

UNIVERSIDAD DE TALCA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS ESCUELA DE AGRONOMÍA

Eficacia de distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicados por termonebulización e inmersión en el control de *Botrytis cinerea* y *Penicillium* expansum en manzanas cv. Fuji durante postcosecha

MEMORIA DE TÍTULO

Pablo Andrés Miranda Yáñez

TALCA-CHILE

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, 2020

Aprobación:

Profesor Guía: Ing. Agr. M.S. Ph.D. Mauricio Lolas C.

Profesor
Asociado Escuela
de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias

Profesor Informante: Ing. Agr. Mg. Cs. Dr. Gonzalo A. Díaz
Profesor Asistente

Agronomía Facultad de Ciencias Agrarias

Escuela de

Fecha de presentación de Memoria de Título: 29 de mayo del 2020

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres David y Marianela, a mis hermanos David y Daniela por su apoyo incondicional, fortaleza, y por creer siempre en mis capacidades.

También quiero agradecer en forma muy especial a mi pareja Ángela y a mi amigo Juan Manuel por el apoyo, compañía, y preocupación en los momentos más complicados de este periodo.

Agradezco al profesor Mauricio Lolas por la ayuda y disposición que me brindó para poder finalizar mi memoria.

Por último, quiero agradecer a todos mis amigos que ayudaron de una u otra forma a terminar esta linda etapa.

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la eficacia de distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicados vía termonebulización y vía inmersión en el control de Botrytis cinerea, causante del Moho Gris y Pudrición Calicinal, y de Penicillium expansum, causante Moho Azul, durante la postcosecha de manzanas. Con este propósito, manzanas cv. Fuji fueron desinfectadas superficialmente con hipoclorito de sodio al 10%, y heridas en la zona ecuatorial, para luego aplicar los tratamientos fungicidas del estudio. Después de la protección, se inoculó con una suspensión de conidias (15 μL de 10⁵ conidias/mL) de *B. cinerea* y *P. expansum*. Como testigos, manzanas heridas pero que no recibieron los tratamientos fungicidas, fueron igualmente inoculadas con los hongos fitopatógenos. Los resultados obtenidos después de tres meses de almacenaje a 0°C, mostraron que el fungicida fludioxonilo aplicado a través de las formulaciones Scholar RTU y Scholar EZ vía termonebulización mostraron una baja eficacia de control de B. cinerea y P. expansum en manzanas cv. Fuji. La formulación Scholar RTU presentó un mejor comportamiento que la formulación EZ en el control de ambos tipos de pudrición. El fungicida Scholar® 230 SC aplicado vía inmersión presentó una alta eficacia en el control de los hongos Botrytis cinerea y Penicillium expansum en manzanas cv. Fuji. Los fungicidas Scholar RTU y Scholar EZ aplicados vía termonebulización fueron menos eficaces que Scholar® 230 SC aplicado vía inmersión en el control de B. cinerea y P. expansum en manzanas cv. Fuji.

ABSTRACT

The present study aims to evaluate the efficacy of different formulations of the fungicide fludioxonil applied through thermofogging and drenching in the control of *Botrytis cinerea*, causal agent of Gray Mold and Calix-End Rot, and *Penicillium expansum* causal agent of Blue Mold during the post-harvest of apple. Whit this purpose, apples cv. Fuji were superficially disinfected with 10% sodium hypochlorite, and wounded in their equatorial zone, to be later treated with the fungicidal treatments of the study. After protection, conidia suspension (15 µL of conidia/mL) of *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* was inoculated over the protected wound. As a control, wounded but fungicide unprotected apples were used. After three months of storage at 0°C, the fungicide fludioxonil applied as Scholar RTU and Scholar EZ formulations via thermofogging showed a low control efficacy of *B. cinerea* and *P. expansum* in apples cv. Fuji. The Scholar RTU formulation had a better performance than the EZ formulation in the control of both types of rot. Scholar® 230 SC applied through drenching showed a high control efficacy of *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum*. Therefore, both Scholar RTU and Scholar EZ fungicides applied via thermofogging were less effective than Scholar® 230 SC applied via drenching in the control of *B. cinerea* and *P. expansum* in apples cv. Fuji.

INDICE

Pagina

1	INT	RODUCCIÓN	1
1.1	F	lipótesis	3
1.2	c	Objetivo general	3
1.3	C	Objetivos específicos	3
2	RE	VISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	E	El cultivo de la manzana en el mundo y en Chile	4
2.2	E	Enfermedades de postcosecha de importancia económica de la manzana	5
2	.2.1	Moho Gris y Pudrición calicinal de las manzanas	5
2	.2.2	Corazón mohoso y pudrición lateral de las manzanas	9
2	.2.3	Moho azul de las manzanas	11
2.3	F	Principales métodos de control	13
2	.3.1	Control integrado	13
2	.3.2	Fungicidas utilizados en postcosecha de manzanas	14
	Tial	bendazol	14
	Piri	metanilo	15
	Flu	dioxonilo	16
2	.3.3	Métodos de aplicación de los fungicidas en postcosecha	17
	Dre	nching	17
	Ter	monebulización	18
3	MA	TERIALES Y METODOS	21
3.1	ι	Jbicación del estudio	21

3.2	Origen de la fruta	21
3.3	Inóculo	21
3.4	Inoculación	22
3.5	Aplicación de fungicida	22
3.5	.1 Aplicación vía termonebulización	23
3.5	.2 Aplicación vía drenching	23
3.6	Diseño experimental y análisis estadístico	23
4 F	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
4.1	Nivel de pudrición en manzanas inoculadas luego de 3 meses de almacenaje	24
4.2	Efecto de fludioxonilo aplicado vía termonebulización e inmersión sobre	la
pudri	ción Moho Azul (<i>Penicillium expansum</i>)	25
4.2	.1 Incidencia	25
4.2	.2 Severidad	27
4.3	Efecto de fludioxonilo aplicado vía termonebulización e inmersión sobre	la
Pudri	ción Calicinal (<i>Botrytis cinerea</i>)	29
4.3	.1 Incidencia	29
4.3	.2 Severidad	31
5 (CONCLUSIONES	32

INDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1. Tratamientos fungicidas utilizados para evaluar la eficacia de distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicados vía termonebulización y vía inmersión en el control de los hongos *Botrytis cinerea y Penicillium expansum* causantes de enfermedades de postcosecha de manzana cv. Fuji.

26

INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Principales variedades de manzanas exportadas por Chile (Fuente: SIMFRUIT, 2018).
Figura 2.2 Corte longitudinal manzana, en donde se indica la cavidad calicinal de la manzana,
con presencia de restos florales, que sirven como fuente de infección del hongo Botrytis cinerea
(Fuente: Pinilla, 1998) 6
Figura 2.3 Síntomas de Pudrición Calicinal, causado por el hongo fitopatógeno Botrytis cinerea
en manzanas (Fuente: Pomáceas, 2013)
Figura 2.4 Ciclo de vida de Botrytis cinerea (Fuente: Gago, 2015)
Figura 2.5 Triángulo de la enfermedad (Fuente: Lolas, M. Boletín Técnico Pomáceas, 2016). 10
Figura 2.6 Ciclo biológico de la enfermedad corazón mohoso (Fuente: INTA, 2016)11
Figura 2.7 Estructura química de la micotoxina patulina (Fuente: Ferreira, 2012)
Figura 2.8 Instalaciones para tratamientos de fruta mediante drenching (Fuente: Calvo, 2012).
18
Figura 2.9. Equipo termonebulizador (Fuente: Xeda, 2019)
Figura 4.1 Efecto sobre el porcentaje de incidencia de la pudrición moho azul causado por el
hongo Penicillium expansum, de distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicadas vía
inmersión y termonebulización, luego de 90 días de almacenaje a 0°C. Barras horizontales con
la misma letra no difieren estadísticamente (p<0,05)
Figura 4.3 Efecto sobre el porcentaje de incidencia de la pudrición gris causada por el hongo
Botrytis cinerea, de distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicadas vía inmersión y
termonebulizacion, luego de 90 días de almacenaje a 0°C. Barras horizontales con la misma letra
no difieren estadísticamente (p<0,05)

1 INTRODUCCIÓN

La producción y consumo de la manzana (*Malus* x *domestica*) es de gran importancia dentro de las exportaciones mundiales de fruta fresca, siendo Chile considerado el quinto país exportador después de China, Polonia, Italia y Estados Unidos. El cultivo de esta fruta presenta gran difusión a nivel mundial debido a su fácil adaptación a distintos suelos y climas, y sobre todo porque su fruto posee un importante valor nutricional y medicinal (CIREN, 2017). Lo anterior, debido principalmente a su alta concentración de antioxidantes (flavonoides); pectinas que evitan la acumulación de colesterol en vasos sanguíneos; acido málico y cítrico que evitan fermentaciones intestinales, entre otros (Hidalgo *et al.*, 2016).

En Chile, el manzano presenta una participación del 11,4% de la superficie total frutícola plantada, con 34.427 ha (ODEPA, 2018). No obstante, en la temporada 2018-2019 se ha presentado una disminución de la superficie plantada de un 4,2% en comparación con la temporada 2017-2018, lo que se traduciría en 45.000 toneladas menos de fruta fresca para exportación. Las abundantes lluvias durante la fase de cuajado, condiciones climáticas desfavorables, generaron una disminución del potencial productivo para esa temporada (ODEPA, 2019).

El mayor porcentaje de manzana producida en Chile está destinada a la exportación, siendo sus principales destinos los mercados de la Unión Europea, Medio Oriente y Asia (ODEPA, 2011). Es por esto que factores como la productividad, calidad y vida en postcosecha se tornan vitales para la fruticultura nacional, más aún cuando la fruta debe viajar largas distancias hasta esos mercados internacionales.

Dentro de los principales problemas que se presentan durante la exportación de fruta fresca están las pérdidas asociadas a pudriciones causadas por hongos, los que generan desmedros en la producción y en su calidad durante el proceso, almacenaje y/o transporte a los países de destino. Generalmente, estas pudriciones son enfermedades originadas como consecuencia de la expresión de infecciones de hongos fitopatógenos, los que son capaces de ingresar al fruto durante su desarrollo directamente o por aberturas naturales, como las lenticelas o daños mecánicos como heridas o golpes, y causar daño o permanecer latentes hasta cosecha y/o su almacenamiento (Latorre, 2018; Sutton, 2014).

En Chile, las pudriciones de postcosecha en la manzana como Pudrición Gris y Pudrición Calicinal, Moho Azul y Corazón Mohoso, han sido asociadas históricamente a *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* y *Alternaria* spp., respectivamente (Latorre, 2018; Sutton, 2014). Una de las soluciones para esta problemática se basa en el manejo agronómico que se le da a los árboles y a la fruta en el campo, tales como la sanitización del huerto para bajar el inóculo o aplicaciones de plaguicidas para su protección (Latorre, 2018). Sin embargo, existen otros métodos para controlar el patógeno directamente en postcosecha, como la utilización de ciertos fungicidas que se aplican durante el almacenamiento y proceso de la fruta a través de duchas, inmersión, ceras y/o termonebulización, los que a su vez son capaces de prolongar la vida de la fruta en postcosecha.

Dentro de los tratamientos comúnmente utilizados en la agroindustria chilena se encuentra la inmersión o 'drenching', que consiste en un baño realizado a la fruta con una solución acuosa de fungicida, que cae libremente por gravedad sobre esta. Sin embargo, esta técnica puede convertirse en una fuente de inóculo, al contener numerosas esporas en suspensión, las que eventualmente podría contaminar frutos sanos (Morales, 1982), requiriendo constantes chequeos de la concentración del fungicida utilizado, y dificultades en la eliminación del volumen total de la solución una vez finalizado el proceso.

De forma paralela a esta técnica, en la actualidad existen otros métodos que cada día logran posicionarse de mejor manera en la agroindustria nacional, como es el caso de la termonebulización. Dicha técnica es utilizada en tratamientos de postcosecha para el control de hongos en frutas y hortalizas aplicados directamente en las cámaras de almacenaje. La termonebulización corresponde a la producción de niebla generada por una fuerte corriente de aire y altas temperaturas, las que a su vez arrastrarían las moléculas fungicidas volatilizadas sobre la fruta en almacenaje (Xeda International, 2019).

Por lo tanto, la hipótesis y objetivos del presente trabajo son:

1.1 Hipótesis

La eficacia de los fungicidas formulados con fludioxonilo aplicados vía termonebulización es mayor que cuando son aplicados vía inmersión en el control de *Botrytis cinerea* y *Penicillium* expansum en manzanas cv. Fuji.

1.2 Objetivo general

Evaluar la eficacia de distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicados vía termonebulización y vía inmersión en el control de los hongos *Botrytis cinerea* y *Penicillium* expansum causantes de enfermedades de postcosecha de manzana cv. Fuji.

1.3 Objetivos específicos

Evaluar y comparar la eficacia de los fungicidas Scholar RTU (fludioxonilo) y Scholar EZ (fludioxonilo) aplicados vía termonebulización en el control de los hongos *Botrytis cine*rea y *Penicillium expansum*.

Evaluar la eficacia del fungicida Scholar® 230 SC (fludioxonilo) aplicado vía inmersión en el control de los hongos *Botrytis cine*rea y *Penicillium expansum*.

Comparar la eficacia de los fungicidas Scholar RTU (fludioxonilo) y Scholar EZ (fludioxonilo) aplicados vía termonebulización con Scholar® 230 SC (fludioxonilo) aplicado vía inmersión, en el control de los hongos *Botrytis cinerea y Penicillium expansum*.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 El cultivo de la manzana en el mundo y en Chile

La manzana es, junto con los plátanos y los cítricos, uno de los frutos más consumidos en todo el mundo; además, es una de las especies de fruta dulce de mayor difusión a escala mundial debido principalmente a su facilidad de adaptación a diferentes climas y suelos. La gran cantidad de variedades existentes hacen que se encuentre al alcance del consumidor durante todo el año (Merlet et al., 2016).

Los principales exportadores de manzana en el mundo son China (1,3 millones de ton), Italia (1,1 millones de ton), Polonia (1 millón de ton), Estados Unidos (777 mil ton), seguidos por Chile con 764 mil ton, lo que posiciona a nuestro país en el quinto lugar de exportaciones a nivel mundial (Fedefruta, 2018).

A nivel nacional, la uva de mesa fue la principal fruta exportada con un 29% de los embarques. Le siguieron en importancia las manzanas (15%), cerezas (12%), arándanos (11%) y paltas (11%) (DIRECON, 2018). En cuanto a los mercados de destino de la manzana chilena, el principal mercado es Latinoamérica con 278 mil ton, seguido por Europa con 225 mil, Lejano Oriente con 121 mil, Medio Oriente con 63 mil, Estados Unidos con 61 mil y Canadá con 23 mil, siendo las principales variedades exportadas Royal Gala, Pink Lady® + Cripps Pink, Richared Delicious y Granny Smith (Figura 2.1).

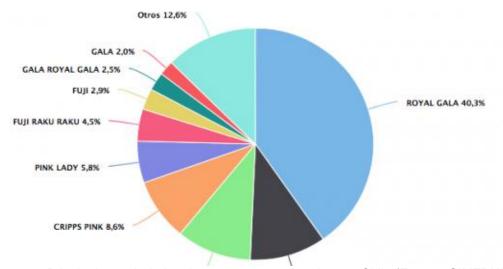


Figura 2.1 Principales variedades de manzanas exportadas por Chile (Fuente: SIMFRUIT, 2018).

Chile cuenta con más de 34 mil ha de manzanos plantados, los cuales se localizan en la zona central del país, lugar donde se dan las condiciones ideales en cuanto a clima y suelo para este cultivo. La productividad alcanzada es de 25,7 ton por ha, posicionando a nuestro país en el puesto número 7 de productividad a nivel mundial (Grau, 2015). Sin embargo, se estima que para la temporada 2019-2020 la producción de manzana en Chile caiga en un 5%, principalmente por condiciones climáticas adversas. Dichas condiciones están relacionadas directamente con la ocurrencia de Iluvias y heladas primaverales que se prevén para dicha época (USDA, 2019).

2.2 Enfermedades de postcosecha de importancia económica de la manzana

2.2.1 Moho Gris y Pudrición calicinal de las manzanas

Botrytis cinerea, causante del Moho Gris, es uno de los hongos necrotróficos que más pérdidas produce en fruta de almacenaje debido a su alta esporulación, rápido crecimiento y liberación de enzimas pectolíticas, y muerte celular del tejido que coloniza (Koike, 2016). Su ataque se ve favorecido en climas húmedos y templados fríos o con presencia de lluvias y rocíos frecuentes (Guerrero, 1988). Este hongo no se ve afectado por las temperaturas comúnmente utilizadas durante el almacenamiento (0°C), además de esto, en la actualidad, los tratamientos químicos son cada vez más limitados debido a la aparición de cepas resistentes a muchos fungicidas sitioespecíficos, por lo mismo es de suma importancia trabajar en la elaboración de nuevos productos o métodos para su control.

El Moho Gris y Pudrición Calicinal de la Manzana y Pera, enfermedad provocada por el hongo *B. cinerea*, fue descrita en primera instancia en frutos de pera en 1987. Después de ser detectada, su incidencia ha aumentado considerablemente con el paso del tiempo. En Chile, inicialmente esta enfermedad se presentaba durante la postcosecha en localidades de la Región Metropolitana y de O'Higgins, sin embargo, hubo un brote de pudrición del extremo del cáliz en manzanas Cripps Pink antes y durante su cosecha en la Región del Maule en la temporada 2016-2017 (Ferrada et al, 2017). En manzanas afecta a los cultivares Granny Smith, Fuji y Gala, siendo en este último detectado recién 10 años después de su aparición presentando síntomas antes de los dos meses de almacenaje (Pinilla y Álvarez, 1998).

La primera infección de este hongo se produce en el huerto donde coloniza los restos florales senescentes, alojándose en la cavidad calicinal de peras y manzanas y permaneciendo latente hasta su madurez. Factor preponderante para la incidencia del hongo es la humedad presente en el ambiente, ya sea por lluvia, rocío, agua de riego o la humedad relativa de la atmósfera, lo que

favorecería la germinación de las esporas de los hongos y la penetración del tubo germinativo sobre el hospedante (Agrios, 2007). Los primeros síntomas se pueden observar después de los tres meses de guardado en frío, principalmente por efecto de la humedad relativa dentro de las cámaras frigoríficas, la cual es cercana al 100% (Pinilla, 2013).

Esta pudrición es iniciada en la parte calicinal (Figura 2.2), y desde esa posición comienza su avance hacia el interior del fruto iniciando la descomposición de los tejidos en donde se manifiestan las típicas manchas de color marrón en la pulpa. Debido a esto, en el almacenaje, el fruto afectado es un foco inicial de infección para la fruta adyacente, provocando el conocido efecto nido (Figura 2.3) que puede traer como consecuencia un número significativo de frutos afectados dependiendo de la duración de la guarda (Pinilla y Álvarez, 1998).

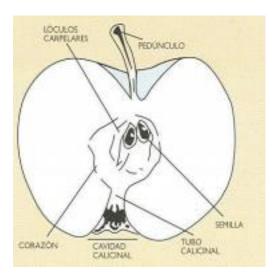


Figura 2.2 Corte longitudinal manzana, en donde se indica la cavidad calicinal de la manzana, con presencia de restos florales, que sirven como fuente de infección del hongo Botrytis cinerea (Fuente: Pinilla, 1998).



Figura 2.3 Síntomas de Pudrición Calicinal, causado por el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* en manzanas (Fuente: Pomáceas, 2013).

El ciclo del hongo *B. cinerea* (Figura 2.4) comienza cuando la conidia se hidrata y entra en contacto con la cutícula del hospedero, por efecto de la presencia de agua libre sobre su superficie dando como resultado la adhesión entre la conidia y dicha cutícula (Gago, 2015).

A continuación, según lo indicado por France (2013) se presenta el ciclo biológico del hongo *B. cinerea*

- Esporulación y dispersión del inóculo a través de conidias.
- Adhesión de conidias a la superficie del hospedero, mediado por el agua libre presente.
- Germinación de conidias y formación de apresorios.
- Secreción de cutinasas y pectinasas (enzimas), y toxinas.
- Penetración y formación de haustorios.
- Destrucción celular por efecto de enzimas.
- Reacción de hipersensibilidad y muerte programada de células del hospedero.
- Necrosis del tejido y reproducción.

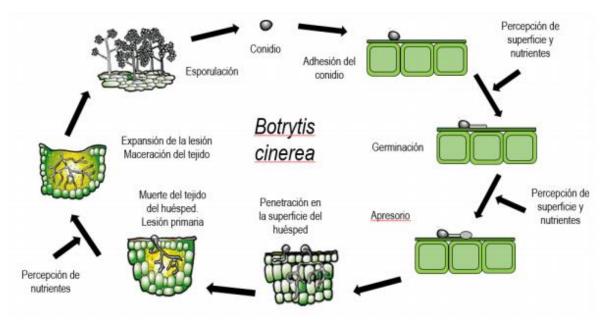


Figura 2.4 Ciclo de vida de Botrytis cinerea (Fuente: Gago, 2015).

Una serie de factores pueden determinar la germinación del conidio. El agua libre en el fruto es uno de ellos como fue mencionado anteriormente, pero por otro lado se encuentran los componentes gaseosos como el etileno que se cree que estimula el desarrollo del hongo producido por el debilitamiento del fruto en la senescencia (Elad y Volpin, 1988).

La invasión de este hongo genera muerte celular programada utilizando distintos recursos como toxinas y ácidos oxálicos. Sin embargo, existen situaciones en donde el hongo no produce la muerte del hospedero, sino que queda en estado latente hasta que las condiciones sean las propicias para su desarrollo. Esta situación principalmente es observada cuando *B. cinerea* infecta flores y frutos en formación, aquí, altos niveles de ciertos compuestos como las fitoalexinas son capaces de detener el crecimiento del hongo. Sin embargo, al momento de disminuir dichos compuestos (comienzo de la maduración del fruto) el hongo deja su latencia y comienza su crecimiento (Gago, 2015).

El óptimo desarrollo de esta enfermedad está condicionado por los requerimientos ambientales que necesita el hongo, donde la humedad y la temperatura son factores esenciales para el crecimiento y esporulación. El primero es un factor importante para que se produzca la infección, y en general, es más limitante que la temperatura, ya que el rango de humedad relativa del aire requerido para la germinación del conidio está entre 93 y 100%, en tanto, el rango de temperatura de germinación es más amplio, pudiendo variar entre 0 y 26°C (Coley-Smith,

Verhoeff, Jarvis, 1980). No obstante, este hongo puede crecer en condiciones extremas, con temperaturas que van entre -1 y 32°C (France, 2013).

2.2.2 Corazón mohoso y pudrición lateral de las manzanas

Esta pudrición afecta de manera importante a las manzanas cv. Fuji, Red Delicious y sus clones, aunque se puede presentar en otras variedades de forma esporádica (Viñas *et al.*, 2013). Esta enfermedad se desarrolla en frutos con cavidad calicinal abierta, lugar donde el hongo infecta el tubo calicinal, en la región carpelar (Figura 2.2).

Si bien esta infección es producida por un complejo de hongos, la causa se atribuye al patógeno predominante *Alternaria* spp. Según Elfar *et al.* (2018), la identidad de los agentes causantes asociados a corazón mohoso en Chile corresponde a distintos tipos de *Alternaria* spp, siendo los más importantes *A. tenuissima*, *A. arborescens* y *A. alternata*.

Este hongo fitopatógeno inverna en forma de esporas o micelios en restos de plantas infectadas, en caso de lluvias frecuentes y abundante rocío es más común que las esporas sean desprendidas del micelio para que con esto se desarrolle sobre malezas, restos vegetales o plantas cultivadas infectadas. Es común que las enfermedades causadas por este patógeno aparezcan generalmente sobre tejidos senescentes y particularmente en plantas con poco vigor, plantas que crecen en climas adversos y plantas con nutrición deficiente o por otro lado en algún estado fenológico donde se pueda observar lo mencionado anteriormente. Todo lo anterior se relaciona con lo que se conoce como triángulo de la enfermedad (Figura 2.5), en donde deben conjugarse tres factores para que la enfermedad se manifieste (Huésped-patógeno-medioambiente). Los frutos infectados presentan una maduración anticipada, además, son ligeramente más pequeños y deformes, presentando caída prematura en comparación con los frutos sanos (Agrios, 2007).

Este hongo coloniza en la etapa de floración del manzano en los restos florales senescentes, luego de la cuaja entra al interior del fruto a través del tubo calicinal llegando a la cavidad carpelar cubriendo las semillas, los carpelos y posteriormente la pulpa de la manzana con un micelio de color gris oscuro (Figura 2.6). En ataques intensos afecta la pulpa del fruto con una coloración que puede abarcar una gran zona alrededor del corazón de este (Pinilla, 1998).



Figura 2.5 Triángulo de la enfermedad (Fuente: Lolas, M., Boletín Técnico Pomáceas, 2016).

En la mayoría de los casos, los síntomas se presentan al interior del fruto lo que hace que no puedan ser eliminados al momento de cosecha o clasificación, además, una vez dentro del fruto los hongos quedan protegidos contra la acción de los tratamientos fungicidas aplicados y las condiciones para su crecimiento son excelentes (Di Massi, 2016).

La fruta a la cosecha puede presentar un aspecto normal, detectándose el "corazón mohoso", solo, después de un almacenaje prolongado, cuando se corta la fruta en mitades; en ese momento se aprecia que la cavidad de las semillas y la región adyacente está cubierta por micelio de hongos (Pinto de Torres et al., 2014).

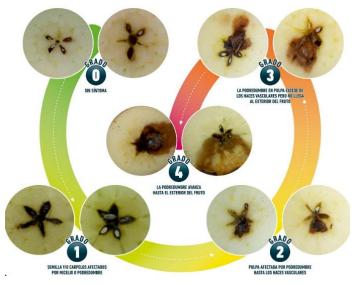


Figura 2.6 Ciclo biológico de la enfermedad corazón mohoso (Fuente: INTA, 2016).

2.2.3 Moho azul de las manzanas

La presencia del moho azul, atribuido principalmente a la especie *Penicillium expansum* contamina tanto en el exterior como en el interior del fruto, siendo en ocasiones difícil identificar que una manzana está contaminada (Ferreira, Delgado y Ormazábal, 2012). Este patógeno es capaz de infectar al fruto a través de heridas causadas durante la cosecha y el empaque, sin embargo, pero menos frecuente, el hongo coloniza los pedúnculos, particularmente los que son gruesos y carnosos. Las lenticelas son también infectadas, usualmente después de sufrir una herida (Kader, 2011), favorecidos por ciertos factores ambientales, principalmente temperatura y humedad. Los frutos atacados presentan áreas con pudriciones blandas, acuosas y de color marrón claro. La superficie de las lesiones más antiguas puede estar cubierta por esporas de color verde-azulado que inicialmente son de color blanco (Franck *et al.*, 2005)

A diferencia de los hongos estudiados anteriormente, *P. expansum* contamina al fruto en postcosecha, en esta etapa es capaz de desarrollarse con temperaturas que van por debajo de los 0°C, además logra sobrevivir como saprófito y es fácilmente aislado a partir del suelo, cámaras frigoríficas y cajas de madera utilizadas en la cosecha, transporte y almacenamiento (Silva *et al.*, 2015), por esto es muy importante, primero, la correcta desinfección; segundo, la correcta manipulación de la fruta para no incurrir en heridas potenciales que permitan que el hongo entre, y tercero, la eliminación de fruta con lesiones esporuladas que podrían contaminar frutos adyacentes (Pinilla, 1998)

La presencia del moho azul, además de representar pérdidas económicas, representa también un riesgo para la salud, debido a la producción de un metabolito secundario conocido como patulina, el cual es clasificado como micotoxina con carácter genotóxico y hepatóxico (Anguiano et al., 2012).

La patulina es una lactona soluble en agua, etanol, acetato de etilo, entre otros, pero insoluble en el benceno y el éter de petróleo. Además, no se destruye su estructura con la aplicación de calor y es estable a un pH ácido (Figura 2.7). Si bien, la presencia de esta micotoxina está asociada a la podredumbre por moho azul, no puede excluirse la presencia de ella en las frutas aparentemente sanas (ONU, OMS, 1999).

Esta toxina es capaz de generar efectos crónicos y agudos que afectan a los órganos y sistemas, en especial al hígado, riñones, sistema nervioso, endocrino e inmunitario, pudiendo ocasionar, además, edemas pulmonares y cerebrales, con procesos hemorrágicos y daños capilares en el hígado (Soriano *et al*, 2002) Este derivado del hongo *P. expansum* pertenece a una corta lista de micotoxinas reguladas en gran variedad de países, es por esto que se han establecido protocolos y normas adoptadas a nivel mundial, con el fin de monitorear las concentraciones máximas admisibles de esta toxina, logrando así facilitar la importación y exportación de manzanas (Anguiano *et al.*, 2012).

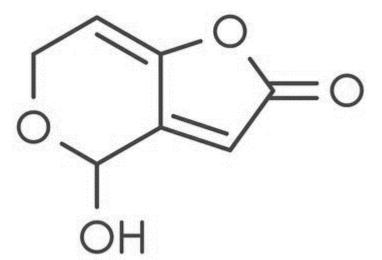


Figura 2.7 Estructura química de la micotoxina patulina (Fuente: Ferreira, 2012).

2.3 Principales métodos de control

2.3.1 Control integrado

En general, para el control de enfermedades en manzanas, como para cualquier otra especie frutal, se debe hacer un programa donde se considere la integración de todas las posibilidades de control para tender a un uso racional de los productos fitosanitarios, causando el mínimo impacto ambiental y económico y que los productos cosechados sean inocuos.

De acuerdo con las especificaciones técnicas de la Comisión Nacional de BPA del Gobierno de Chile (MINAGRI, 2003), a continuación, se describe el manejo integrado para el control de las principales enfermedades fúngicas en manzanas:

- Tener en cuenta el historial del predio, con la finalidad de evaluar la presión de la enfermedad en temporadas anteriores.
- Monitorear de forma permanente el predio para así eliminar toda posible fuente de inóculo del patógeno.
- Mantener un régimen hídrico y nutricional adecuado, con la finalidad de no generar condiciones predisponentes para el ataque del patógeno.
- Eliminar restos vegetales para evitar inóculos de diferentes patógenos.
- Realizar chimeneas en la canopia del árbol, con la finalidad de favorecer la adecuada ventilación. Esto permitirá limitar la presencia de rocío o humedad, disminuyendo así, el riesgo de enfermedades fúngicas.
- Eliminar malezas que podrían servir de hospederos alternantes para enfermedades como Alternaria sp y B. cinerea.
- Todo material cortado debe ser sacado y eliminado de forma adecuada, ya que podría servir de reservorio para patógenos.
- Aplicación de fungicidas sintéticos u orgánicos al follaje ante la aparición de los primeros síntomas del hongo.
- Evitar la sobre fertilización nitrogenada para prevenir el excesivo desarrollo vegetativo del árbol.

Además de los métodos mencionados anteriormente, desde hace algunos años se ha incluido el manejo de desechos y la limpieza con cloro orgánico en los ambientes y máquinas a utilizar además del monitoreo de la contaminación ambiental causada por hongos. Junto con esto, se

está implantando el uso de luz UV para la desinfección de frutos y la resistencia de los tejidos vegetales, reduciendo el riesgo de pudriciones durante el trasporte y comercialización. Como método de control biológico, se ha trabajado con la levadura *Cryptococcus laurentii* y como control físico, la termoterapia con aspersión de agua caliente, para reducir las infecciones latentes (Valdebenito, 2005).

2.3.2 Fungicidas utilizados en postcosecha de manzanas

El término fungicida no solo se refiere a un producto que tiene la capacidad de destruir hongos, sino que incluye todos aquellos compuestos que pueden proporcionar resistencia a la planta huésped, o que convierte el medio ambiente en un lugar inadecuado para el desarrollo y crecimiento del organismo infeccioso (Melgarejo, 2011). Por lo mismo, conocer su toxicidad, el modo de acción y grupo químico es fundamental, ya que con esta información podremos tomar mejores decisiones a la hora de escoger que fungicida usar y de qué modo este será usado.

Los fungicidas agrícolas suelen ser asperjados en soluciones acuosas o espolvoreados sobre plantas, frutos o semillas, y su finalidad es prevenir o curar el avance de alguna enfermedad generada por hongos como *B. cinerea, Alternaria* spp, *Penicillium expansum*, entre muchos otros. Además, y como analizaremos en este caso, su uso se extiende para tratar fruta en postcosecha.

<u>Tiabendazol</u>

El tiabendazol (grupo de benzimidazoles) es un fungicida sistémico, de amplio espectro, recomendado para el control preventivo y curativo de una gran variedad de hongos patógenos que afectan vegetativamente a los cultivos (AFIPA, 2011)

El modo de acción de este compuesto está fundado en la formación de un complejo carbendazima, con la tubulina; proteína estructural de los microtúbulos que forman las fibras del huso mitótico. Como consecuencia de lo anterior, los benzimidazoles son capaces de bloquear la mitosis, pero únicamente muestran afinidad por la tubulina de organismos fungosos. Debido a la especificidad del sitio de acción, estos fungicidas se consideran sitio-específico (Latorre, 1989).

Este grupo presenta un efectivo control preventivo y curativo de gran variedad de hongos patógenos que afectan a las plantas, frutos y semillas en postcosecha, debido principalmente a que es capaz de interrumpir el proceso de mitosis, logrando evitar con esto que el hongo prolifere,

justo en el momento en que se presentan las condiciones propicias para su desarrollo, es decir, durante el almacenaje y transporte a los mercados de destino (AFIPA, 2011).

Sin embargo, se ha comprobado que la resistencia de ciertos hongos al grupo de los benzimidazoles radica en una menor afinidad del producto con la tubulina, debido a pequeñas diferencias estructurales en las subunidades proteicas de esta última. La presencia de razas resistentes ofrece grandes desventajas al uso de estos fungicidas en postcosecha y a pesar de su gran efectividad es necesario emplearlos en combinación con productos de diferentes mecanismos de acción (Morales, 1982).

Pirimetanilo

Otro producto utilizado para la postcosecha de manzanas es el pirimetanilo (grupo de anilinopirimidinas), el cual es un compuesto con excelentes propiedades fungicidas. Corresponde a un botriticida preventivo altamente eficiente tanto en vides, hortalizas y manzanos.

Su modo de acción impide la secreción de enzimas del hongo y bloquea la asimilación de nutrientes, deteniendo, por lo tanto, el tubo germinativo y el crecimiento celular, siendo destruida la célula. La inhibición de la actividad enzimática ha sido puesta en evidencia sobre poligalacturonasa, celulolasas y proteinasas (Arancibia, 1997). También se ha demostrado la acción sobre una enzima oxidativa de los polifenoles segregada por *B. cinerea* y que causa a los enólogos problemas casi insolubles en la vinificación: pardeamiento del vino como consecuencia de un proceso oxidativo (BASF, 2019).

Pirimetanilo no es mutagénico, ni carcinogénico, además no presenta mayores problemas para ser absorbido y metabolizado. Presenta baja toxicidad para mamíferos, aves y abejas; lombrices y organismos acuáticos. En el suelo se degrada rápidamente con una vida media de 7 a 54 días. Tiene baja movilidad y no se lixivia a capas profundas. En el agua desaparece rápidamente de la superficie y es adsorbido ligeramente por los sedimentos (BASF, 2019).

Dentro del mercado existe una amplia gama de productos que contienen pirimetanilo como ingrediente activo y su uso como tratamiento preventivo y curativo se está extendiendo cada vez más en la agricultura nacional. Lo anterior, debido a que posee una buena actividad translaminar, actuando sobre *B. cinerea* gracias a su acción de vapor o gasificación. Su aplicación puede realizarse desde puntas verdes hasta el término de la floración (Bayer, 2017).

Existen formulaciones comerciales de pirimetanilo, que pueden ser aplicadas en pre y postcosecha. Uno que se utiliza en la fruta después de su cosecha, es Penbotec 400 SC, elaborado por Janssen Pharmaceutica. Este producto actúa sobre *B. cinerea* y *P. expansum*. No reacciona con agentes reductores y no genera reacción violenta con otros agentes químicos. Se aplica en postcosecha, mediante la técnica de baño de inmersión, ducha, spray acuoso en línea o spray acuoso en línea de encerado (Janssen Pharmaceutica, 2017).

Fludioxonilo

Fungicida perteneciente al grupo de fenil-pirroles. Fungicidas que inhiben la regulación en la membrana plasmática. Otro de los productos más utilizados para combatir patógenos de postcosecha es el fludioxonilo. Ejemplo de éste, es el fungicida formulado por Syngenta Crop Protection Inc: Scholar 230 SC. Este es un fungicida de contacto de amplio espectro, con un modo de acción diferente, utilizado para el tratamiento de frutos de carozos, pomáceas, cítricos, granados y arándanos en postcosecha, antes del empaque, con el objeto de controlar hongos patógenos causantes de enfermedades o pudriciones que afectan a la fruta, durante el almacenaje y/o transporte a los mercados de destino (Syngenta, 2018).

Es un producto con actividad preventiva residual, actúa sobre la regulación osmótica de las esporas de los hongos, con actividad sobre su esporulación. Puede ser utilizado en un programa de manejo anti-resistencia, ya que no tiene resistencia cruzada con los benzimidazoles, dicarboximidas, ni triazoles. Se puede utilizar en sistemas de aplicación como drenching, inmersión, de gota controlada tipo t-jet y de flujo continuo (Syngenta, 2019).

La mejor actividad del producto se logra con fruta tratada inmediatamente después de cosechada, por lo cual debe privilegiarse el tratamiento de ésta al llegar al packing, ya sea como tratamiento de ducha o en mezcla con ceras. No obstante, si no se realiza el tratamiento de forma inmediata una vez cosechada la fruta, esta puede presentar desarrollo de enfermedades que puede no ser controlado o evitado con el uso del producto, si este se utiliza después de la guarda o almacenaje (Syngenta, 2018).

2.3.3 Métodos de aplicación de los fungicidas en postcosecha

La aplicación de productos fitosanitarios en postcosecha se puede llevar a cabo mediante el uso de distintas técnicas, tales como baños, duchas, pulverizaciones e incluso mediante la sublimación de productos químicos, sin embargo, no todas tienen la misma eficacia (Castro, 2004).

A lo largo de la historia de la agroindustria chilena la técnica más difundida es la que se conoce como ducha en bins o drenching. No obstante, hoy en día, y gracias al desarrollo de la tecnología, existen nuevas opciones que podrían mejorar el manejo de la fruta almacenada.

Drenching

El drenching consiste en un sistema de ducha en movimiento, en donde la fruta en bins es transportada bajo una ducha o cascada con productos fungicidas para controlar la podredumbre durante su almacenamiento (Colodner, 2011). Para ello, la solución acuosa cae libremente y por gravedad sobre toda la fruta del camión, permitiendo un contacto total entre la fruta y la solución (Xeda, 2019). Al realizarse de este modo existe la posibilidad de tratar grandes volúmenes de fruta en poco tiempo.

Al momento de realizar la solución tratamiento, se debe considerar que esta sea lo más homogénea posible, para que así las concentraciones tanto en el estanque como en la superficie de la fruta sean las adecuadas. Esto se logra mediante una técnica conocida como recirculación, la cual consiste en sacar parte de la solución desde el fondo del estanque para luego volver a ingresarla al mismo.

Además de lo anterior, se deben considerar ciertos factores que permiten aumentar la eficiencia del tratamiento (PACE International, citado por Soto, 2003):

- Concentración de la solución acuosa.
- Tiempo de exposición de la fruta a la solución acuosa (velocidad a la cual la fruta pasa por la ducha).
- Volumen de solución entregado por unidad de tiempo.
- Número de bins tratados por mezcla fresca.
- Limpieza de la solución en el sistema.

Sin embargo, es muy probable que las conidias de los hongos presentes en la fruta sean acumuladas en el líquido de tratamiento, problema que se acrecienta aún más cuando la misma solución es usada para la aplicación de bins adicionales (Sanderson, 1999). Esto genera un peligro para la inocuidad de otros frutos debido a la contaminación presente (Rosenberg, 2010).

Además de lo anterior, este sistema presenta otras desventajas:

- Excesivos volúmenes de solución para lograr el adecuado mojamiento de la fruta.
- Problemas medioambientales por la eliminación de desechos de la solución.
- Posibles incompatibilidades entre distintos compuestos químicos usados en la solución (Morales, 1982).



Figura 2.8 Instalaciones para tratamientos de fruta mediante drenching (Fuente: Calvo, 2012).

<u>Termonebulización</u>

La termonebulización corresponde a un sistema utilizado para la aplicación de productos fitosanitarios, que está siendo ampliamente difundido en la agroindustria chilena. Este proceso, gracias a la ayuda de un equipo termonebulizador, permite el tratamiento de frutas y hortalizas directamente en el local de almacenamiento (Xeda, 2019).

El equipo es capaz de subdividir el líquido en gotas formando una niebla fina que contiene la sustancia activa. Durante la termonebulización, los productos son diluidos en un excipiente líquido y oleoso, se usa gas caliente para calentar los fungicidas, logrando así reducir la viscosidad del

líquido y vaporizándolo; luego el líquido se introduce bajo presión en un pequeño orificio calibrado, que, al salir, el líquido choca con el aire más frío y se condensa, formándose una nube blanca de niebla densa y con pequeñísimas gotas (Colodner, 2011).

El tamaño de las partículas es inferior a 1µm, siendo la niebla la encargada de movilizar los principios activos de las formulaciones, las cuales son capaces de cubrir cada fruto de forma homogénea. Como consecuencia del tamaño de las partículas, su permanencia en suspensión es más prolongada al interior de la cámara de almacenaje, consiguiendo con esto penetrar de mejor manera los envases en donde están contenidas las frutas u hortalizas a tratar (Saldaña 2004).

El termonebulizador como tal, corresponde a una máquina cuyo principio combina el efecto de un flujo de aire a alta velocidad y alta temperatura, sin emisiones de gas de combustión y sin emanaciones de residuos (Figura 2.9). Dentro de sus características más importantes encontramos que presenta una ventilación de alta presión capaz de cubrir volúmenes que van desde los 25 a los 75 metros cúbicos por hora, además, posee una bomba volumétrica con variaciones de velocidad entre 2 y 40 L por h (Xeda, 2019).



Figura 2.9. Equipo termonebulizador (Fuente: Xeda, 2019).

La ventaja más importante de esta técnica es que al ser una neblina la encargada de transportar los principios activos de las formulaciones y no una cantidad de agua libre, como es el caso de otras técnicas, se evita la acumulación y proliferación de conidias, eliminando así, un eventual punto de inóculo.

Además de lo anterior, la termonebulización presenta otras ventajas:

- Posibilidad de repetir el tratamiento sin sacar la fruta de la cámara frigorífica.
- Alta homogeneidad en la penetración, con la posibilidad de reducir los residuos con el mismo nivel de eficacia.
- Eliminación del peligro de contaminación y depuración de las aguas.
- Eliminación de riesgo de incompatibilidades entre dos o más compuestos.
- Alta capacidad de tratamiento, la que varía entre 150 y 300 ton/h (Xeda, 2019).
- Niebla bastante visible donde se puede observar y supervisar la correcta dispersión del producto.
- Baja concentración de ingrediente activo en la mezcla pulverizada (OMS, 2003).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del estudio

El estudio se separó en dos etapas para su realización. Una de estas se realizó en las instalaciones de Syngenta Agribussines S.A, ubicado en la Ruta 5 sur S/N en la comuna de Requínoa, Región de O'Higgins. Mientras que la otra etapa se llevó a cabo en el laboratorio de Patología Frutal de la Universidad de Talca, Campus Talca, Región del Maule.

3.2 Origen de la fruta

Manzanas cv. Fuji fueron obtenidas en un huerto comercial ubicado en la zona de La Compañía, Rancagua, Región de O'Higgins (34°09´S; 70°41´O). La fruta presentó una calidad comercial apropiada para mercado interno, con 8,5 lb de presión y 14,5° Brix en sólidos solubles. Las manzanas fueron seleccionadas logrando la mayor homogeneidad en cuanto a color, tamaño y grado de madurez.

3.3 Inóculo

El inóculo (conidias) de *B. cinerea* y *P. expansum* utilizado provino de la colección de hongos fitopatógenos previamente colectado y aislados desde manzanas con síntomas de pudrición calicinal y moho azul, respectivamente, pertenecientes al Laboratorio de Patología Frutal de la Universidad de Talca. Tanto el aislado de *B. cinerea* como el de *P. expansum*, fue inoculado en una manzana cv. Granny Smith, de manera de activar su patogenicidad, 35 días antes del establecimiento del ensayo. Con la ayuda de un sacabocado de 5 mm de diámetro, esterilizado mediante flameo con alcohol 90%, un trozo de micelio de cada aislado fungoso fue introducido en una herida de diámetro similar en las manzanas, previamente desinfectadas superficialmente con hipoclorito de sodio al 1%. La fruta inoculada fue incubada en condiciones de cámara húmeda, a una T° de 23°C por 12 días. Luego, desde la zona de avance de la lesión necrótica producida, trocitos fueron obtenidos y sembrados en placas Petri con medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (APD) acidulado con ácido láctico. Las placas fueron incubadas por 7 días y cultivos puros de *B. cinerea* y *P. expansum* fueron preparados y guardados a 4°C hasta la preparación del inóculo a utilizar en el estudio.

Para la preparación de la suspensión de conidias a utilizar en las inoculaciones, placas con APD fueron sembradas con discos de micelio de 5 mm de diámetro y dejadas incubar a 22°C por 7 días. Una vez que los cultivos estuvieron esporulados, las placas fueron inundadas con agua

destilada estéril, y luego de una suave agitación, la suspensión conidial fue colectada en tubos Erlenmeyer de 50 mL y su concentración ajustada a 10⁵ conidias por mL con la ayuda de un hemacitómetro.

3.4 Inoculación

Finalmente, las manzanas Fuji fueron desinfectadas superficialmente con hipoclorito de sodio al 10%, una vez secas, estas fueron heridas con una aguja hipodérmica estéril en su zona ecuatorial, para luego ser tratada con los tratamientos fungicidas del estudio. Ya con la fruta herida, tratada y seca se procedió a inocular con 15 µL de la suspensión de conidias de cada enfermedad, y en forma similar, se le depositó 15 µL de agua destilada estéril, para ser usada como testigo negativo.

3.5 Aplicación de fungicida

Las formulaciones del fungicida fludioxonilo fueron aplicados en dos modalidades, vía inmersión (drenching) y vía termonebulización (thermofogging) (Cuadro 3.1) en donde cada tratamiento contó con 4 repeticiones de 100 frutos cada una.

Cuadro 3.1. Tratamientos fungicidas utilizados para evaluar la eficacia de distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicados vía termonebulización y vía inmersión en el control de los hongos *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* causantes de enfermedades de postcosecha de manzana cv. Fuji.

N° de tratamiento	Producto Comercial (% i.a.)	Ingrediente Activo (i.a.)	Dosis	Método de Aplicación
T1	Testigo			
T2	Scholar RTU (10%)	fludioxonilo	10 mL/ 400 kg fruta	Termonebulización
T3	Scholar RTU (10%)		20 mL/ 400 kg fruta	Termonebulización
T4	Scholar EZ (98%)		1 mL/ 400 kg fruta	Termonebulización
T5	Scholar EZ (98%)		2 mL/ 400 kg fruta	Termonebulización
T6	Scholar 230 SC (23%)		250 mL/ 100 L agua	Inmersión

3.5.1 Aplicación vía termonebulización

En los tratamientos de fungicida vía termonebulización, la fruta fue dispuesta en bins, localizados dentro de un contenedor completamente sellado y refrigerado, de una capacidad de 66 m³ y con dimensiones de 12 x 2,4 x 2,4 m. Con estas medidas, se calculó la dosis del fungicida a usar, la cual está en relación de los kilos de fruta dispuesta para el ensayo y el espacio vacío presente, necesario para la correcta distribución y circulación del producto. De esta forma, las dosis de las dos formulaciones fungidas utilizados en esta aplicación fueron 10 mL/400 kilos de fruta para SCHOLAR RTU; 20 mL/400 kilos de fruta para SCHOLAR RTU; 1 mL/400 kilos de fruta para SCHOLAR EZ y 2 mL/400 kilos de fruta para SCHOLAR EZ (Cuadro 3.1).

La aplicación vía termonebulización duró 5 minutos y luego se mantuvo la fruta en contacto con la niebla por 12 horas antes de ser abierto el contenedor y sacar la fruta. Con la aplicación del tratamiento fungicida realizado, se procedió a inocular las manzanas tratadas con conidias de cada uno de los hongos según el procedimiento ya descrito en el punto anterior y la fruta tratada e inoculada fue almacenada en una cámara refrigerada a 0°C durante 3 meses.

3.5.2 Aplicación vía drenching

Este tratamiento se realizó en un sistema de inmersión en donde se sumergieron cada una de las mallas (repeticiones) en un recipiente de 200 litros durante 2 minutos, que contenía la solución fungicida, lo que aseguró un correcto y completo mojado de las manzanas. Una vez realizado este tratamiento, se retiraron los frutos de las mallas para ubicarlos en bandejas de embalaje en donde fueron inoculados para luego ser almacenadas en una cámara de frio a 0°C por 3 meses, dejando además fruta no inoculada, pero también tratada en las mismas condiciones.

3.6 Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental utilizado, correspondió a un diseño completamente al azar con 6 tratamientos y 4 repeticiones de 100 frutos cada uno.

Los datos recolectados fueron sometidos a análisis de varianza (ANDEVA) empleando el programa Statgraphics Centurion XVIII. La separación de medias se realizó a través del método HSD TUKEY (p<0,05) con el objetivo de determinar si existen o no diferencias estadísticamente significativas.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Nivel de pudrición en manzanas inoculadas luego de 3 meses de almacenaje

Al momento de realizar las mediciones de incidencia y severidad en manzanas, se pudo constatar que la fruta correspondiente al tratamiento Testigo (T1) presentaba gran parte de su fruta dañada, en la cual se apreció claramente los márgenes de avance de cada una de las enfermedades, llegando en algunos casos a observarse abundante micelio gris característico de *B. cinerea* y esporulación de color verde-azulado propio de *P. expansum*. Similares resultados fueron reportados por Castro (2004), Ferrada (2017), Pinilla y Álvarez (1998), Saldaña (2004) y Soto (2003), quienes luego de inocular manzanas de diferentes variedades, lograron similares pudriciones luego de 3 meses de almacenaje. Lo anterior, demuestra el alto nivel de patogenicidad que presentan los aislados de *B. cinerea* y *P. expansum*, cuando son inoculados mediante esporas en una herida fresca y mantenidos a 0°C.

En este estudio, alrededor del 60% de las manzanas inoculadas con *B. cinerea* y *P. expansum* de los respectivos tratamientos Testigos (T1) presentaron pudrición, resultando en una inoculación exitosa. El resto de las inoculaciones que no resultó en pudrición pudo deberse a una mala manipulación al momento de ésta, no hiriendo bien la superficie de la fruta o no aplicando sobre esta la suspensión de conidias; a no haber agitado la suspensión de esporas al momento de extraer los 15 µL usados, por lo que la concentración usada fue demasiado baja para una exitosa colonización, o que la gota de inóculo resbaló desde la zona de su depósito hacia la superficie no herida de la piel de las manzanas.

4.2 <u>Efecto de fludioxonilo aplicado vía termonebulización e inmersión sobre la pudrición Moho Azul (*Penicillium expansum*)</u>

4.2.1 Incidencia

Como se muestra en la Figura 4.1, la fruta tratada con Scholar 230 SC vía inmersión (T6) mostró mejores resultados que el resto de los tratamientos (T2-T5), los cuales fueron realizados vía termonebulización, De estos tratamientos, sólo Scholar RTU, con su mayor dosis de 20 ml/400 kg de fruta (T3) logró reducir significativamente la incidencia de Moho Azul al compararlo con los demás tratamientos con termonebulización y el tratamiento Testigo. Por lo tanto, la eficacia de la aplicación de fludioxonilo mediante inmersión (T6) de las manzanas inoculadas fue significativamente mayor que todos los demás tratamientos, alcanzando un nivel de 99%, comparado con el 53% de Scholar RTU, con su mayor dosis de 20 mL/400 kg de fruta (T3) y la nula eficacia de los otros tratamientos (T2, T4 y T5) comparados con el Testigo (T1).

Fludioxonilo aplicado vía ducha o inmersión, luego de la cosecha de manzanas y antes del almacenamiento refrigerado, posee una alta eficacia en el control de P. expansum (Errampalli et al., 2006). Además, los resultados de Xiao and Boal (2009) demuestran que los residuos activos de este fungicida son muy persistentes cuando es aplicado por ducha o inmersión, llegando a durar su protección contra el Moho Azul hasta 7 meses después de almacenadas las manzanas. Pareciera que la cantidad de residuos activos de fludioxonil cuando es aplicado vía termonebulización son significativamente inferiores en la superficie de la manzana tratada y sería esa la causa de no presentar resultados satisfactorios en el control de P. expansum en el presente estudio. Además, según lo observado por Bertoloni et al. (1995) al termonebulizar manzanas contra el hongo Neofabraea vagabunda en postcosecha, la circulación del aire y la temperatura dentro de la cámara al momento de la aplicación afectarían la distribución de los residuos de los fungicidas sobre la fruta. En este estudio, se observó una tendencia de disminución de la incidencia de moho azul cuando se usó la dosis mayor de la formulación Scholar RTU a 20 mL/400 kg de fruta (T3), lo que indicaría un mayor depósito y distribución de los residuos de fludioxonilo sobre las manzanas tratadas. Lamentablemente, lo anterior no pudo ser comprobado ya que no se tuvo acceso a los resultados del análisis de residuos de fludioxonilo aplicado vía inmersión y termonebulización.

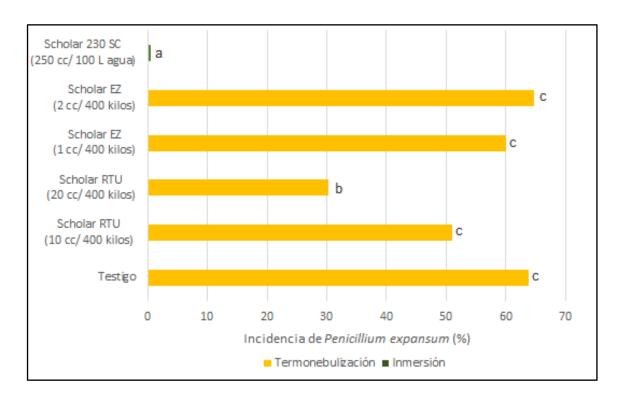


Figura 4.1 Efecto sobre el porcentaje de incidencia de la pudrición moho azul causado por el hongo *Penicillium expansum*, de distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicadas vía inmersión y termonebulización, luego de 90 días de almacenaje a 0°C. Barras horizontales con la misma letra no difieren estadísticamente (p<0,05).

4.2.2 Severidad

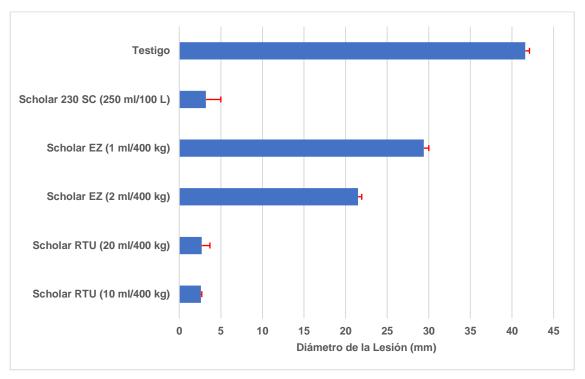


Figura 4.2. Diámetro de la pudrición (mm) producida por el hongo *Penicillium expansum* en manzanas cv. Fuji, tratadas con distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicados vía inmersión y termonebulización, luego de 90 días de almacenaje a 0°C. Barras horizontales indican el valor promedio del tratamiento y su error estándar.

Luego de 3 meses de almacenaje a 0°C, las inoculaciones que resultaron exitosas realizadas previo a esta etapa de refrigeración, con conidias de *P. expansum* sobre una herida fresca en la piel de las manzanas, produjeron una pudrición parda, acuosa, con bordes definidos por una zona de avance marcada entre el tejido macerado con el sano. Esta sintomatología coincide con la descrita por Rosenberger (1990), confirmándose luego de 7 días a T° ambiente la presencia de signos característicos de *P. expansum*, es decir conidióforos y conidias cubriendo el tejido podrido, de color azuloso. Los cultivos en APD acidulado, que se realizaron desde las zonas de avance, dieron nuevamente la presencia del hongo *P. expansum*, luego de 7 días a T° ambiente.

La medición de diámetro de aquellas lesiones en las manzanas que la presentaban mostró que aquellas tratadas con Scholar 230 SC (T2) vía inmersión y Scholar RTU (T2 y T3) vía

termonebulización, presentaron un diámetro que fluctuó entre 2,6 y 3,2 mm. Distinto fue el diámetro de la lesión alcanzado por las manzanas que no recibieron fungicida en ninguna forma de aplicación, el cual fue de 41,6 (\pm 8,2) mm. Los tratamientos con Scholar EZ vía termonebulización presentaron un valor intermedio fluctuando entre 21,5 \pm 6,8 y 29,4 \pm 9,7 mm (Figura 4.2).

El hongo P. expansum utiliza cualquier rotura microscópica de la piel de una manzana luego de su cosecha para su infección, principalmente durante la manipulación en el packing previo a su almacenaje refrigerado (Rosenberger, 1990). Por lo anterior, la protección de estas heridas para evitar su infección por este hongo con fungicidas disponibles y autorizados es fundamental. Fludioxonil es uno de ellos y actúa inhibiendo la germinación de las conidias y el crecimiento del micelio (Leroux, 1996). Por lo tanto, el depósito sobre la herida practicada de residuos suficientes de fludioxonil, hubiera sido suficiente para protegerla de una infección al inhibir la germinación de las conidias inoculadas. Por lo visto en este estudio, ello se logró con la aplicación de Scholar 230 SC vía inmersión, siendo la incidencia y severidad de la enfermedad Moho Azul significativamente menor. Sin embargo, la termonebulización de Scholar EZ no logró disminuir la incidencia de Moho Azul ni disminuir el diámetro de la lesión. En el caso de Scholar RTU aplicado vía termonebulización, aunque no fue capaz de disminuir la incidencia, esta formulación si logró reducir el diámetro de la pudrición en aquellas manzanas que la presentaron. Sin embargo, para la industria exportadora es más importante contar con una medida de protección de heridas que asegure que el mayor número de manzanas estén y permanezcan sanas durante la postcosecha, ya que cualquier lesión fungosa, por mínima que sea es causal de rechazo de exportación. Por ello, la severidad del daño generado por el hongo ya sea leve o grave, afecta directamente el carácter de exportación que esta tenga, puesto que dicha fruta no cumpliría con los estándares mínimos de calidad. Además, las manzanas afectadas por P. expansum podrían contener la micotoxina patulina, es por esto que para facilitar la importación y exportación de manzanas alrededor del mundo y evitar un riesgo potencial a la salud, se han establecido a nivel mundial, regulaciones para esta micotoxina en manzanas y sus derivados (Anguiano et al., 2012).

4.3 <u>Efecto de fludioxonilo aplicado vía termonebulización e inmersión sobre la</u> Pudrición Calicinal (*Botrytis cinerea*)

4.3.1 Incidencia

La totalidad de las formulaciones del fungicida fludioxonil utilizados para controlar incidencia del hongo *B. cinerea*, aplicados ya sea por inmersión o por termonebulización, mostraron resultados estadísticamente significativos si los comparamos con el tratamiento Testigo (T1, Figura 4.3), lo que indicaría que fludioxonilo es eficaz en el control de la germinación de las esporas de *B. cinerea* durante la etapa de postcosecha (Xiao and Boal (2009); Xiao (2014); Kim et al. (2016), y de la eficacia relativa de las formulaciones y formas de aplicación de este fungicida (Bertoloni et al., 1995).

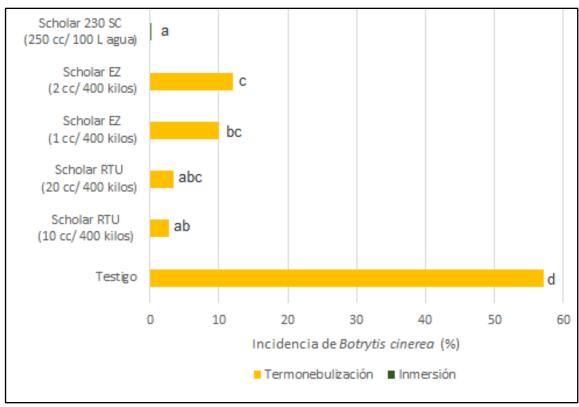


Figura 4.2 Efecto sobre el porcentaje de incidencia de la pudrición gris causada por el hongo *Botrytis cinerea*, de distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicadas vía inmersión y termonebulización, luego de 90 días de almacenaje a 0°C. Barras horizontales con la misma letra no difieren estadísticamente (p<0,05).

Nuevamente el fungicida Scholar 230 SC (T6) aplicado vía inmersión presentó una eficacia cercana al 100%, reduciendo significativamente la incidencia de pudrición por *B. cinerea* en las heridas inoculadas. Estadísticamente, la incidencia alcanzada con la aplicación de este tratamiento fue similar a aquella presentada por la aplicación de Scholar RTU en sus dosis (10 y 20 mL/400 kg de fruta), vía termonebulización (T2 y T3). Sin embargo, esta fue significativamente inferior a la presentada por el fungicida Scholar EZ en sus dos dosis (1 (T4) y 2 mL/400 kg de fruta (T5)).

Kim et al. (2016) confirman que el fungicida fludioxonil es efectivo en el control de Pudrición Gris cuando es usado tanto en pre como en postcosecha de la manzana y de muchas otras frutas y hortalizas. Xiao and Boal (2009) demuestran que los residuos activos de este fungicida son muy persistentes cuando es aplicado por ducha o inmersión, sin embargo, lo anterior pareciera que no se logra cuando es aplicado vía termonebulización. Además, según lo indicado por Bertoloni et al. (1995) otros factores estarían influyendo al aplicar fungicidas vía termonebulización, tales como la circulación del aire y la temperatura dentro de la cámara al momento de la aplicación, los cuales interferirán en un buen depósito de los residuos de estos sobre la fruta. En este estudio, se observó una disminución significativa de la incidencia de Pudrición Gris cuando se aplicó fludioxonilo en sus formulaciones Scholar RTU (T2 y T3) y Scholar EZ (T4 y T5) vía termonebulización lo que indicaría un mayor depósito y mejor distribución de los residuos de fludioxonilo sobre las manzanas tratadas (Figura 4.3). Lamentablemente, lo anterior no pudo ser comprobado ya que no se tuvo acceso a los resultados del análisis de residuos de fludioxonilo aplicado vía inmersión y termonebulización.

4.3.2 Severidad

Los diámetros de las lesiones causadas por la inoculación de conidias de *B. cinerea* sobre una herida fresca en la piel de manzanas tratadas con fludioxonilo, vía inmersión con Scholar 230 SC (T6) y vía termonebulización, con Scholar RTU (T2 y T3), fueron notoriamente pequeñas, fluctuando entre los 1 y 4 mm (Figura 4.4). Sin embargo, las lesiones fungosas presentes en el tratamiento Testigo (T1) alcanzaron casi los 60 mm a similar tiempo de almacenamiento refrigerado. Por lo tanto, se nota el efecto del fungicida fludioxonilo, cuando este es aplicado vía inmersión, o con una formulación particular (RTU) vía termonebulización. Los detalles de esta formulación no han sido informados por la empresa manufacturera (Syngenta Inc.) ni menos sobre la explicación de por qué esta es superior a la formulación Scholar EZ.

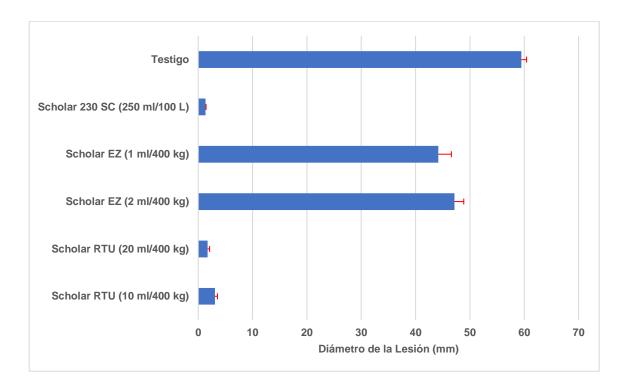


Figura 4.4 Diámetro de la pudrición (mm) producida por el hongo *Botrytis cinerea* en manzanas cv. Fuji, tratadas con distintas formulaciones del fungicida fludioxonilo aplicados vía inmersión y termonebulización, luego de 90 días de almacenaje a 0°C. Barras horizontales indican el valor promedio del tratamiento y su error estándar.

5 CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos en este estudio, se concluye lo siguiente:

El fungicida fludioxonilo, aplicado a través de las formulaciones Scholar RTU y Scholar EZ vía termonebulización mostraron una baja eficacia para el control de los hongos *Botrytis cine*rea y *Penicillium expansum* en manzanas cv. Fuji. La formulación Scholar RTU presentó un mejor comportamiento que la formulación EZ en el control de ambos tipos de pudrición.

El fungicida Scholar® 230 SC aplicado vía inmersión presentó una alta eficacia en el control de los hongos *Botrytis cine*rea y *Penicillium expansum* en manzanas cv. Fuji.

Los fungicidas Scholar RTU y Scholar EZ aplicados vía termonebulización fueron menos eficaces que Scholar® 230 SC aplicado vía inmersión en el control de los hongos *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* en manzanas cv. Fuji.

6 BIBLIOGRAFÍA

AFIPA. 2011. Asociación nacional de fabricantes e importadores de productos fitosanitarios agrícolas A.G. (Chile). Manual fitosanitario 2009 – 2010. 973 p.

Agrios, G. 2007. Fitopatología. Limusa. Segunda edición. México. 856 p.

Anguiano, J., Cepeda, A., Morlett, J., Zugasti, A. 2012. Contaminación por hongos filamentosos en manzana: amenaza para la salud y la economía. Ciencia Cierta, 31, 5. Universidad Autónoma de Coahuila. Recuperado en: http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx /CienciaCierta/CC31/6.html. Consultado el: 2 de septiembre de 2019.

Arancibia, R. 1997. Scala (Pyrimethanil), un nuevo botryticida para Chile. Botrytis. Nuevas estrategias de control cultural, biológico y químico en uva de mesa. Universidad de Chile Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales: 59-66.

BASF. 2017. Etiqueta Pirimetanil 40% p/v. SC. Recuperado en: https://www.terralia.com/vademecum_de_productos_fitosanitarios_y_nutricionales/view_tradem ark?trademark_id=3479. Consultado el: 12 de septiembre de 2019.

Bayer Cropscience. 2017. Etiqueta Scala 400 SC. Recuperado en: https://www.cropscience.bayer.cl/scala%C2%AE-400-sc-uvas. Consultado el: 15 de Septiembre del 2019.

Calvo, G. 2012. Escaldadura superficial: Fisiología y control. 12(6), 1–8. Recuperado en: http://pomaceas.utalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletin_N12_6.pdf, Consultado el: 15 de octubre del 2019.

Castro, C. 2004. Evaluación de fungicidas aplicados vía termonebulizacion, para el control de Pudricion gris (*Botrytis cinerea*) en manzanos cv. Gala. Memoria para optar al título de Ingeniero agrónomo. Talca-Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía, Universidad de Talca. 36 p.

CIREN. 2017. Información avance proyecto - Manzano, 2. Recuperado en: https://www.ciren.cl/wp-content/uploads/2017/12/Manzana.pdf. Consultado el: 30 de julio de 2019.

Coley-Smith, J., Jarvis, W., & Verhoeff,K. (1980). The Biology of Botrytis. London, England: Academic Press.

Colodner, A. 2011. Optimización de las técnicas de aplicación de productos fitosanitarios en la línea de empaque de manzana (*Malus domestica* Borkh). Memoria para optar al grado académico de Master of Scientia en fruticultura de clima templado-frio. General Roca- Argentina: Universita degli Studi di Bologna. 89 p.

Di Masi, S. 2016. Corazón Mohoso de la Manzana. Rio Negro-Argentina: INTA. Recuperado en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_corazon_mohoso_de-la-manzana.pdf. Consultado el: 25 de agosto 2019.

DIRECON (Dirección General de Relaciones Económicas Internacionales). 2018. Anuario de las Exportaciones Chilenas 2018 DIRECON-PROCHILE, 57. Recuperado en: https://www.prochile.gob.cl/wpcontent/uploads/2018/08/anuario_servicios_capitulo2_servicios_2 018.pdf. Consultado el: 7 de Agosto de 2019.

Elad, Y., Volpin, H. 1988. The involvement of ethylene and calcium in gray mold of pelargonium, ruscus and rose plants. Phytoparasitica 16, 119.

Elfar, K., Zoffoli, J., 2018 Identification and Characterization of *Alternaria* Species Associated with Moldy Core of Apple in Chile. Plant Disease 102:2158-2169.

Errampalli, D., Brubacher, N. R., and DeEll, J.R. 2006. Sensitivity of *Penicillium expansum* to diphenylamine and thiabendazole and postharvest control of blue mold with fludioxonil in 'McIntosh' apples. Postharvest Biology and Technology 39:101-107.

Federación de productores de frutas de Chile, 2018. Superficie de frutales chilenos se diversifica y crece 60% en 15 años. Chile. Recuperado en: https://fedefruta.cl/superficie-de-frutales-chilenos-se-diversifica-y-crece-60-en-15-anos/, Consultado el: 5 de Agosto de 2019.

Ferrada, E. 2017. Occurrence of severe outbreak of calyx-end rot associated with *Botrytis cinerea* in *Malus x domestica* cv. Cripps Pink during harvest in the Maule Region, Chile. Plant Disease 101(12):2149.

Ferreira, F; Delgado, L.; Ormazábal, M. 2012. Determinación del contenido de patulina en jugos de manzanas vendidos en supermercados de Santiago. Recuperado en: https://www.researchgate.net/publication/282085887 determinación del contenido de patulina

_en_jugos_de_manzana_vendidos_en_supermercados_de_santiago. Consultado el: 30 de Agosto de 2019.

France, A. 2013. Proyecto: Implementación Metodología Cropcheck en aplicaciones críticas y su efecto sobre la incidencia de *Botrytis cinerea* en arándanos. Recuperado en: http://www.inia.cl/wp-content/uploads/2015/08/2_cropcheck_arandanos.pdf. Consultado el: 14 de Agosto del 2019.

Franck, J.; Latorre, B. A.; Torres, R.; Zoffoli, J. P. 2005. The effect of preharvest fungicide and postharvest sulfur dioxide use on postharvest decay of table grapes caused by *Penicillium expansum*. Postharvest Biology and Technology 37(1): 20–30.

Gago, D. 2015. Efecto de las heridas sobre la resistencia de frutos de pimiento a *Botrytis cinerea*, 21. Recuperado en: http://ruc.udc.es/dspace/bitstream/2183/15276/2/GagoMesejo
Diego_TFG_2015.pdf. Consultado el: 19 de agosto de 2019.

Grau, P. 2015. Manzanas: La Importancia de la Industria de la Manzana Chilena en el Mercado Internacional, Instituto de investigaciones agropecuarias (INIA). [En línea] Recuperado en http://www.inia.cl/wp-content/uploads/2015/01/Art-t%C3%A9cnico_Importancia-mercadomanzanas.pdf. Consultado: el 7 de agosto de 2019.

Hidalgo, R., Gómez, M., Escalera, D., Rojas, P., Moya, V., Delgado, P., Mamami, C., Hinojosa, J. 2016. Beneficios de la manzana (Malus domestica) en la salud. 58–64. Recuperado en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/riis/v11n28/v11n28_a9.pdf Consultado el: 30 de julio 2019.

Janssen Pharmaceutica. 2017. Etiqueta Penbotec 400 SC. Recuperado en: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/penbotec_400_sc_28-06-2017.pdf. Consultado el: 8 de octubre de 2019.

Kader, A. 2011. Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas. Universidad de California. California- Estados Unidos. Tercera edición. 584 p.

Kim, J-O; Shin, J-H, Gumilang A.; Chung, K., Choi, K. and Kim, K. S. 2016. Effectiveness of Different Classes of Fungicides on *Botrytis cinerea* Causing Gray Mold on Fruit and Vegetables. Plant Pathology 32(6):570-574.

Koike, T y Bolda, M. 2016. El Moho Gris, o Pudrición de Fresa. Guía de producción 13. 6p

Latorre, B. 1989. Fungicidas y nematicidas. Avances y aplicabilidad. Colección en agricultura. Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Chile. 216 p.

Latorre, B.A. 2018. Compendio de las enfermedades de las plantas. Primera edición. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 733 p.

Leroux, P. 1996. Recent Developments in the Mode of Action of Fungicides. Pesticide Science 47(2):191–197.

Lolas, M., y Díaz, G. 2016. Enfermedades de pre y postcosecha en manzanos. Boletín Técnico Pomáceas 16. 11 p.

Melgarejo, J. 2011. Manejo integrado de Enfermedades: Mecanismo de acción de los fungicidas. 193-202 p. Recuperado en: https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/ 20.500.12324/19031/64405_64953.pdf. Consultado el: 12 de septiembre del 2019.

Merlet, H., Navarro, A., y Rosales, C. 2016. Manual Técnico Productivo y Económico Manzana. CIREN 191:1–78.

MINAGRI. 2003. Especificaciones técnicas de buenas prácticas agrícolas en el cultivo en hortalizas de fruto al aire libre. Recuperado en: http://www.uach.cl/externos/epicforce/pdf/guias y manuales/guias_b_p_agricolas/BPA_en_hortalizas_de_fruto_al_aire_libre.pdf.Consultado el: 12 de septiembre del 2019.

Morales, A. 1982. Consideraciones sobre fungicidas aplicados en postcosecha de fruta. Rev. Frutícola 3(3): 92-93.

ODEPA (Oficina de estudios y políticas agrarias). 2011. Mercado Agropecuario. Gobierno de Chile. [En Línea] Recuperado en: https://www.odepa.gob.cl/odepaweb/servicios-informacion/Mercados/oct-11.pdf> Consultado el: 6 de Octubre de 2018.

ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias). 2018. Superficie nacional en frutales. [En línea]. Santiago, Chile. Recuperado en: http://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2018/01/Superficie-plantada-nacional-WEB-17.01.2018.xlsx/. Consultado el: 30 de julio del 2019.

ODEPA (Oficina de estudios y políticas agrarias). 2019. Boletín diario de precios y volúmenes de frutas y hortalizas en mercados mayoristas, *2019*, 1–25.

OMS, 2003. Pulverización de insecticidas en el aire para la lucha contra los vectores y las plagas de la salud pública. Organización mundial de la salud. Ginebra. 44 p.

ONU (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación); OMS (Organización Mundial de la Salud). 1999. Documento de síntesis relativo a la patulina (Preparado por Francia), 2, 10.

Pinilla, B. 2013. Principales enfermedades de las pomáceas., 1–6. Recuperado en: http://pomaceas.utalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletin_N13_5.pdf. Consultado el: 7 de Agosto 2019.

Pinilla, B., Álvarez, M. 1998. Pudrición en cámaras frigoríficas. Rev. Tierra Adentro 22:10-13.

Pinto de Torres, A.; English, H.; Alvarez, M. 1994. Principales enfermedades de los frutales de hoja caduca en Chile. INIA. 311 p.

Rosenberger, D.A. 1990. Blue Mold. In. 'Compendium of Apple and Pear Diseases' Minnesota, USA: American Phytopathological Society.

Rossenberg, D.A. 2010. Low-volume prestorage drenching is attractive. Revista Good Fruit Grower, October 2010.

Saldaña, M. 2004. Evaluación de la efectividad de 2 fungicidas aplicados vía termonebulización (thermofogging) sobre *Botrytis cinerea* en pera cv. Packham's Triumph. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Talca-Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía, Universidad de Talca. 28 p.

Sanderson, P.1999. Fungicidal drenches for control of postharverst decay. Good Fruit Grower 50: 53-56.

Silva, M.; Freitas, K.; Balbi-Peña, M.; Terumi, A. Clemente, A.; Stangarlin. J. 2015. Control del moho azul en poscosecha de manzana con productos naturales *33*(2), 57–64.

SIMFRUIT. 2019. Corrección de Cifras de Exportación: Exportaciones de frutas frescas reflejan una leve baja respecto a la temporada pasada. Recuperado en: https://www.simfruit.cl/avance-temporada-2018-2019-asoex-destaca-crecimiento-cercano-al-10-en-las-exportaciones-de-frutas-frescas-chilenas-en-relacion-a-igual-periodo-de-la-campana-anterior/. Consultado el: 7 de agosto de 2019.

Soriano, M., Béjar, V. y Bonilla, P. 2002. Frecuencia de hongos anemófilos productores de micotoxinas en algunos mercados de Lima, detección de Patulina en manzanas en descomposición. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 2, 36-45.

Soto, S. 2003. Evaluación de la aplicación en postcosecha del fungicida "Pyrimethanil" vía termonebulización en el control de *Botrytis cinerea* en manzana cv. Fuji. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Talca-Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía, Universidad de Talca. 35 p.

Soto, S. 2014. Las claves para entender las enfermedades de las manzanas en poscosecha. El Mercurio, Revista el Campo, Chile. Recuperado en: https://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Analisis/2014/02/13/Las-claves-para-entender-las-enfermedades-de-las-manzanas-en-poscosecha.aspx?disp=1. Consultado el: 30 de julio del 2019.

Sutton, T. (2014). Compendium of Apple and Pear Diseases and Pests. Minnesota, USA: American Phytopathological Society.

Syngenta. 2018. Etiqueta Scholar 230 SC. Recuperado en: https://www.syngenta.cl/product/crop-protection/fungicidas/scholarr-230-sc-2. Consultado el: 8 de octubre del 2019.

USDA, F. A. S. 2019. Chile: Fresh Deciduous Fruit Semi-annual. *Gain Report Cl1906*, (May), 1–16.

Valdebenito, R. 2005. Métodos alternativos para el control de las enfermedades de manzana en post cosecha – Termoterapia y luz ultravioleta. Santiago, Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Revisado en: http://www.libros.uchile.cl/files/presses/1/monographs/221/submission/proof/files/assets/basic-html/index.html#page53 p. 53-54 Consultado el: 12 de septiembre de 2019.

Villalobos, C. 2006. Características morfológicas y patogénicas de aislamientos de *Botrytis cinerea* Pers. ex Fries desde arándano (*Vaccinium corymbosum* L. y *Vaccinium virgatum* Ait.) resistentes a benomilo. Memoria para optar al grado de Licenciado de Agronomía. Valdivia-Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. 90 h.

Viñas, I.; Recasens, I.; Usall, J; Graell, J. 2013. Poscosecha de pera, manzana y melocotón. Mundiprensa. Madrid- España. 335 p.

Xeda international. 2019. Equipo termonebulizador. Disponible en: http://www.xeda.com/esp/equipement.html. Consultado el: 30 de julio de 2019.

Xiao, C. L. 2014. Gray Mold. pp. 77-78. In: Compendium of Apple and Pear Diseases and Pests. T. B. Sutton; H. S. Aldwinkle; A. M. Agnello and J. F. Walgenbach (Eds.). American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.

Xiao, C. L., and Boal, R. J. 2009. Residual activity of fludioxonil and pyrimethanil against *Penicillium expansum* on apple fruit. Plant Dis. 93:1003-1008.