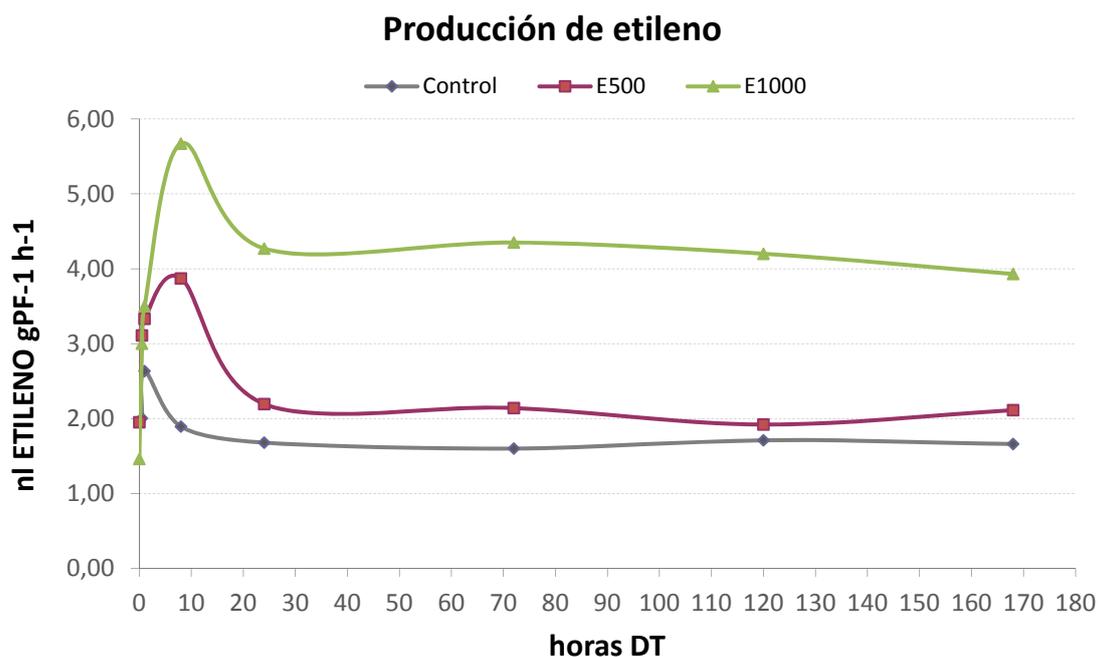


Figura 6 Evolución de la producción de etileno en frutos de níspero japonés cv. *Algerie* tratados con Ethephon a 500ppm (E500), 1000 ppm (E1000) y sin tratar (Control). Valores desde los 30 minutos hasta 120 horas después del tratamiento Cada valor es la media de 10 frutos por tratamiento.

Al mantener los frutos encerrados herméticamente en el envase hasta 24 h después de su recolección la respuesta de los frutos tratado y control fue prácticamente la misma. En ambos casos la producción de etileno descendió con el tiempo de almacenamiento de los frutos en el envase desde 4.5 y 2.4 nl gPF⁻¹ h⁻¹ para los frutos tratados y control almacenados durante 1h, respectivamente, hasta 1.4 y 1 nl gPF⁻¹ h⁻¹ 23 horas después (Fig.7). El descenso en la producción de etileno fue más acusado en los frutos tratados que en el control ya que 2.5 h después de permanecer encerrados en el envase, mientras los primeros redujeron en un 29% su producción, los segundos lo hicieron en un 21% (Fig.7). A pesar de ello, el contenido de etileno en el envase de los frutos tratados fue un 42% superior por término medio al de los controles a lo largo de todo el periodo estudiado, reduciéndose esta diferencia al final del mismo a un 33% (Fig.7)

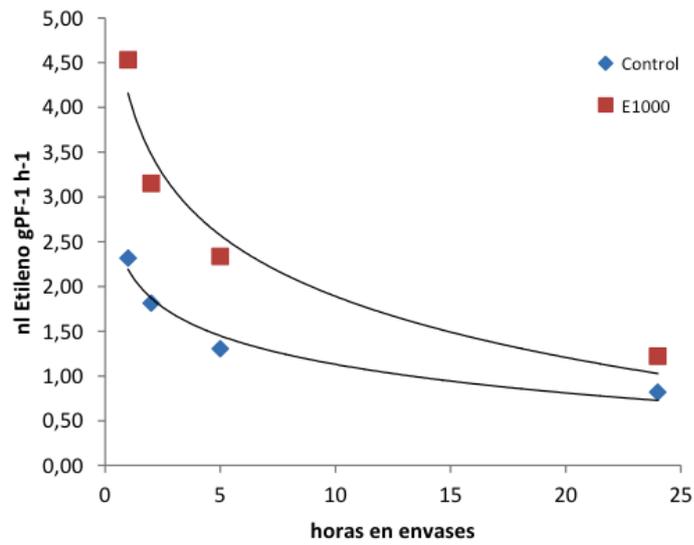


Figura 7 Evolución de la producción de etileno en frutos de níspero japonés cv. Algerie tratados con ethephon a 1000ppm (E1000) y sin tratar (Control) y conservados en envases herméticos durante 24 horas. Cada valor es la media de 10 frutos por tratamiento.



DISCUSIÓN

Los conocimientos actuales no permiten establecer si el fruto del níspero japonés se comporta como un fruto climatérico o no climatérico. Mientras algunos autores no han encontrado un aumento de la respiración ni de la producción de etileno en pre y poscosecha (Blumenfeld, 1980; Kader, 2002; Zang *et al*, 1990; Hamauzu *et al*, 1997), otros, por el contrario, sí han detectado producción de CO₂ y de C₂H₄ en diferentes variedades de esta especie (Amorós *et al* 2003a).

Por otra parte, Undurraga *et al*. (2011) encontraron un aumento de la actividad de los enzimas pectinmetilesterasa, poligalacturonasa y celulasa, responsables del reblandecimiento de las paredes del fruto durante su maduración. Aunque este aumento de la actividad enzimática se presenta característicamente en los frutos climatéricos, no es privativo de ellos. En el níspero japonés, este reblandecimiento durante las últimas 4-5 semanas del desarrollo del fruto ha sido ya puesto de manifiesto por otros autores (Uchino *et al*, 1994; Martínez-Calvo *et al*, 2000; Gariglio *et al*, 2002), y otros frutos no climatéricos, como la cereza, también sufren un proceso de reblandecimiento durante su maduración (Agustí *et al*, 1997).

Los estudios sobre la maduración del níspero japonés revelan producciones de etileno cuantitativamente inferiores (Ding *et al*, 1988; Amorós *et al*, 2003b; González *et al*, 2004) a la de frutos climatéricos como el kiwi, melocotón o chirimoyo (Martínez *et al*, 1993; Martínez-Madrid, 2000; Mworira *et al*, 2010). Ello, sin embargo, no es un indicador del comportamiento climatérico o no climatérico de un fruto. En efecto, lo que define a un fruto como climatérico es su capacidad de autocatálisis en la síntesis de etileno.

Los estudios de Amorós (2003a) con tratamientos poscosecha con 1-MCP (1-metilciclopropeno), no alteraron el proceso de maduración de esta especie. Ello podría indicar que los receptores de etileno estaban, de modo natural, bloqueados previamente al tratamiento y revelarían el carácter no climatérico de este fruto.

Pero nuestros resultados son mucho más contundentes. La aplicación de 500 ó 1000 ppm de ethephon, un liberador de etileno, es rápidamente reconocida por el fruto produciendo a las pocas horas el doble o el cuádruple de etileno,

respectivamente, que los frutos sin tratar. Pero este efecto se pierde con el tiempo y a las 8 horas, aproximadamente, la producción de etileno de los frutos tratados y sin tratar fue similar. De ello se deduce que el fruto es capaz de reconocer el ethephon, metabolizarlo y liberar etileno, pero es incapaz de utilizarlo en su propia síntesis. Estos resultados son coincidentes con los encontrados por Amorós *et al* (2003a) utilizando 1-MCP. Es más, la producción de etileno de frutos tratados en el árbol y almacenados en envases herméticos hasta 120 h, no solo no aumento con el tiempo sino que disminuyo. Si los receptores de membrana del etileno están bloqueados en esta especie no puede haber respuesta de autocatálisis a la producción de etileno y tampoco a la de 1-MCP. Ambos resultados indican que este fruto es no climatérico.

De acuerdo con ello resulta coherente que los tratamientos realizados en nuestros experimentos para anticipar la maduración del níspero japonés, independientemente de la sustancia aplicada, concentración y época del tratamiento, hayan sido ineficaces. Estos resultados coinciden con los presentados por Ding *et al* (1998) en los que el níspero japonés se mostro insensible a la acción del ethephon. Sin embargo, no coinciden con los de Hirai (1982) que aplicando el ethephon a frutos de diferentes variedades envueltos en bolsas de polietileno antes del cambio de color, logró aumentar el contenido de SST, reducir la acidez y acelerar el cambio de color, adelantando, por tanto, su madurez. También Undurraga y Olaeta (2004), aplicando 120 ppm de ethephon al árbol en el momento del cambio de color consiguieron adelantar la maduración una semana.



CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En conclusión, la aplicación de ethephon a frutos de níspero japonés no consiguió promover la autocatálisis de etileno ni anticipar su maduración, independientemente de la época de aplicación y su concentración.



BIBLIOGRAFÍA

- Agustí, M., Juan, M., Almela, V., Andreu, I. y Speroni, C. 1997. *Estímulo del desarrollo de los frutos de hueso*. Generalitat Valenciana, Sèrie Divulgació Tècnica n. 38, Valencia, España.
- Agustí, M. y Reig, C. 2006. Fisiología. En: *El Cultivo del Níspero Japonés*, M. Agustí, C. Reig y P. Undurraga (Eds.), Gráficas Alcoy, España, pp 97-129
- Alba, R. Payton, P., Fei, Z., McQuinn, R., Debbie, P., Martin, G.B., Tanksley, S. y Giovannoni, J.J. 2005. Transcriptome and selected metabolite analyses reveal multiple points of ethylene control during tomato fruit development. *The Plant Cell*, 17 (11): 2954-2965
- Amorós, A.; Pretel, M.T.; Botella, M.A.; Almansa, M.S. y Serrano, M. 2003a. Is the loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) a climacteric fruit? *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene III*. M. Vendrell et al. (Eds.). IOS Press. 471 pp.
- Amorós, A., Zapata P., Pretel M.T., Botella M.A. y Serrano M. 2003b. Physico-chemical and physiological changes during fruits development and ripening of five loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl) cultivars. *Food Sci. Technol. Int.*, 9: 43-51.
- Argueso, C., Hansen, M. y Kieber, J. (2007). Regulation of ethylene biosynthesis. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26 (2): 840-852
- Ayub, R., Guis, M., Ben Amor, M., Gillot, L., Roustan, J.P., Latché, A., Bouzayen, M., y Pech, J.C., 1996. Expression of ACC oxidase antisense gene inhibits ripening of cantaloupe melon fruits. *Nat. Biotechnol.* 14, 862-866.
- Barry, C.S. y Giovannoni, J.J. (2007). Ethylene and fruit ripening. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26 (2):143
- Bleecker, A. B. y Kende, H. 2000. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16(1):1-18

BIBLIOGRAFÍA

- Blumenfeld, A. 1980. Fruit growth of loquat. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.*, 105: 747-750.
- Caballero, P. y Fernandez M.A. 2002. Loquat, production and market. *Options Méditerranéennes*, 58:11-20
- Calabrese, F. 2006. Origen de la especie. En: *El cultivo de níspero japonés*. M.Agustí, C.Reig y P.Undurraga, pp 17-25.
- Carrera, L. 2009. Biología reproductiva del níspero japonés [*Eriobotrya japonica* (Thunb.)Lindl.]. PhD Tesis, Universidad de Valladolid, España
- Cuevas, J., Hueso, J. J., y Puertas, M. 2003a. Pollination requirements of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.), cv. Algerie. *Fruits*, 58: 157-165.
- Chachin, K., Y. Hamauzu, H. Kurooka, y T. Iwata. 1990. Physiological changes of loquat fruit after harvest. *In Proceedings of XXIII International Horticultural Congress, Firenze, Italy.*
- Ding, C.K., Chachin, K., Hamauzu, Y., Ueda, Y. y Imahori, Y., 1998. Effects of storage temperatures on physiology and quality of loquat fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 14, 309-315.
- Gariglio, N., Castillo, A., Juan, M., Almela, V. y Agustí, M. 2002. El níspero japonés. Técnicas para mejorar la calidad del fruto. Generalitat Valenciana. Serie Divulgació Tècnica No. 52, Valencia, España.
- González, L., Lafuente, M.T. y Zacarías, L. 2004. Maturation of loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.) under Spanish growing conditions and its postharvest performance. *Options Médit.*, 58: 171-179.
- Guo, H. y Ecker, J.R. 2004. The ethylen signaling pathway: New insights. *Current opinion in Plant Biology*, 7 (1):40-49
- Hall, B., Shakeel, S. y Shaller G. 2007. Ethylene Receptors: Ethylene Perception and Signal Transduction. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26 (2):118-130

- Hamauzu, Y., C. Chachin, K. Ding y H. Kurooka. 1997. Differences in surface color, flesh firmness, physiological activity and some components of loquat fruits picked at various stages of maturity. *Journal of the Japanese Society for Horticulture Science* 65:859-865.
- Hirai, M., 1982. Accelerated sugar accumulation and ripening of loquat fruit by exogenously applied ethylene. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 51, 159–164.
- Ichinose, I. 1995. The origin and development of loquat. *Serie Agronomical Techniques*, 4 (Supl.): 1-5
- Kader, A. 2002. Postharvest biology and technology: An overview. p. 39-47. *In* Kader, A.A. (ed.) *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California, Agriculture and Natural Resources, Davis, California, USA.
- Kan, B. M., Shahid, M., y Chaudhry, M. I. 1986: Effect of honey bee pollination on the fruit setting and yield of loquat. *Pakistan J. Forest.*, 36: 73-77.
- Karadeniz, K. 2002: Loquat (*E. japonica* Lindl.) growing in Turkey. *First Int. Symp. Loquat*, CIHEAM-IAMZ, pp. 27 -28.
- Kita, M., Kato, M., Ban, Y, Honda, C., Yaegaki, H., Ikoma, Y y Moriguchi, T. 2007. Carotenoid accumulation in Japanese apricot (*Prunus mume* Siebold and Zucc.): Molecular analysis of carotenogenic gene expression and ethylene regulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(9):3414-3420
- Llácer, G. 2008. Situación actual, problemas y perspectivas del níspero japonés en España. *Vida rural*, N° 70, 2008 , pp 70-72
- Lin, S.Q., Sharpe, R.H. y Janick, J., 1999. Loquat: botany and horticulture. *Hortic. Rev.* 23, 233–276.
- MAGRAMA, 2011. Ministerio Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Anuario de estadística 2011. Superficies y producciones de cultivo. <http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2011/default.aspx?parte=3&capitulo=13&grupo=9&seccion=5>

BIBLIOGRAFÍA

- Martinez-Calvo, J., Badenes, M.L., Llácer, G., Bleiholder, H., Hack, H. y Meier, U. 1999. Phenological growth stages of loquat tree (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). *Ann. Appl. Biol.*, 134: 353-357.
- Martinez-Calvo, J., Badenes, M.L., y Llácer, G. 2000. Descripción de variedades del níspero japonés. Generalitat Valenciana. Serie Divulgació Tècnica No. 47, Valencia, España
- Martínez-Madrid, M.C.; Serrano, M.; Pretel, M.T.; Martínez-Reina, G; Romojaro, F. 2000. The ripening of *Prunus persica* fruits with a dominant flat allele. *Food Science and Technology International* 6: 399-405.
- Martínez, G.; Serrano, M.; Pretel, M.T.; Riquelme, F.; Romojaro, F. 1993. Ethylene biosíntesis and physico-chemical changes during fruit ripening of chirimoya (*Annona cherimola*, Mill). *Journal of Horticultural Science* 68: 477-783.
- Marty, I, Bureau, S., Sarkissian, G., Gouble, B., Audergon, J.M. y Albagnac, G. 2005. Ethylen regulation of carotenoid accumulation and carotenogenic gene expression in color-contrasted apricot varieties (*Prunus armeniaca*). *Journal of Experimental Botany*, 56 (417):1877-1886
- Morton, J.F. 1987. *Fruits in Warm Climates*. Creative Resource System Inc., Miami.
- Mworia, E.G.; Yoshikawa, T.; Yokotani, N; Fukuda, T.; Suezawa, K; Ushijima, K; Nakano, R; Kubo, Y. 2010. Characterization of ethylene biosynthesis and its regulation during fruit ripening in kiwifruit, *Actinidia chinensis* 'Sanuki Gold'. *Postharvest Biology and Technology*, 55: 108-113.
- Philips, J. B., Robertson, K. R., Rohrer, J. R., y Smith, P. G. 1991. Origins and evolution of subfam Maloideae (Rosaceae). *Syst. Bot.*, 16: 303-332.
- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R. C., Oh, S., Smedmark, J. E. E., Morgan, D. R., Kerr, M., Robertson, K. R., Arsenault, M., Dickinson, T. A., y Campbell, C. S. 2005. Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution* 266:5-43.

- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R. C., Oh, S., Smedmark, J. E. E., Morgan, D. R., Kerr, M., Robertson, K. R., Arsenault, M., Dickinson, T. A., y Campbell, C. S. 2007. Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Syst. Evol.*, 266: 5-43.
- Rodrigo, M y Zacarías, L. 2007 Effect of postharves ethylene treatment on carotenoid accumulation and the expression of carotenoid biosynthetic genes in the flavelo of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 43(1):4-22
- Rodriguez, A. 1983. *El cultivo del níspero y el valle de Algar-Guadalest*. Alicante, Sociedad Cooperativa de Crédito de Callosa d'En Sarrià, España.
- Saltveit M E. 1999. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and veg- etables. *Postharv. Biol. Technol.* 15:279-292
- Serrano, M., Zapata, P., Pretel, M.P., Amansa, M.S., Botella, M.A. y Amorós, A . 2004. Changes in organic acid and sugars levels during ripening of five loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars. *Options Médit.*, 58: 157-160.
- Uchino, K. Tatsuda, Y. y Sakoda, K.1994. Relation of harvest date amd skin color to fruit quality of loquat 'Mogi' during maturation. *Journal of Japanese Society for Horticultural Science*, 65:859-895
- Undurraga, P.L. y Olaeta, J.A. 2004. Effect of ethephon (2-chloro-ethylphosphonic acid) applied to the trees on fruit ripening in 'Golden Nugget' loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Options Mediterranéennes*, 58:123-127
- Undurraga, P.L., Olaeta, J.A. y Cancino, C. 2011. Ethylene, enzymatic and respiratory pattern evolution in loquat ((*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) cv. Golden nugget in the last four sequential stages of maturation. *Chilean Journal of Agricultural Research* (71)4: 530-535
- Wang, A., Yamakake, J., Kudo, H., Wakasa, Y., Hatsuyama, Y., Igarashi, M., Kasai, A., Li, T.Z. y Harada, T., 2009. Null mutation of the MdACS3 gene, coding for a ripening-specific 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, leads to long shelf life in apple fruit. *Plant Physiol.* 151: 391-399

BIBLIOGRAFÍA

- Yang SF y Hoffman NE. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol* 35:155–189.
- Zacarías, L., Lafuente, M.T., Marcos, F.F., Saladie, M. y Dupille, E. 2002 Regulation of ethylene biosynthesis cold storage of the chilling-sensitive Fortune mandarine fruit. En: M. Vendrell, H.Klee, J.C. Pech y F. Romojaro (Eds), *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylen III*. 112-117
- Zhang, H.Z., Peng, S.A., Cai, L.H. y Fang, D.Q. 1990. The germplasm resources of the genus *Eriobotrya* with special reference on the origin of *E. japonica* Lindl. *Plant Breeding Abstracts*, 63: 772.
- Zheng, Y., Y. Xi y T. Ying. 1993. Studies on postharvest respiration and ethylene production of loquat fruits. *Acta Horticulturae Sinica* 20:111-115.