



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

**“ESTUDIO DE FITOTOXICIDAD EN APLICACIÓN DE NUEVAS FORMULACIONES DE
ANTIESCALDANTES NATURALES PARA USO EN MANZANAS”**

FRANCISCO JAVIER FLORES REYES

MEMORIA DE TÍTULO

INGENIERO AGRÓNOMO

TALCA, 2019

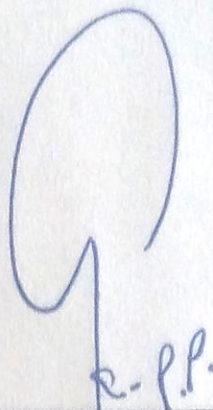
CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2019

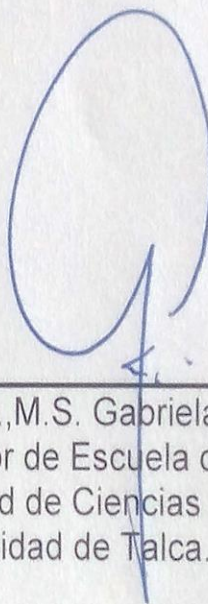
APROBACIÓN:



C.P.P.

Profesor Guía.

Ing. Agr., M.S. PhD. Carolina Torres.
Profesor de Escuela de Agronomía.
Facultad de Ciencias Agrarias.
Universidad de Talca.



G.C.B.

Profesor Informante.

Ing. Agr., M.S. Gabriela Cofre Bravo
Profesor de Escuela de Agronomía.
Facultad de Ciencias Agrarias.
Universidad de Talca.

Agradecimientos

Quiero agradecer a toda mi familia, a nuestra gran mujer, mi bisabuela Lina que tiene 102 años, a mi madre Abigail, a mi tía Sara y mi tío Nolberto, a mi hermano Mauricio. Quienes fueron un pilar fundamental en el periodo en el cual me desarrolle como estudiante en la Universidad, y que claro que lo seguirán siendo en mi vida. Además, en estos momentos culmines de mi carrera, agradecer a todas las personas que se cruzaron en mi largo camino universitario, a todos mis amigos a Luis R., Rodrigo C., Fabián A., René S., L. Duarte, Hernán, M., Felipe G., Alex H., Matías M., Francisca R., Millaray L., Martí A., Héctor R., Mauricio C., Freddy, N., Oscar S., Jesús F., Carolina M., Anita R., y a mis amigos de mi pequeño pueblo a Marcelo S., Armin M., Juan C., José L, R., Cote A., Graciela y Nicolas, a Valeska S. porque me han transmitido conocimiento y de cada uno he aprendido y espero volver a reencontrarme con muchos de ellos prontamente. Y agradecer por supuesto a mi polola Lennia, por su apoyo y su comprensión en estos años, aunque me costó terminar mi carrera estuvo apoyándome, y me siento feliz por eso, así que, gracias a todas las personas que forman parte de mi círculo cercano.

Además, no puedo no dejar de mencionar a mis profesores universitarios, aunque hubo materias en las cuales reprobé, tengo la satisfacción de haberlas aprobado todas y ahora estar terminando mi carrera. A la Mary, nuestra secretaria de la facultad, que fue como mi abogada en la Universidad, y me instó constantemente a terminar mis estudios, es muy profesional. A mi profesora de memoria de tesis, Carolina Torres, una excelente mentora, muy comprometida con los estudiantes, siempre muy afable y cercana, le deseo lo mejor en sus desafíos personales, a su equipo de trabajo en el Centro de Pomáceas, la profesora Gloria y Yudith, excelentes personas.

Se vienen cosas buenas, nuevos proyectos, nuevos desafíos, a seguir creciendo como persona.

RESUMEN

Durante la temporada 2015/2016, se llevó a cabo un estudio para determinar el efecto fito-tóxico de nuevas formulaciones de prototipos de origen Vegetal, que previenen el Escaldado Superficial en aplicaciones post-cosecha, realizado en dos cultivares de manzanas (Granny Smith y Red Chief). La fruta proviene de exportadoras de la Región del Maule, Chile. Los frutos utilizados corresponden a calidad comercial de exportación.

Se realizaron aplicaciones de los prototipos formulados para una solución en base a lípidos complejos, junto con diferentes sistemas emulgentes. Luego, los tratamientos, fueron almacenados en una cámara tipo FC (1°C y 90% HR). Una vez, transcurridas las primeras 24 horas inmediatamente posterior a la aplicación, se realizaron evaluaciones de tipo visual a los tratamientos, en las que fueron registradas tanto la incidencia, como la severidad de fitotoxicidad presente en los frutos. Posteriormente, se realizaron observaciones mediante cortes histológicos, con el fin de caracterizar la lenticela sanas y dañadas.

Los ensayos fueron constituidos por cuatro prototipos con ingrediente activo, aplicados en distintas dosis y tiempo, con la finalidad, de analizar su influencia e interacción de estos factores. Además, se realizaron ensayos de estos cuatro prototipos, esta vez, sin el ingrediente activo, a los cuales, de igual forma se analizó su influencia e interacción de los factores en la incidencia de fitotoxicidad.

Las formulaciones prototipo con i.a. fueron las que causaron la mayor incidencia de daño por fito-toxicidad. Sin embargo, las aplicaciones de los prototipos sin i.a. de igual forma causaron efecto fitotóxico siendo el prototipo 11 el único que presentó diferencia significativa Tukey HSD ($p \leq 0,05$), entre los tratamientos con un menor grado de incidencia de fitotoxicidad. Para el factor dosis, la fitotoxicidad sin i.a. tuvo una diferencia significativa, siendo la dosis al 1% la que causó la menor incidencia de fito-toxicidad. En relación con el factor tiempo, no existieron diferencias significativas. Por lo que la fitotoxicidad presentada en los frutos es independiente del tiempo de exposición de la fruta a los prototipos

ABSTRACT

During the 2015/2016 season, a study was carried out to determine the phytotoxic effect of new prototype formulations of Vegetal origin, which prevent the Superficial Scald in post-harvest applications, carried out in two apple cultivars (Granny Smith and Red Chief). The fruit comes from exporters from the Maule Region, Chile. The fruits used correspond to commercial export quality.

Applications of the formulated prototypes were made for a solution based on complex lipids, together with different emulsifying systems. Then, the treatments were stored in a FC type chamber (1 ° C and 90% RH). Once, after the first 24 hours immediately after the application, visual evaluations were made to the treatments, in which both the incidence and the severity of phytotoxicity present in the fruits were recorded. Subsequently, observations were made through histological sections, in order to characterize healthy and damaged lenticels.

The tests were constituted by four prototypes with active ingredient, applied in different doses and time, with the purpose of analyzing their influence and interaction of these factors. In addition, tests were carried out on these four prototypes, this time without the active ingredient, to which, in the same way, their influence and interaction of the factors on the incidence of phytotoxicity were analyzed.

The prototype formulations with i.a. were the ones that caused the highest incidence of phytotoxicity damage. However, applications of prototypes without i.a. Likewise, they caused a phytotoxic effect, with prototype 11 being the only one that presented a significant Tukey HSD difference ($p \leq 0.05$), among treatments with a lower degree of phytotoxicity incidence. For the dose factor, the phytotoxicity without i.a. had a significant difference, being the dose at 1% which caused the lowest incidence of phyto-toxicity. Regarding the time factor, there were no significant differences. So, the phytotoxicity presented in the fruits is independent of the time of exposure of the fruit to the prototypes.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivos generales.....	3
1.3 Objetivos específicos.....	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 El cultivo del manzano	4
2.2 Característica del cultivar.....	4
2.3 Escaldado Superficial (ES).....	5
2.4 Control de escaldado.....	6
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
3.1. Antecedentes generales.....	9
3.2. Tratamientos	9
3.3 Evaluaciones.....	10
3.3.1 Evaluación visual	10
3.3.2. Cortes histológicos	12
3.4. Diseño y análisis estadístico	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
4.1 Descripción de síntomas de fitotoxicidad en la fruta.....	13
4.1.1 Cortes histológicos	13
4.2. Efecto de los diferentes prototipos anti-escaldante, dosis y tiempo de inmersión en la incidencia de fito-toxicidad	15
4.3 Prototipos con y sin ingrediente activo, aplicados mediante método de inmersión por 1 min en manzanas cv. Granny Smith.	16
5.- CONCLUSIONES	19
6.- CITAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20

1. INTRODUCCIÓN

Chile, es reconocido en el ámbito internacional como un país exportador de productos silvoagropecuario, el país ha diseñado y mantenido una política abierta para las negociaciones en materia agrícola, llegando a firmar 25 acuerdos comerciales con 64 países diferentes. Fomentando el comercio exterior para su producción nacional (Muñoz, 2016). El principal sector para la exportación de productos primarios en Chile lo ocupan las frutas frescas, dentro de las cuales, destaca la Manzana, siendo en la temporada 2013- 2014 la principal fruta de exportación del país. Además, Chile es el mayor exportador de manzanas en el hemisferio sur (WAPA, 2016) y quinto a nivel mundial por debajo de China, Polonia, EE. UU. e Italia (Grau, 2015). Los manzanos son la segunda de las especies frutícolas más plantada a nivel nacional, alcanzando cerca de 12,5% de la superficie frutícola nacional. En volumen las exportaciones las lidera el cultivar Royal Gala, seguido por otras cultivares (Criss Pink, Scarlett, Fuji Raku Raku, Ambrosía, Jazz y otras) en tercer lugar se posiciona el cultivar Granny Smith con 107.000 toneladas (Bravo, 2013).

Para exportar la fruta chilena, ésta debe cumplir con las normas y estándares, dispuestos en el país de destino donde ingresa la fruta. Cada país tiene sus propias exigencias, es por ello, que se hace relevante asegurar la calidad de la fruta. Además, es necesario que la fruta tenga un adecuado almacenamiento poscosecha debido a que ésta puede expresar alteraciones durante este periodo. Una de las alteraciones son los desórdenes fisiológicos, que se presentan bajo condiciones de almacenaje en frío, como, por ejemplo, el Escaldado Superficial (Calvo, 2012).

El Escaldado Superficial (ES) es uno de los desórdenes fisiológicos más perjudicial en manzanas de guarda prolongada (Torres y Hernández, 2014). La presencia del desorden ocasiona un daño económico a los productores, debido a que la condición de la fruta no cumple con los estándares de exportación. lo que provoca una baja en el precio entre un 40 a 50% respecto de fruta sana (Calvo, 2012). En Chile, uno de los cultivares más susceptible es Granny Smith (Torres, Hernández y Fuentes, 2012). Es un desorden, ampliamente estudiado (Lurie y Watkins, 2012) que se ha asociado por muchos años a los productos de la oxidación de un compuesto sesquiterpeno de naturaleza volátil, presente en las ceras de la cutícula de los frutos llamado α -farneseno. Los cuales, a través, de proceso oxidativos ocasionan la muerte de las células hipodérmicas de los frutos (Soria y Recasens, 1998; Lurie y Watkins, 2012; Calvo, 2016; Savran y Koyuncu, 2016).

En general no se expresa durante el almacenaje, sino más bien se expresa durante el periodo de exposición del fruto a temperatura ambiente, posterior a un periodo prolongado de almacenamiento a bajas temperaturas (Soria y Recasens, 1998). Se determinó mediante estudios que el α -farneseno se oxida fácilmente a trienos conjugados (CT), cetonas y alcoholes radicales

(Calvo et al., 2015), los cuales poseen un efecto tóxico en las células hipodermales de la fruta (Zoffoli, 2003).

El ES, por años ha sido ampliamente controlado mediante aplicaciones de algunos productos antioxidantes sintéticos altamente efectivos, como la Difenilamina (DPA) y Etoxiquina (6-etoxi-1,2-dihidro-2,2,4-timetil quinolina) (Abdallah et al., 1997; Lurie y Watkins, 2012). En el año 2009 la Unión Europea rechazó la inclusión del DPA en el Anexo I de la directiva de productos para la protección de las plantas, debido a dudas sobre algunos metabolitos no identificados y la posible formación de nitrosaminas durante el almacenamiento de manzanas tratadas (INTA, 2013). Lo que significa que, el DPA no podría ser utilizado luego de mayo del 2011. Sin embargo, los productores europeos solicitaron "uso de emergencia" hasta por tres temporadas, para continuar aplicándola, con lo cual se extendió el uso de formulaciones con DPA, hasta el 30 de mayo del 2012 (Torres, et al. 2012).

Dentro de las alternativas para reemplazar el DPA en el control de ES, se incluyen según Zoffoli et al. (2018), el uso de 1-metilciclopropeno (1-MCP); la utilización de atmósferas controladas o de ultra bajo oxígeno (ULO; 0,7 kPa O₂); retardadores de madurez; almacenamiento en Atmósfera Controlada Dinámica (DCA); tratamientos de enfriamiento retardado; tratamientos con vapor de etanol. Debido, a que suponen un control parcial o total del desorden. En este sentido, otra alternativa a considerar, son la utilización de recubrimientos con aceites, los que se han sido estudiados durante inicios del siglo XX, hasta la actualidad (Lurie y Watkins, 2012). En estos estudios, se indica que la utilización de envoltorios individuales y tiras de papel impregnadas con aceite mineral. Además, de las aplicaciones directas de aceites minerales, fueron eficaces de manera parcial o total para controlar ES (Ju y Curry, 2001; Lurie y Watkins, 2012; Figueroa, C., 2013; Ramírez, 2016)

En este sentido, los aceites vegetales suponen una alternativa real de control a este desorden, ya que, la ventilación y el uso de envolturas de aceite, fueron los únicos métodos disponibles hasta el descubrimiento de los antioxidantes sintéticos Difenilamina (DPA) y Etoxiquina (Lurie y Watkins, 2012). Sin embargo, el uso de aceites para el control de ES, ha desarrollado en algunos casos efectos secundarios (Fito-toxicidad), que se describen como alteraciones en la superficie del fruto, las cuales, disminuyen su valorización comercial (Scott et al., 1995; Figueroa, 2013; Ramírez, 2016).

Es por ello, que este estudio evaluó diferentes prototipos en base a aceites vegetales que previenen ES. Para ser presentados como nuevas alternativas de control comercial. Los cuales en ensayos preliminares han presentado alteraciones fito-toxicas en los frutos tratados. Por lo que, se vuelve relevante estudiar la incidencia como la severidad del daño expresado en los frutos, con el fin, de poder establecer parámetros (tiempo de exposición y concentración) que aminoren o eviten los efectos secundarios fito-toxicos.

1.1 Hipótesis

El uso de distintas formulaciones prototipo anti-escaldantes, en base a aceites vegetales, causará fito-toxicidad en la fruta.

1.2 Objetivos generales

Aplicar distintos prototipos anti-escaldantes en distintas dosis y momentos de aplicación, con el fin de evaluar el efecto fito-tóxico que puedan tener manzanas cvs. Granny Smith.

1.3 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto fitotóxico causado por distintas formulaciones anti-escaldantes en manzanas cvs. Granny Smith.
- Evaluar el efecto fitotóxico del ingrediente activo en las distintas formulaciones anti-escaldantes
- Evaluar el efecto fitotóxico causado por el uso de distintas dosis de los diferentes prototipos anti-escaldante.
- Evaluar el efecto del tiempo de exposición sobre la incidencia y severidad de la fitotoxicidad en manzanas Granny Smith.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 El cultivo del manzano

El manzano (*Malus domestica* Borkh.) perteneciente a la familia de las Rosáceas, subfamilia Maloideae y al género *Malus* (Ferree y Warrington, 2003). Esta especie se cultiva en zonas climáticas de tipo templadas-frías, las que en Chile se concentran principalmente entre los 34,5° y 38,4° Latitud Sur, siendo la región del Maule una de las más plantadas (Bravo, 2013).

En cuanto a la superficie plantada, ocupa el tercer lugar, después de la vid de mesa y el palto, con un total de 35.652 ha. En términos de exportación, las manzanas representaron la temporada ene-dic 2018 la principal fruta fresca exportada de Chile, con un valor total de 768.882 toneladas, siendo Royal Gala, Red Delicious, Granny Smith y Fuji, los principales cultivares (cvs) (Odepa, 2018).

2.2 Característica del cultivar

El cv. Granny Smith es originario de Ryde, Nueva Gales del Sur, Australia, fue un descubrimiento realizado por María y Thomas Smith en el año 1868, se cree que el árbol original fue una plántula polinizada de "Fren Crab", o cultivares americanos de "Grennig" y "Xleopatra". Es considerada un cultivar importante desde 1950 y se ha cultivado ampliamente en Australia, Chile, Nueva Zelanda y Sudáfrica (Ferree y Warrington, 2003). Es una variedad productiva, parcialmente autoincompatible, el fruto es más bien tipo cónico, regular y homogéneo, mediano a grande, de 190 a 210 gramos de peso y 75 a 80 milímetros de calibre, con pedúnculo mediano. La epidermis es de color verde intenso, con lenticelas blancas bien visibles (Benítez, 2001).

La pulpa es blanca verdosa, firme, crocante, jugosa (Ryugo, 1993; Benítez, 2001). marcadamente ácida y poco perfumada, que al llegar a la madurez pierde su color verde y desarrolla pigmentos amarillos, pierde acidez y sabor, transformándose en un fruto harinoso (Benítez, 2001). En Chile, se ha definido como periodo de cosecha aceptable luego de 162-168 días después de plena flor (DDPF), con 11° Brix de sólidos solubles, degradación de almidón 2-3 en escala de 1-6, y con 16-18 lb de firmeza, se puede conservar durante 8-10 meses, en la región del Maule se cosecha aproximadamente entre mediados y finales del mes de marzo (Gil, 2001).

2.3 Escaldado Superficial (ES)

El Escaldado Superficial (ES) es un desorden fisiológico de postcosecha que afecta tanto a manzanas (*Malus sylvestris* (L) *Var. Domestica* (Borkh.)), como en peras europeas (*Pyrus communis* L.) y peras asiáticas (*Pyrus serótina* Redh.) en todo el mundo (Calvo, 2016). Este desorden se ha reportado a comienzo del siglo XX. Siendo identificado su desarrollo luego de la exposición de frutas en cámaras de almacenamiento refrigerado, alrededor del año 1890. Sin embargo, el termino Escaldado Superficial, fue utilizado a partir del año 1929 (Lurie y Watkins, 2012).

La susceptibilidad de las manzanas al ES se ve afectada por algunos factores como la variedad, estado de madurez de la fruta, climatología, estado nutricional, tratamientos químicos y las condiciones de almacenamiento (Soria y Recasens, 1998; Lurie y Watkins, 2012; Calvo, 2016). El desarrollo de ES se atribuye a procesos oxidativos desarrollados en la cutícula de los frutos, directamente relacionado con un compuesto sesquiterpeno llamado α -farneseno (AF) (Huellin y Coggiola, 1968).

El α -farneseno se acumula en la cutícula de la fruta, poco después de ser almacenada en cámaras de frío llegando a un máximo durante las primeras 8 a 12 semanas, el cual, disminuye a medida que la expresión del desorden aumenta (Lurie y Watkins, 2012). Posteriormente ocurre una oxidación de AF a Hidroperóxidos de trienos conjugados (Tc) a los que se atribuye principalmente el daño en los frutos (Huelin y coggiola, 1970).

Los Trienos Conjugados (TC) se acumulan en la cutícula, luego se oxidan liberando uno o más volátiles tóxicos para la fruta (Calvo, 2016; Niu et al., 2018). Los síntomas del desorden se expresan una vez que la fruta ha pasado por un periodo de almacenaje a bajas temperaturas y luego la fruta es expuesta a temperatura ambiente (Huelin y Coggiola, 1970). Generalmente, los síntomas son expresados por un pardeamiento que en sus etapas iniciales se expresa como manchas en la piel de la manzana y que en estados avanzados se extiende por el fruto, llegando en ocasiones a cubrirlo por completo (Han et al., 2018).

2.4 Control de escaldado

El escaldado es un desorden fisiológico que se debe ser prevenido, ya que una vez presente, no existe un método que ayude a mitigar su desarrollo en el fruto (Jiménez, 2005). Las condiciones predisponentes para la incidencia del desorden se pueden identificar como; La susceptibilidad del cultivar, siendo el cultivar Granny Smith considerado como el más susceptible en Chile (Torres, Hernández y fuentes, 2012).

La zona geográfica y el clima también influyen en la susceptibilidad, siendo las frutas que se cultivan en climas más cálidos y secos las que presentan mayor desarrollo de ES, en comparación a las que se cultivan en climas más fríos (Whitaker, 2007).

Por otra parte, se cree que algunas prácticas a nivel de huerto que disminuyen la presencia del desorden, Como lo son, una buena disponibilidad de agua en las plantas, para permitir el desarrollo de cutículas las que interactúan en el intercambio gaseoso (Cáceres, 2014), así como, determinar el momento oportuno de cosecha. Principalmente, dado que un retraso en la cosecha incrementa la concentración de los compuestos antioxidantes como el α -tocoferol y carotenoides en la manzana (Calvo, 2016). Las que se relacionan con evitar la formación de α -farneseno o bien impedir su oxidación (Soria y Recasens, 1998).

El uso de antioxidantes como la difenilamina (DPA) y etoxiquina (6-etoxi-2,2,4-trimetil-1,2-dihidroquinolina) fueron ampliamente utilizados en el control de escaldado superficial. Actualmente, el uso de DPA no está permitido en varios países europeos por dudas sobre un posible efecto en la salud humana (Soria y Recasens, 1998). En este sentido cada vez el DPA está siendo menos utilizado, privilegiando el uso de otros métodos (Lurie y Watkins, 2012). Por ejemplo, la utilización de tecnologías de almacenamiento (atmósfera controlada (AC); ultra bajo oxígeno (ULO) (Niu et al., 2018). Así como, la utilización de recubrimientos semipermeables (Soria et al, 1995).

Otra opción es el uso de aceite mineral, el que fue utilizado durante varias décadas. Inicialmente, la ventilación y el uso de envolturas de aceite fueron los únicos métodos disponibles hasta el descubrimiento de los antioxidantes (Lurie y Watkins, 2012). Huelin y Coggiola, (1968) atribuyen el efecto controlador de ES a la migración de los α -farneseno desde la cutícula de los frutos hacia la capa de los aceites. Scott et al (1995) sugiere que el mecanismo de control de los aceites vegetales está relacionado con la barrera física que ejercen sobre el fruto, reduciendo la permeabilidad de la cutícula.

En algunas investigaciones, se utilizaron aplicaciones directas de aceites de distinto origen en soluciones acuosas, las que demostraron ser eficaces para controlar ES (Ju y Curry, 2001; Figueroa, C., 2013; Ramírez, 2016). Sin embargo, estas aplicaciones tuvieron en algunos casos presentaron un efecto secundario fitotóxico que disminuye su valorización comercial. Por ejemplo, en aplicaciones de aceite de Palma y Ricino en manzanas las frutas se mantuvieron grasientas, lo cual disminuye su aceptabilidad comercial (Scott et al., 1995).

Otro estudio, realizado en Manzanas con aceites de Aguacate, Oliva y Escualeno, presentaron fitotoxicidad, descritas como manchas de coloración verde intensa en la zona de la lenticelar, las que contrastan con el color natural de los frutos (Figueroa, 2013). Un estudio de Prototipos antiescaldantes realizado en peras cv. Packham's Triumph, identificó fitotoxicidad en las zonas de la lenticela, las que se describen como manchas necróticas que presentan una leve depresión en la lenticela (Ramírez, 2016). La fitotoxicidad por el uso de aceites ha sido reportada, en otras especies.

En un estudio sobre el potencial insecticida y fungicida de aceites de distinto origen (Raps, soja, pescado y mineral) se estudió la fitotoxicidad producida por los aceites en plantas de *Capsicum annum* var. "California Wonder", los cuales presentaban zonas necrosadas en el envés y borde de las hojas, donde se acumulaba el aceite (Varela et al., 2004). Casos de fitotoxicidad por uso de fungicidas (Topguard, captan, azufre, productos de cobre) en hojas de manzanas han sido reportado por Rosenberger, (2014), presentando manchas necrosadas en la lámina y borde de las hojas, en variedades Braebun y Golden Delicious.

En general, el uso de aceites vegetal o mineral en la agricultura ha sido ampliamente, por su bajo impacto en el medio ambiente, estos, son aplicados en conjunto con emulsionantes o coadyuvantes los que mejoran las propiedades fisicoquímicas de los aceites, facilitando su efectividad (Porcuna, 2011). Las aplicaciones de mezclas lipídicas complejas recurrentemente están acompañadas de adyuvantes o ingredientes activos diseñados para penetrar la capa cuticular cerosa de la fruta y/o hojas, los que permiten una mayor difusión de los productos a través de la cutícula (Rosenberger, 2014).

La utilización de aceites naturales para el control de escaldado superficial, en ensayos experimentales en peras ha desarrollado efectos tóxicos en la fruta expuesta (Ramírez, 2016). Algunos autores describen estos efectos secundarios como daños en la zona lenticelar, donde el daño se expresa con la presencia de cambios de color en la piel de la fruta, en algunos casos con manchas irregulares localizadas en algunas zonas o agrupadas en la superficie del fruto. Sin embargo, en algunos casos más extremos se ha identificado que este daño incluso penetra las primeras capas de células de la hipodermis del fruto y afectando principalmente a las células vegetales adyacentes a la lenticela (Curry, 2005; Figueroa, 2013; Ramírez, 2016).

La fitotoxicidad está estrechamente relacionada con productos que tienen la capacidad de penetrar a través de la cutícula del fruto, ocasionando un daño al entrar en contacto con las células epidermales e hipodermales (Rosenberger, 2013). Se ha estudiado el efecto que tiene la composición de la cutícula en relación con la movilidad de pesticidas con el uso de aceleradores a través de la cera cuticular por desorción de compuestos marcados con ^{14}C , lo que indica que existe una relación de este tejido con el transporte de los productos aplicados sobre la superficie de hojas y frutos, teniendo una relevancia la concentración y la composición de la cutícula, Además, de los órganos de la planta (Schreiber, 2006).

Como se ha señalado, la reacción fitotóxica en las hojas y frutos están relacionada con la capacidad de penetrar las barreras naturales de los frutos. En este sentido, la cutícula cobra relevancia. Ya que, es considerada una capa protectora presente en la superficie más externa de las plantas y que interactúa con el ambiente. Principalmente, está compuesta de dos polímeros lipofílicos cutina y ceras cuticulares (Schreiber, 2006; Tafolla et al., 2013).

La cutina es una sustancia lipídica, que crea la estructura básica de la cutícula, proporcionando a su vez la capacidad de resistir daños mecánicos (Tafolla et al., 2013). En cambio, las ceras cuticulares forman agregados sólidos, parcialmente cristalinos, con un punto de fusión mayor que $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, por lo que las ceras cuticulares, ayudan a formar una barrera con el medio exterior (Schreiber, 2006). De igual forma, en los estudios de Ju y Curry, (2001); Figueroa (2013) y Ramírez, (2016) la fitotoxicidad se ha relacionado a la lenticela, como una zona en donde los aceites se acumulan y producen los efectos tóxicos para las células. Esto puede estar relacionado con la estructura de lenticela, ya que, estas suelen ser sobresalientes con respecto a la epidermis que las rodea, La función de las lenticelas tiene estrecha relación con el intercambio gaseoso, permitiendo la salida de CO_2 debido del metabolismo interno y dejando entrar O_2 (Lozano, 1998). Las lenticelas varían en número y tamaño dependiendo del desarrollo de la fruta y son más o menos abiertas a la atmósfera. La base de la lenticela está cubierta por una capa de cutícula, pero, por lo general es más delgada que la del tejido adyacente (Curry, 2003).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Antecedentes generales

El estudio se realizó durante la temporada 2015/2016, con manzanas correspondientes a los cultivares Granny Smith y Red Chief provenientes de exportadoras de la Región del Maule, Chile. La fruta fue dispuesta en cajas de exportación, y almacenadas bajo un sistema de frío convencional (FC:1°C, 90% HR) en cámaras pertenecientes al Centro de Pomáceas de la Universidad de Talca, lugar donde permanecieron el tiempo que duró el estudio.

3.2. Tratamientos

En las etapas iniciales del estudio, fueron utilizados tratamientos que contenían el ingrediente activo (i.a.) y se identificaron como Prototipos 7; 11; 13 y 22. Los cuales, se evaluaron en 2 cultivares; Granny Smith y Red Chief. Las dosis utilizadas fueron 1, 2% de solución final, mediante inmersión por 1 y 2 minutos en una solución acuosa de 10 Litros. Para cada uno de los tratamientos, se realizaron 3 repeticiones con 33 frutos cada una. Los cuales fueron evaluados individualmente de forma visual, posterior a la aplicación (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos aplicados a manzanas cultivar Granny Smith y Red Chief. Temporada 2015-2016.

INMERSIÓN		
Prototipo	Dosis	Tiempo
7	1%, 2%	1 min, 2 min
11	1%, 2%	1 min, 2 min
13	1%, 2%	1 min, 2 min
22	1%, 2%	1 min, 2 min

Posteriormente, fueron utilizados los cuatro tratamientos descritos en el cuadro 1 en una segunda aplicación, esta vez, sin presencia del ingrediente activo (i.a), utilizando solo los sistemas emulgentes (Adyuvantes). Los que fueron identificados como Prototipo 7, 11, 13 y 22 (sin i.a.). Para cada uno de los tratamientos, se realizaron 3 repeticiones con 33 frutos cada una, mediante método de inmersión por 1 minutos en una solución acuosa de 10 Litros, siendo las dosis utilizadas 1, 2 y 3% de solución final (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos aplicados manzanas cv. Granny Smith mediante método de inmersión. Temporada 2015-2016.

Prototipo	Dosis	Tiempo
Prototipo 7 (sin i.a)	1%, 2%, 3%	1 min
Prototipo 11 (sin i.a)	1%, 2%, 3%	1 min
Prototipo 13 (sin i.a)	1%, 2%, 3%	1 min
Prototipo 22 (sin i.a)	1%, 2%, 3%	1 min

Posteriormente, la fruta se almacenó en cámaras de frío pertenecientes al Centro de Pomáceas de la Universidad de Talca, a una temperatura y humedad relativa de 1°C y 90%, respectivamente.

3.3 Evaluaciones

Luego de transcurridas las primeras 24 horas se procedió a retirar los tratamientos del almacenamiento y se expusieron a temperatura ambiente (14-16°C) por 30-40 min y se realizó una evaluación visual a cada uno de los frutos, con el fin de poder determinar la presencia de alguna modificación en la apariencia el fruto atribuible a un efecto fitotóxico del producto, registrando los resultados para un posterior análisis estadístico. El procedimiento fue reiterado luego de 48 horas y luego a las 72 horas post aplicación.

3.3.1 Evaluación visual

La evaluación visual se realizó a través de la observación bajo una Lupa Eschenbach flexo (2,5X) (Fig. 1), la cual cuenta con un foco luminiscente, el que permite generar contraste sobre la superficie del fruto y obtener una observación más detallada. Las imágenes fueron capturadas con una cámara Canon EOS Rebel T6 EF-S 18-55mm f/3.5-5.6 (1-3X).

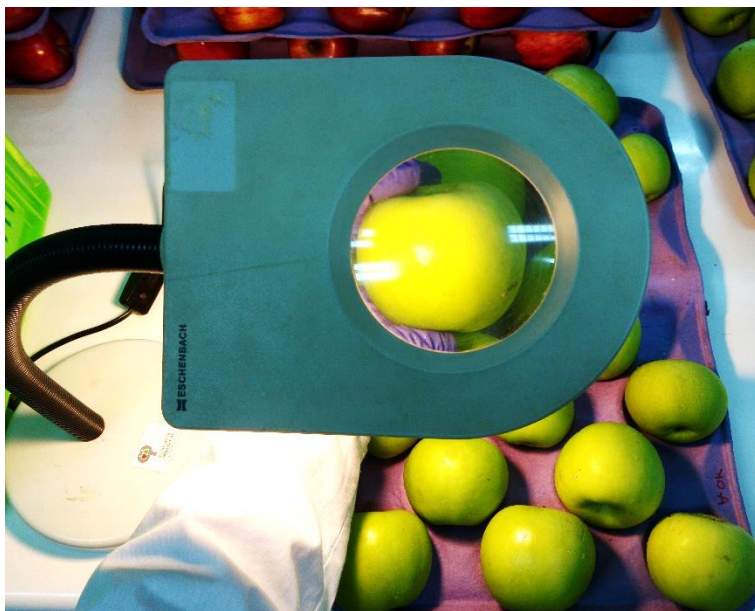


Figura 1.- Observación visual de síntomas de fito-toxicidad post-aplicación de prototipos antiescaldantes, bajo un haz de luz proporcionado por lupa óptica, cv Granny Smith.

Se consideraron tres niveles para categorizar la severidad de fito-toxicidad, según la proporción de lenticelas dañadas en el fruto: Leve; 1-10% del fruto afectado; Moderado, 11-40% y Severo, >40% (Fig. 2).

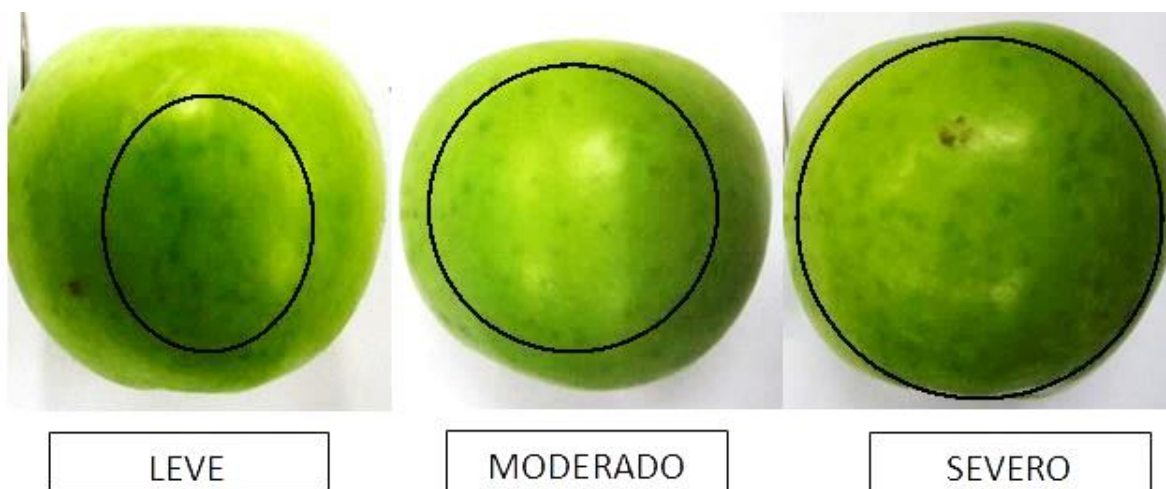


Figura 2. Niveles de fito-toxicidad en manzanas cv. Granny Smith.

3.3.2. Cortes histológicos

Para observar con mayor profundidad el efecto fitotóxico de los prototipos evaluados en este estudio, se aislaron frutos con y sin efecto fitotóxico. A los cuales, se realizaron cortes histológicos longitudinales y transversales, en la zona de la lenticela (Fig. 3a). Los que permitieron posteriormente en un Microscopio Binocular Halógeno marca LSS (rango de observación 60x) (Fig. 3b), observar los efectos en la zona adyacentes a estas formaciones irregulares visibles a simple vista.

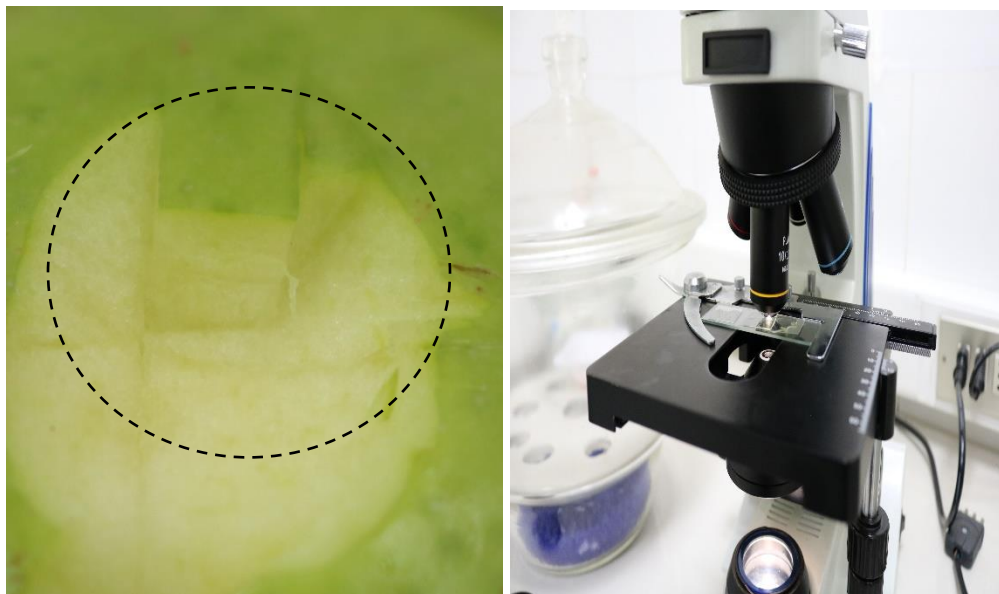


Figura 3. (a) Cortes histológicos longitudinales y transversales en cv Granny Smith en zona cercana a lenticela dañada por fitotoxicidad (b) Microscopio Binocular Halógeno marca LSS, con muestra de tejido en un portaobjeto.

3.4. Diseño y análisis estadístico

Para el ensayo se estableció un diseño completamente al azar (DCA), con 4 tratamientos identificados como Prototipos 7, 11, 13 y 22. Y posteriormente 4 tratamientos con Prototipos 7, 11, 13, y 22 (sin i.a.) con 3 repeticiones por cada tratamiento en cada caso. Para realizar el análisis correspondiente a cada uno de los factores identificados en este estudio, siendo estos, Tratamiento, Tiempo de inmersión y Dosis de solución final.

Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA), para establecer la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos. Cuando se observaron diferencias significativas se procedió a realizar una separación de medias mediante el test de Tukey HSD ($p \leq 0,05$), con un intervalo de confianza del 95%. Para todos los análisis se utilizó el Software estadístico 'Statgraphics Centurion XVI'.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Descripción de síntomas de fitotoxicidad en la fruta

Los síntomas de fitotoxicidad observados en el cv. Granny fueron un cambio en la pigmentación de la piel de la fruta (color verde mas intenso), específicamente sobre las lenticelas (Figura 4). La mancha no presentó depresión, contrario de lo registrado en otros desordenes asociados a la zona lenticelar, como lo son Bitter Pit y Lenticelosis. Estos últimos presentan depresiones una vez el daño avanza (Grimm et al, 2012). Además, el síntoma del daño no presentó diferencias con los distintos prototipos o con las distintas dosis evaluadas.

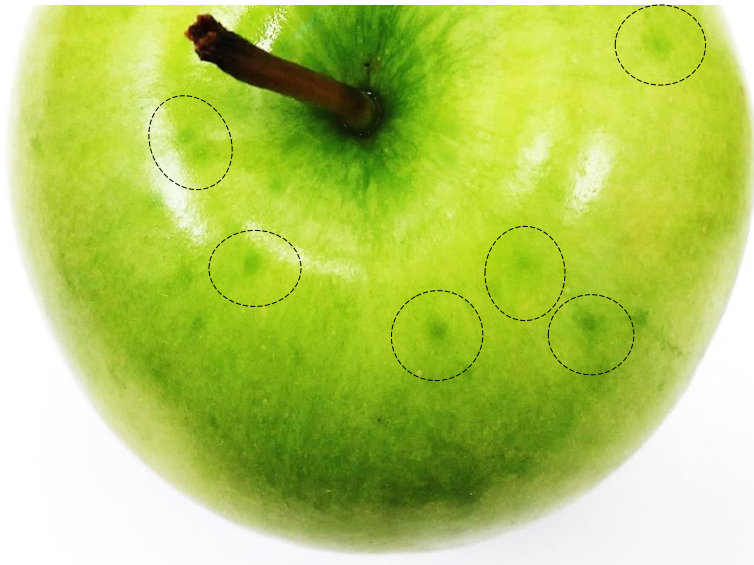


Figura 4.- Síntomas de fito-toxicidad en manzanas cv. Granny Smith.

4.1.1 Cortes histológicos

Los cortes histológicos transversales realizados en el tejido dañado evidenciaron como las células de la zona lenticela presentaban un pardeamiento leve hasta un marrón intenso (Fig. 5 A-B). Estas observaciones son similares a las realizadas en un estudio de peras cv. Packham's Triumph, en el que, se describe el daño en la zona lenticela como una acumulación del producto en las células cercanas al espacio del poro lenticelar, cambiando su tonalidad, muy probablemente asociado a oxidaciones en las células que entran en contacto con el producto, y que no son observadas a simple vista.

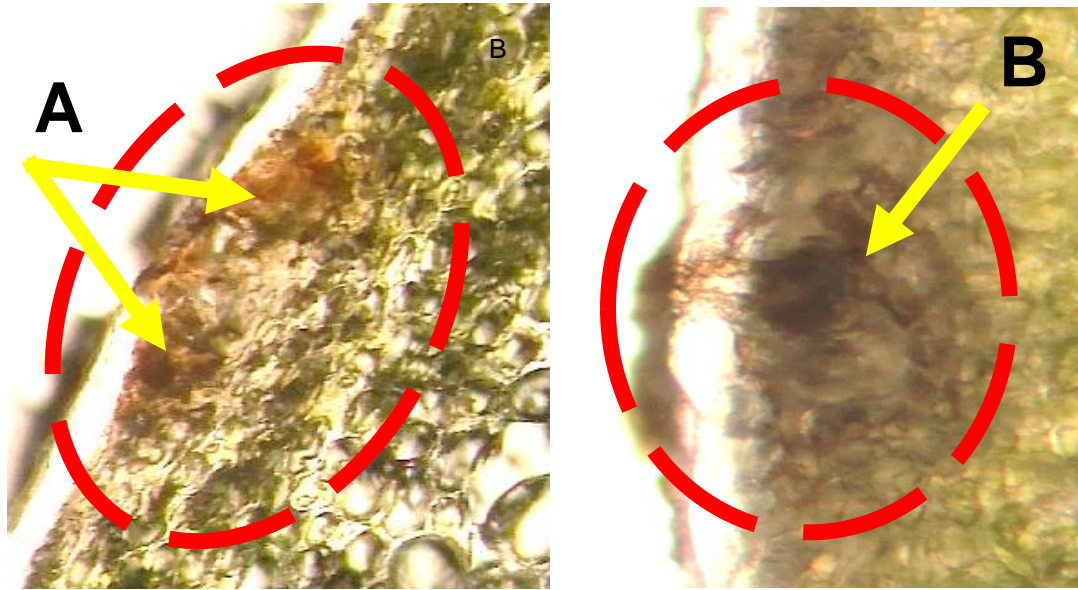


Figura 5. (A) Vista de lenticela dañada, en corte histológico transversal con tejido con pardeamiento leve > 72 horas postaplicación de prototipo 22. (B) Vista de lenticela dañada en corte histológico transversal con tejido con zona marrón intenso > 72 horas postaplicación de Prototipo 13. Ambos en cv. Granny Smith.

Sin embargo, a simple vista el daño es observado como un cambio en la tonalidad de la zona circundante de algunas lenticelas. los cortes histológicos longitudinales muestran un halo circular cercano a la zona de la lenticela, la que puede ser asociada a la presencia del compuesto aplicado.

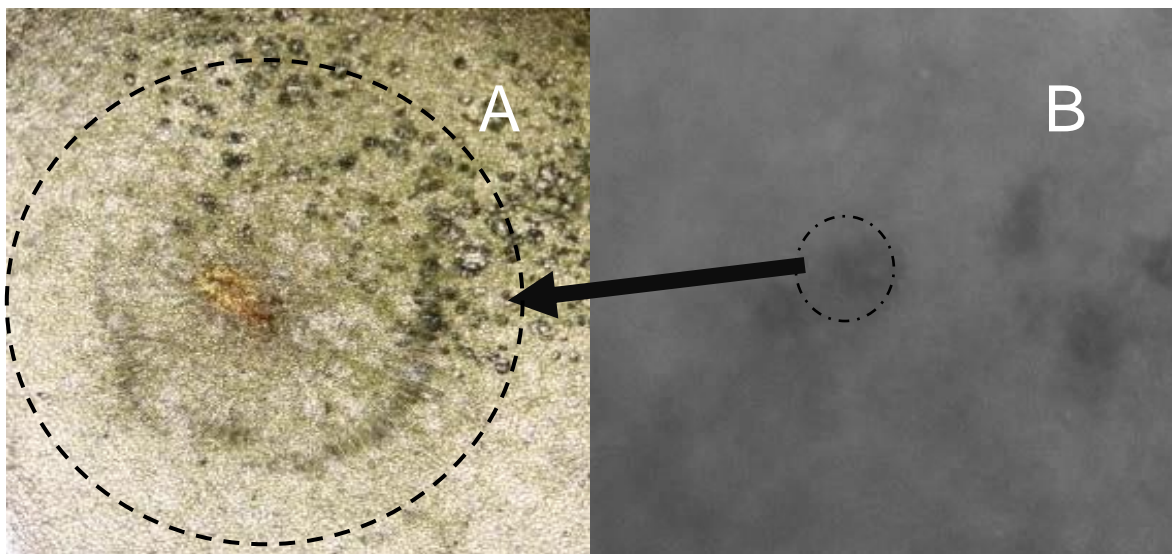


Figura 6. (A) Vista de lenticela dañada en Microscopio Binocular Halógeno marca LSS (rango de observación 10x aumentado x2), en corte histológico longitudinal con tejido con pardeamiento leve > 72 horas postaplicación de prototipo 22 en lenticela en cv. Granny Smith. (B) fotografía captada con cámara Canon EOS Rebel T6 EF-S 18-55mm f/3.5-5.6 (3x).

4.2. Efecto de los diferentes prototipos anti-escaldante, dosis y tiempo de inmersión en la incidencia de fito-toxicidad

Si analizamos la incidencia total de fitotoxicidad, sin considerar el grado de severidad presentado. Se puede determinar que está influenciada tanto por el Prototipo, la dosis y el tiempo de aplicación, ya que, no existieron diferencias estadísticamente significativas en la interacción de estos tres factores (Cuadro 3). Estos resultados nos indican que para la inmersión por 1 min las dosis 1 y 2 % los factores evaluación, dosis y tiempo, no influyen por si solo en el resultado de fitotoxicidad.

Cuadro 3. Incidencia de fito-toxicidad (%) en manzanas cv. Granny Smith tratadas con cuatro prototipos anti-escaldante, mediante método de inmersión, con tiempos y dosis distintas. Temporada 2015-2016.

Factor	Incidencia (%)
Evaluación	
Prototipo 7	49,40
Prototipo 11	40,85
Prototipo 13	55,32
Prototipo 22	68,42
Valor p	0,16
Dosis	
1%	45,40
2%	61,08
Valor p	0,09
Tiempo	
1 min	48,00
2 min	59,00
Valor p	0,17
Interacciones	
Prototipo x Dosis	0,32
Prototipo x Tiempo	0,36
Dosis x Tiempo	0,07

Nota: valores $p > 0,05$ no difieren estadísticamente, (Test HSD, $p \leq 0,05$).

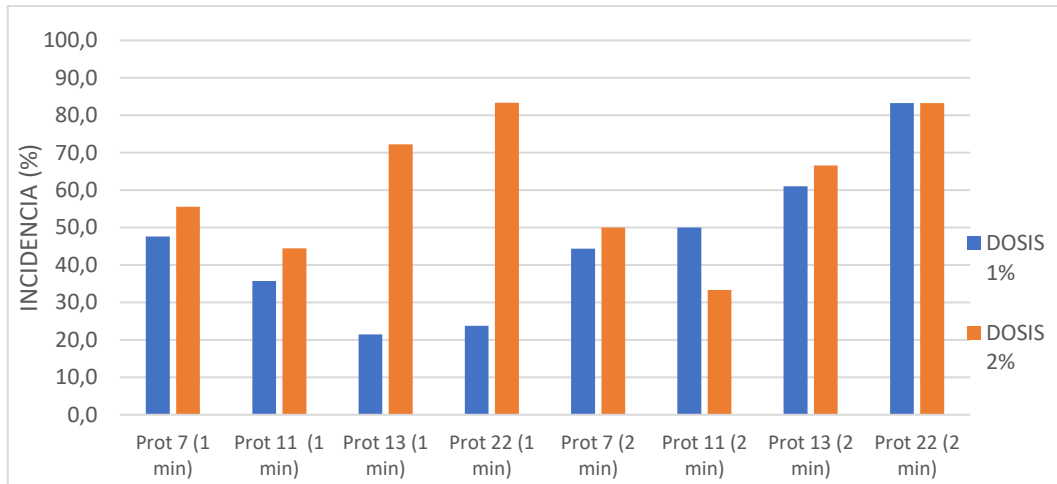


Figura 6. Incidencia de fito-toxicidad (%) en manzanas cv. Granny Smith en sistema emulgente de prototipos 7, 11, 13 y 22, durante 1 y 2 minutos de inmersión, en dosis de 1 y 2 %.

4.3 Prototipos con y sin ingrediente activo, aplicados mediante método de inmersión por 1 min en manzanas cv. Granny Smith.

La incidencia de fito-toxicidad en manzanas cv. Granny Smith estuvo influenciada tanto por el prototipo anti-escaldante utilizado, la dosis y la presencia del ingrediente activo, ya que, existieron diferencias estadísticamente significativas cuando existió interacción de estos tres factores (Cuadro 4). El prototipo 11 sin ingrediente activo, con dosis al 1, 2 y 3% no mostró desarrollo de fitotoxicidad, por lo que su sistema emulgente resulta inofensivo para la fruta, en cambio el sistema emulgente de del prototipo 7 mostró un alto porcentaje de fruta con fito-toxicidad, cercano al 100% (Fig. 7).

Cuadro 4. Incidencia de fito-toxicidad (%) en manzanas Granny Smith tratadas con cuatro prototipos anti-escaldante con y sin ingrediente activo, mediante método de inmersión, con tiempo de aplicación de 2 minutos. Temporada 2015-2016.

Factor	Incidencia (%)
Prototipo	
Prototipo 7	82,86
Prototipo 11	27,23
Prototipo 13	39,18
Prototipo 22	31,78
Valor p	0,00
Dosis	
1%	30,44
2%	53,36
3%	52,0
Valor p	0,01
Ingrediente activo	
No	34,45
Si	56,07
Valor p	0,00
Interacciones	
Prototipo x Dosis	0,12
Prototipo x Ingrediente	0,04
Dosis x Ingrediente	0,00

Nota: valores $p > 0,05$ no difieren estadísticamente, (Test HSD, $p \leq 0,05$).

El resto de los tratamientos, independiente si tuvieran o no el ingrediente activo, son dependientes de la dosis utilizada siendo la dosis al 1% con un 30,44 % de fitotoxicidad, es significativamente diferente a las 2 y 3% presentando una menor incidencia de fitotoxicidad. Por lo que se puede postular que la dosis de los Prototipos sin i.a. influye en la fitotoxicidad (Fig. 7). El mayor porcentaje de incidencia de fito-toxicidad en los prototipos con ingrediente activo (i.a.) 56,07 % es significativamente distinto a los prototipos sin i.a., esto puede atribuirse a la combinación del ingrediente activo con el sistema emulgente. Siendo el i.a. capaz de traspasar la capa protectora de la cutícula (Kirkwood,1999). Como a su vez, los adyuvantes son capaces de actuar como plastificantes de las ceras cuticulares y, como consecuencia, mejoran el ingreso de los i.a. (Schreiber, 2006).

Esta idea concuerda con el estudio de Gepp et al. (2011), donde señala que los adyuvantes que son incorporados a los fungicidas pueden aumentar la eficacia de éste. Sin embargo, en ocasiones pueden causar un efecto fito-tóxico en los órganos de la planta. En la misma línea, se pudo observar que, aunque sea en un porcentaje menor, los sistemas emulgentes por sí solos podrían ser capaces de causar un efecto fito-tóxico en la fruta, ya que, formulaciones prototipos sin contenido de ingrediente activo presentaron daño por fito-toxicidad siendo los prototipos 7 y 11 diferentes entre sí (Fig. 7).

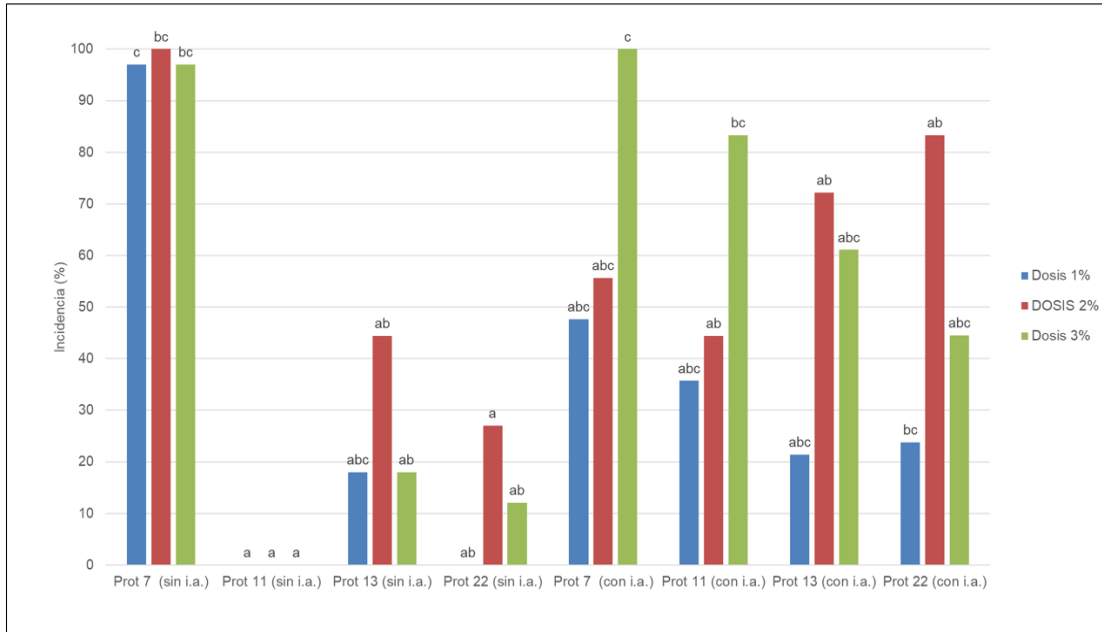


Figura 7. Incidencia de fito-toxicidad (%) en manzanas cv Granny Smith tratadas con cuatro prototipos anti-escaldante con ingrediente activo (con i.a.) y sin ingrediente activo (sin i.a.), mediante método de inmersión, con tiempo de aplicación de 1 minuto.

Nota: Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente, (Test HSD, $p \leq 0,05$).

En manzanas, se ha observado que la combinación de fungicidas como el Captan con adyuvantes, provocan efectos fito-tóxicos en plantas y frutos (Abbott y Beckerman, 2018), lo cual estaría ligado a un aumento en la penetración del producto debido al efecto del adyuvante. De igual forma Ramírez, (2016). Menciona que este efecto fitotóxico desarrollado en la zona de la lenticela puede ser atribuido a los sistemas emulgentes, ya que estos permitirían que la mezcla lipídica ingrese con mayor facilidad y se deposite en el fruto, específicamente en las lenticelas, lo que ocasiona el daño.

Por otra parte, las aplicaciones del prototipo

5.- CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

- Las formulaciones evaluadas en este estudio causaron fototoxicidad en el cultivar Granny Smith. Ya sea, con o sin ingrediente activo, por lo que, independiente del sistema emulgente utilizado. Por lo que se puede atribuir a el cultivar la sensibilidad de presentar este efecto toxico causado por el emulgador. Aún así es necesario continuar con el estudio, para evaluar los sistemas emulgentes, con cada adyuvante a modo de determinar su concentración a utilizar.
- Es importante para futuros estudios realizar evaluaciones sensoriales, para determinar el efecto de los prototipos en la epidermis de algunos frutos, y su comerciabilidad y aceptación por los consumidores.
- En relación con el factor tiempo, no existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Por lo que la fitotoxicidad presentada en los frutos es independiente del tiempo de exposición de la fruta a los prototipos.
- Finalmente, cada vez, es más común en la búsqueda de alternativas de control para Escaldado Superficial, esto debido a la creciente demanda por productos más amigables con el medio ambiente. En este sentido el uso de aceites de origen vegetal se ha demostrado que es una alternativa factible. Sin embargo, se debe tener especial atención a los ingredientes activos y a los sistemas emulgentes, para evitar efectos, para el cultivar cv. Granny Smith ya que ha demostrado presentar una alta sensibilidad a las aplicaciones de los prototipos evaluados.

6.- CITAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbott, C., & Beckerman, J. 2018. Incorporating Adjuvants with Captan to Manage Common Apple Diseases. *Plant Disease*, 102(1), 231-236.
2. Benitez, C., 2001. Cosecha y Poscosecha de Peras Y Manzanas. INTA alto Valle. [Archivo PDF]. Recuperado de: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-cosecha_poscosecha_peras_manzanas.pdf
3. Bravo, J. 2013. Manzanas: una temporada de alto valor de exportaciones. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Santiago, Chile. 13p.
4. Cáceres Vargas, Ximena del Carmen, Torres del Campo, Carolina Andrea, & Yuri Salomón, José. 2014. Evaluación de nuevos métodos de control químico de escaldado superficial en peras cv. Packham's Triumph. Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía.
5. Calvo, G. 2012. Control de escaldadura superficial en peras: situación actual y perspectivas. EEA INTA Alto Valle. p 2-60.
6. Calvo, G. 2016. El escaldado superficial en pera "Beurré d'Anjou": etiología y desarrollo de sistemas de contro. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA INTA Alto Valle. Argentina. p 3-62
7. Calvo, G., Candan, AP., Civello, m., Gine-Bordonaba, j., 2015. Una visión del papel de la madurez de la fruta en la cosecha en el desarrollo de escaldado superficial en la pera Beurre D'Anjou *Sci. Hortic.* 192 (2015) , pp. 173 – 179
8. Curry E., 2003. Factors Associated with Apple Lenticel Breakdown. Washinton State University-Tree Fruit Research And Extension Center. p 1-9.
9. Curry E., 2005. Ultrastructure of epicuticular wax aggregates during fruit development in apple (*Malus domestica* Borkh.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* p 668–676.
10. Ferree D., Warrington I. 2003. Apples: botany, production and uses. CAB International Cambridge, Massachusetts: p 660, 2003.
11. Figueroa Chat, Catalina, Torres del Campo, Carolina Andrea, & Lepe Martínez, Valeria. 2013. Alternativas de control de escaldado superficial, a base de aceites naturales en manzanas cv. Granny smith. Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía.
12. Gatti, R., 1985. Importancia del Calcio en la calidad de las manzanas. *Revista frutícola*. Vol. 6 N°1. p 9-11.
13. Gepp, V. & Mondino, P. 2011. Control químico. p 1-17
14. Gil, G., 2001. Fruticultura: madurez de la fruta y manejo de poscosecha. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. P413.
15. Grau, P., 2015. La Importancia de la Industria de la Manzana Chilena en el Mercado Internacional, Instituto de Investigaciones Agropecuaria (INIA). Chillan, Chile. 5p.

16. Grimm, E., Khanal, B., Winkler, A., Knochea, M. and Köpcke, D. 2012. Structural and physiological changes associated with the skin spot disorder in Apple. *Biol postcosecha. Technol.*, 64. p. 111-118.
17. Han, Liu, Li, Wang, & Ni. 2019. Comparison of biochemical properties of membrane-bound and soluble polyphenol oxidase from Granny Smith apple (*Malus domestica* Borkh.). *Food Chemistry, Food Chemistry*.
18. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuario (INTA). 2013. Situación actual de los antiescalantes utilizados en peras y manzanas. [Archivo PDF]. Recuperado de http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_situacion-actual-antiescalantes.pdf
19. Jiménez Morales, María Pía, Moggia Lucchini, Claudia, & Yuri Salomón, José. 2005. Efecto de una reaplicación de DPA sobre el desarrollo de escaldado y evolución de compuestos involucrados en manzanas Granny Smith. Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía
20. Ju, Z.G & Curry, E.A. 2001. Plant Oil Emulsions Prevent Senescent Scald and Core Breakdown and Reduce Fungal Decay in "Bartlett" Pears. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Tree Fruit Research Laboratory. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* p 358-363.
21. Lozano Dieguez, Patricio Alejandro, Moggia Lucchini, Claudia, & Yuri Salomón, José. (1998). Toxicidad potencial de frutos de manzano por inmersiones en solución de cloruro de calcio en postcosecha. Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía
22. Lurie S. Watkins C.B. 2012. Escaldado superficial, su etiología y control. *Poscosecha Biología y Tecnología*. volumen 65, p.44-60.
23. Muñoz, M. 2016. Boletín frutícola. 1st ed. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Santiago, Chile. 22p.
24. Niu, Hou, Ou, & Hui. 2018. Comparative study of effects of resveratrol, 1-MCP and DPA treatments on postharvest quality and superficial scald of 'Starkrimson' apples. *Scientia Horticulturae*, 240, 516-521.
25. Porcuna, J., 2001. Aceites Minerales. Ficha Práctica N°6. [Archivo PDF]. Recuperado de https://www.agroecologia.net/recursos/Revista_Ae/Ae_a_la_Practica/fichas/n6/ficha-revista-ae-6-aceites-minerales.pdf
26. Ramírez Moyano, Luis Alejandro, Torres del Campo, Carolina Andrea, & Hernández Céspedes, Omar Antonio. 2015. Estudio de fito-toxicidad en aplicación de nuevas formulaciones de anti-escalantes naturales para uso en peras. Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía.
27. Rosenberger, D. 2013. Managing Fungicides to Minimize Fruit and Leaf Injury. Dept. of Plant Pathology and Plant Microbiology, Cornell's Hudson Valley Lab, Highland, NY 12528. p 1-3

28. Rosenberger, D. 2014. Adjusting Spray Programs to Suppress Fruit Russet and Minimize Phytotoxicity Risks for Apples. NEW YORK FRUIT QUARTERLY. VOLUME 22. NUMBER 1. p 3-8.
29. Ryugo, K. 1993. Fruticultura : Ciencia y arte. México: AGT
30. Savran, H. E., & Koyuncu, M. A. 2016. The effects of superficial scald control methods having different effect mechanisms on the scald formation and α -farnesene content in apple cv. 'Granny Smith'. Scientia Horticulturae, 211, 174-178
31. Schreiber, L. 2006. Journal of Experimental Botany 57(11), 2515-2523.
32. Scott, K., Yuen, C., & Kim, G. 1995. Reduction of superficial scald of apples with vegetable oils. Postharvest Biology and Technology, 6(3-4), 219-223
33. Soria Villalonga, Yolanda, Recasens Guinjuan, Inmaculada, & Universitat De Lleida. Departament De Hortofruticultura, Botànica I Jardineria. 1998. *El escaldado superficial en manzana Granny Smith. Fisiologia de la alteración y estudio de métodos de control alternativos a la difenilamina*. Universitat de Lleida
34. Tafolla, J., González, A., Tiznado, M., Zacarías, L. and Báez, R. 2013. Composition, Physiology and Biosynthesis of Plant Cuticle. Artículo de revisión. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 36 (1). p 3-12
35. Torres, C., Hernández, O. 2014. Desórdenes Fisiológicos: Bio-marcadores para estimar el riesgo de aparición en postcosecha de manzanas. Boletín técnico Volumen14 N° 4. Centro de Pomáceas Universidad de Talca. Talca, Chile.
36. Torres, C., Hernández, O. y Fuentes, M., 2012. Escaldado superficial en manzanas: nuevos desafíos, Boletín técnico N° 12. Centro de Pomáceas Universidad de Talca. Talca, Chile.12(1): 1-6p
37. Varela, I., Cabaleiro, C. y Martín, B., 2004. Empleo de aceites de distinto origen, en programas de manejo integrado en pimiento para el control del pulgón Myzus Persicae (Sulzer) [Archivo PDF]. Recuperado de <https://www.miteco.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/plagas/bsvp-30-01-02-185-195.pdf>
38. Warrington, I., & Ferree, D. 2003. Apples : Botany, production and uses. Wallingford, UK: CABI.
39. Whitaker, B. D. 2007. Oxidation products of α -farnesene associated with superficial scald development in "d-Anjou" pear fruits are conjugates trienols. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55. p 3708-3712
40. World Apple and Pear Association (WAPA). 2016. Overview Southern Hemisphere forecast, Recuperado de http://www.wapa-association.org/docs/2016/Press_release_WAPA_AGM_05.02.2016.pdf

41. Zoffoli, J., Sanguedolce, V., Naranjo, P., & Contreras, C. 2018. Prestorage Temperature and Ultra-low Oxygen Treatments Affect Incidence of Physiological Disorders in Organic 'Granny Smith' Apples. *HortScience*, 53(10), 1475-1481.
42. Zoffoli, J.P.,2003. Avances en el control de escaldado superficial de manzanas Granny Smith, *Rev. Agronomía y Forestal UC*. 6:22-26.