



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN EN POSTCOSECHA DEL FUNGICIDA
“PYRIMETHANIL” VÍA TERMONEBULIZACIÓN EN EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* EN
MANZANA CV. FUJI

MEMORIA DE TÍTULO

SYLVANA DE LOS ANGELES SOTO ALVEAR

Talca – Chile

2003

**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN EN POSTCOSECHA DEL FUNGICIDA
“PYRIMETHANIL” VÍA TERMONEBULIZACIÓN EN EL CONTROL DE
Botrytis cinerea EN MANZANA CV. FUJI**

POR

SILVANA DE LOS ANGELES SOTO ALVEAR

MEMORIA DE TÍTULO

**Presentada a la
Universidad de Talca como
Parte de los requisitos para optar
Al Título de**

INGENIERO AGRÓNOMO

Talca-Chile 2003

APROBACIÓN:

Profesor Guía

**Ing. Agr. M. S., Ph. D Mauricio Lolas Caneo
Profesor Escuela de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca**

Profesor Informante

**Ing. Agr. M. S. Claudia Moggia Lucchini
Profesor Escuela de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca**

Fecha de Aprobación de Memoria: 30 de Diciembre del 2003

*DEDICADA CON TODO MI AMOR A MI HIJO MATIAS, QUIEN ME DIO LA
FUERZA PARA SEGUIR ADELANTE*

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mis padres Bernardita y Gustavo, por su apoyo incondicional y por creer siempre en mis capacidades. También a toda mi familia en especial a mis abuelos Mercedes y Gustavo; y a mi tía Meche por su apoyo y ayuda.

También quiero agradecer en forma muy especial a mi profesor guía Don Mauricio Lolas por la ayuda y disposición que me brindó para poder terminar mi memoria y a Doña Claudia Moggia por su buena atención.

A todos mis amigos, en especial a Alejandra y Lorena por su amistad, paciencia y compañía en estos años, y por estar en todos los momentos en que las necesitaba.

RESUMEN

El presente estudio fue conducido en manzanas cv. Fuji para evaluar la efectividad del sistema de termonebulización para tratamientos fungicidas en postcosecha, y comparar la efectividad en el control de *B. cinerea* del fungicida pyrimethanil aplicado vía termonebulización y sistema tradicional “drenching”. Para tal efecto, las manzanas fueron obtenidas desde huertos comerciales de la zona de Linares, VII Región en donde grupos de 100 fueron inoculados con una suspensión de 10^6 conidias de *B. cinerea* por ml y grupos de 100 manzanas sin inocular, fueron sometidos a los distintos tratamientos fungicidas. Posteriormente la fruta tratada se almacenó a 0°C por tres meses, dejando además fruta no inoculada para seis meses en almacenaje refrigerado. Para el tratamiento de difeniamina (DPA) (90 ppm) (T2) y pyrimethanil (50 ppm) (T3) vía termonebulizador, la fruta se dispuso en bins, localizados dentro de un camión sellado y refrigerado. Cada tratamiento se aplicó con una máquina termonebulizadora (XEDA) por 5 minutos y se dejó la fruta en contacto con la niebla por 12 horas. Los tratamientos fungicidas vía “drenching” fueron aplicados en conjunto con DPA a través de un sistema de ducha con capacidad para un bin de fruta siendo el tiempo de aplicación de 45 segundos. Los fungicidas utilizados fueron imazalil (T4), la mezcla de éste con pyrimethanil (T5), tiabendazol (T6) y pyrimethanil (T8), los cuales fueron aplicados a una concentración de 500 ppm. Simulando procedimientos comerciales, se agregó DPA (T7), el cual fue ajustado en la solución para drenching con el fungicida a una concentración de 1300 ppm. Las evaluaciones incluyeron la incidencia de pudrición y severidad en fruta inoculada. El diseño experimental correspondió a un diseño completamente al azar con ocho tratamientos y tres repeticiones de 100 frutos cada uno. Los datos recolectados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) y test de Tukey ($p < 0,05$), además los datos de incidencia fueron sometidos a un análisis de contrastes ortogonales. La aplicación vía termonebulizador de pyrimethanil no presentó los resultados esperados en fruta inoculada, con una incidencia de la mitad de la fruta con pudrición. Sin embargo, el tratamiento de éste vía drenching controló en forma eficaz siendo incluso significativamente mejor que el tratamiento comercial de tiabendazol después de tres meses de almacenaje. En fruta sin inocular no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos con fungicidas, siendo todos igualmente efectivos. El tratamiento con imazalil no controló en forma satisfactoria la enfermedad y además disminuyó el nivel de efectividad de pyrimethanil cuando se aplicaron en forma conjunta. En fruta no inoculada almacenada por seis meses el fungicida pyrimethanil aplicado vía drenching mostró una disminución en el control de pudrición gris en comparación a la aplicación de tiabendazol vía drenching, mostrando ambos una incidencia significativamente menor al control, que presentó más del 50% de fruta con pudrición.

ABSTRACT

The effectiveness of a thermofogging system for postharvest fungicides treatments was evaluated using Fuji apples on the control of grey rot disease (*Botrytis cinerea*). For this purpose, groups of 100 fruits were inoculated with a conidia suspension (10^6 per ml), and along with groups of no inoculated apples submitted to a drenching and thermofogging treatments. These were performed as follow: for thermofogging, a sealed and refrigerated truck was filled with bins of fruit which contained the inoculated and no inoculated fruit and exposed to a DPA (90 ppm) fogging for 12 h (T2) and after, only the corresponding treatment, for an additionally 12 h of pyrimethanil (50 ppm) (T3). Then, the fogging treated inoculated and no inoculated fruit were kept at 0°C for three months, and only treated but no inoculated fruit for six months. The fogging treatments were performed with a thermofogger XEDA and the required concentration adjusted considering the volume of fruit and the empty space inside the truck. The drenching treatments, which were: DPA (T7), 1300 ppm; the fungicides imazalil (T4), 500 ppm; imazalil (500 ppm) + pyrimethanil (500 ppm) (T5); tiabendazol (500 ppm) (T6) and pyrimethanil (500 ppm) (T8), were performed by using a small scale drencher system with one bin of capacity. The drenching treated inoculated and no inoculated fruit were stored at 0°C for three months and additionally only treated but no inoculated fruit were kept for six months. Grey rot incidence and severity were registered after the three and six months of storage. Data were submitted to an ANOVA and HSD test ($p < 0,05$), and only incidence data were also analysed through orthogonal contrasts. After three months, pyrimethanil applied through drenching was highly effective in reducing grey rot incidence and severity on inoculated apples than the same fungicide applied through fogging and the fungicide tiabendazol (commercial postharvest treatment) applied through drenching. However, the last two treatments presented significantly less rot than the inoculated control. In no inoculated fruit, no differences were detected among the treatments and the control, being the rot incidence almost nil. But after six months of storage, TBZ was better than pyrimethanil applied through drenching in no inoculated fruit, showing both significantly less rot incidence than the control, which presented more than 50%.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Descripción de la enfermedad de postcosecha pudrición gris	4
2.2 Programas de control de pudrición gris en postcosecha	5
2.2.1 Características del sistema tradicional (drenching)	5
2.3 Termonebulizador	6
2.3.1 Usos del termonebulizador	6
2.3.2 Características del termonebulizador	7
2.4 Fungicidas	8
2.4.1 Tiabendazol	9
2.4.2 Imazalil	9
2.4.3 Pyrimethanil	10
2.5 Manzanas cv. Fuji	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1 Origen de la fruta utilizada en el ensayo	12
3.2 Inoculación	12
3.3 Aplicación de fungicidas	13
3.3.1 Aplicaciones vía drenching	13
3.3.2 Aplicaciones vía termonebulizador	14
3.4 Evaluación	15
3.5 Diseño experimental y análisis estadístico	16
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
4.1 Análisis residuos	17
4.2 Evaluación de la incidencia de pudrición gris en los tratamientos	18

4.3 Evaluación de severidad de pudrición gris en los tratamientos	21
5. CONCLUSIÓN	23
6. BIBLIOGRAFÍA	24
ANEXO 1	26

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de postcosecha que afectan a las manzanas provocan anualmente niveles de pérdidas por desecho que superan el 5% por temporada (Pinilla y Álvarez, 2003). Las pérdidas directas corresponden al desecho de la fruta sin valor comercial y las indirectas a los aumentos de los costos de comercialización, debido a la necesidad de volver a embalar, ya sea en los puertos de salida o en los de destino. La fruta chilena se envía a lugares cada vez más distantes, lo que implica prolongar el periodo de almacenaje, factor que contribuye decisivamente al aumento de las enfermedades (Pinilla y Álvarez, 1998).

Las especies de hongos que causan pudrición tienen un gran poder de adaptación a las condiciones adversas, incluso a las bajas temperaturas y a la vida saprofítica. Aunque existen alrededor de 30 a 40 especies identificadas como fitopatógenos, en la práctica sólo algunos géneros presentan importancia económica. *Penicilium* spp., *Botrytis* spp., *Alternaria* spp. y *Rhizopus* spp. se caracterizan por colonizar a numerosos sustratos y poseer una extraordinaria capacidad de fructificación y multiplicación produciendo pequeñas esporas de fácil diseminación; esto explica que los frutos sean fácilmente contaminados a partir de esporas producidas en partes enfermas de plantas, centrales de embalaje, cámaras frigoríficas, etc. (Morales, 1982).

Las posibilidades de control químico se han ido estrechando debido a factores como las restricciones de algunos fungicidas en ciertos mercados; la aparición de razas de algunos hongos resistentes especialmente a fungicidas específicos y la dificultad de encontrar algún producto que sea ampliamente aceptado en todas las especies y mercados a los cuales Chile exporta (Morales, 1982).

Botrytis cinerea (Pers) Fr. es probablemente el hongo que causa más daño en la agricultura, ya que es un hongo oportunista de amplio espectro que no necesita de heridas o daños para penetrar los tejidos. Además, puede desarrollarse a bajas temperaturas manifestándose los primeros síntomas después de dos meses de almacenaje en frío (Pinilla y Álvarez, 1998).

Tiabendazol (TBZ), del grupo químico de Benzimidazoles, es uno de los fungicidas más aceptados en los distintos mercados, especialmente el europeo, y el más usado en los tratamientos de postcosecha (Morales, 1988). Sin embargo, su uso prolongado y exclusivo ha generado razas resistentes de *B. cinerea* a TBZ (Latorre, 1992). La búsqueda de nuevos tratamientos es muy importante para controlar estas razas resistentes de *B. cinerea* y contar con nuevas alternativas de control.

Pyrimethanil es un nuevo compuesto que ha tenido excelentes resultados en el control de *B. cinerea* en precosecha (Arancibia, 1997) principalmente en uva de mesa.

Los tratamientos de postcosecha a manzanas en general, se realizan a través de duchas o inmersión de la fruta con distintos productos químicos, esto requiere de grandes volúmenes de agua y las soluciones deben ser finalmente desechadas, lo que implica un problema ambiental importante. Además, por la reutilización de la preparación, baja la concentración del ingrediente activo convirtiéndose en una fuente de inóculo de la fruta sana y favoreciendo aún más el desarrollo de cepas tolerantes o resistentes (Morales, 1982).

Una posibilidad de aplicación de productos en postcosecha es a través de la termonebulización, lo que permite aplicarlos directamente a la cámara frigorífica, utilizando menor cantidad de éste, sin desechos y permitiendo además una reaplicación (Xeda international, 2003).

1.1 Hipótesis

- El sistema de termonebulización es efectivo para aplicar tratamientos fungicidas en postcosecha de manzanas.
- El fungicida pyrimethanil es efectivo en el control de *B. cinerea* en postcosecha de manzanas.

1.2 Objetivos

Sobre la base de lo anterior, los objetivos de este estudio fueron:

- Evaluar la efectividad del sistema de termonebulización para tratamientos de fungicidas en postcosecha.
- Comparar la efectividad en el control de *B. cinerea* en manzana cv. Fuji del fungicida pyrimethanil aplicado vía termonebulización y sistema tradicional “drenching”.
- Evaluar la incidencia y severidad de la enfermedad Pudrición Gris (*B. cinerea*), en postcosecha de manzana cv. Fuji.

1.3 Objetivos Específicos

- Comparar la efectividad de las técnicas de aplicación de termonebulización y drenching para del fungicida pyrimethanil en el control de pudrición gris.
- Comparar la efectividad en el control de pudrición gris de los fungicidas pyrimethanil e imazalil aplicados vía drenching.
- Comparar la efectividad en el control de pudrición gris de los fungicidas pyrimethanil y tiabendazol aplicados vía drenching.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Descripción de la enfermedad de postcosecha Pudrición Gris

Esta enfermedad es causada por el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*, el cual origina una pudrición blanda y acuosa que bajo condiciones húmedas produce abundante micelio gris y conidioforos largos y ramificados, con racimos de conidias ovoide, unicelulares. El hongo libera fácilmente sus conidias cuando el clima es húmedo siendo diseminadas por el viento. El hongo también produce estructuras de sobrevivencia o esclerocios, los cuales son irregulares, planos, duros y de color negro. Éstos además, pueden desarrollarse en restos vegetales (plantas, frutas, etc.) en proceso de descomposición (Agrios, 1996).

La infección por *B. cinerea* puede producirse en el huerto durante el período de floración (septiembre), favorecida por el nivel de humedad ambiental de la estación. El hongo permanece latente en restos florales adheridos a los frutos, activándose durante el almacenaje y mostrando los primeros síntomas, generalmente a partir de los dos meses de almacenaje en frío (botritis calicinal). Los síntomas consisten en una pudrición que se inicia en el extremo calicinal y avanza hacia el interior del fruto provocando en la pulpa una pudrición de color marrón (Pinilla *et al*, 1998).

En almacenaje, la fruta afectada con botritis calicinal es el foco inicial de infección para las frutas adyacentes, o puede contaminar el agua empleada para el vaciamiento de la fruta, en el “hydrocooling” o durante los tratamientos de “drenching” (Latorre, 1992). En la pudrición gris la infección se provoca después de la cosecha y el hongo penetra por heridas presentes en la epidermis de los frutos o por el simple contacto del micelio (Pinilla y Álvarez, 1998).

2.2 Programas de control de Pudrición Gris en postcosecha

En general, para reducir las pudriciones en postcosecha, se deben tomar medidas preventivas desde el campo. Éstas consisten en controles preventivos y oportunos en floración; cosecha y transporte cuidadoso para evitar heridas; cosechar la fruta con pedúnculo; utilizar capachos y bins higienizados. La planta procesadora debe estar limpia y libre de residuos, higienizar periódicamente las cámaras frigoríficas, reciclar el agua de lavado, emplear los fungicidas en sus dosis adecuadas y realizar monitoreos permanentes destinados a establecer la presencia de razas de hongos resistentes a los productos utilizados (Pinilla y Álvarez, 1998).

El tratamiento tradicional es mediante baños, duchas o inmersión de la fruta donde se pueden combinar fungicida con sustancias químicas que previenen algunos desordenes fisiológicos como el escaldado (Morales, 1982).

2.2.1 Características del sistema tradicional (drenching)

El sistema de aplicación más empleado en la actualidad es el “drivethrough drench system” o “Sistema de ducha con fruta en movimiento”. En éste, la fruta en bins es transportada en un camión bajo una ducha o cascada fija de solución, la cual cae libremente y por gravedad sobre toda la fruta del camión. Este sistema permite manejar grandes volúmenes de fruta (PACE, 2000).

La solución debe ser mezclada completamente para conseguir concentraciones homogéneas en el estanque y en la superficie de la fruta. El sistema más efectivo es la recirculación de la solución al mismo estanque, donde la bomba debe aspirar el producto desde el fondo de éste (PACE, 2000). La recirculación permite una buena homogeneidad de la solución, pero debe ser constantemente monitoreada para confirmar si las concentraciones son las adecuadas.

La principal desventaja de este sistema es la posibilidad de presencia de razas de hongos resistentes al producto empleado, los que podrían contaminar un gran número de fruta por la reutilización de la solución. Otra desventaja es la gran cantidad de solución que se requiere para lograr un buen mojamiento de la fruta. Además, se deben considerar para mejorar su eficiencia los siguientes factores:

- Concentración de la preparación.
- Tiempo de exposición de la fruta (velocidad de la fruta a través de la cual pasa por el sistema).
- Cantidad de preparación entregada por minuto de exposición.
- El número de bins tratado por mezcla fresca.
- Limpieza de la preparación en el sistema (PACE, 2000).

Adicionalmente como por lo general se aplica una mezcla de compuestos químicos hay que considerar las incompatibilidades y los efectos sinérgicos de éstos (Morales, 1988). Otro punto importante es el desecho de las preparaciones que pueden implicar problemas medio ambientales por su eliminación.

2.3 Termonebulizador

La termonebulización es un proceso que convierte un producto químico líquido en una niebla fina, que se aplica directamente a la fruta en almacenaje. Esta técnica ha sido usada comercialmente para tratamientos de postcosecha en Europa para la aplicación de antioxidantes, fungicidas y agentes esterilizantes (Hurndall *et al*, 1994).

2.3.1 Usos del termonebulizador

Esta técnica está siendo usada por Tricancontrol S.L. para el control de insectos en zonas muy extensas o cuando se necesite de un poder de penetración máximo (Tricancontrol, 2003). Citrosol S.A. lo utiliza para tratamientos de frutas y hortalizas directamente en la cámara frigorífica y para la desinfección de centros hortofrutícolas (Citrosol, 2003).

Xeda International S.A. lo emplea en la desinfección de superficies de almacenaje con productos como TBZ e Imazalil para controlar *Aspergillus* spp. y *Trichoderma* spp. entre otros. Estos estudios se han llevado a cabo en Francia (CRCDG, 2003). Xeda además lo utiliza en tratamientos de postcosecha antiescaldante y fungicida (Xeda international, 2003).

Otros antecedentes existentes son las de Combrink (1994), que logró un adecuado control del escaldado, en manzanas cv. Granny Smith a través de aplicaciones vía termonebulización de difenilamina (DPA). Además en Sud África se han realizado ensayos, que han demostrado que la técnica de termonebulización es comercialmente aceptable; durante los años 1992 y 1993 prácticamente ninguna manzana tratada vía termonebulización con DPA desarrolló escaldado y la fruta estaba generalmente en excelentes condiciones (Hurndall *et al*, 1994).

2.3.2 Características del termonebulizador

El termonebulizador permite proyectar los productos, usando formulaciones líquidas específicas, en la atmósfera en forma de niebla estable, muy fina integradas por gotitas de diámetro menor a un micrón (CRCDG, 2003). La niebla se produce por la combinación de una fuerte corriente de aire y alta temperatura (Xeda international, 2003).

El termonebulizador calienta la formulación a 170°C y después lo inyecta al paso del aire, crea el efecto atomizador deseado. Esta niebla se mueve alrededor de la fruta, depositando los ingredientes activos en la superficie de la fruta (Hurndall *et al*, 1994).

Las ventajas del tratamiento por termonebulización son:

- 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 del riesgo de incompatibilidades entre dos o más compuestos (Xeda international, 2003).
- Se pueden tratar grandes volúmenes de fruta, alrededor de 150 toneladas por hora (Hurndall *et al*, 1994).

Algunas de las desventajas son el costo del tratamiento, la quemadura química de la fruta expuesta y la distribución desigual del producto químico por el apilado (Hurndall *et al*, 1994).

2.4 Fungicidas

Actualmente, existe un cambio profundo en el tipo de exigencias en los productos fitosanitarios, priorizándose aspectos como toxicología, impacto ambiental y selectividad. En un comienzo, los productos poseían una estructura química simple y actividad biológica de amplio espectro; mientras que actualmente los ingredientes activos son de estructuras químicas complejas, teniendo una actividad biológica específica (Nitsche, 1998).

2.4.1 Tiabendazol

Es un fungicida sistémico de amplio espectro, efectivo para una gran variedad de hongos. Perteneciente al grupo químico de los Benzimidazoles se usa en manzanas y peras, en postcosecha antes del empaque, con dosis entre 120 – 200 cc/100 L de agua (AFIPA, 1998).

El modo de acción de este compuesto es a través de la formación de un complejo carbendazima, con la tubulina, que es una proteína estructural de los microtubulos que forman las fibras del huso mitótico. En consecuencia, este producto bloquea la mitosis, pero únicamente muestra afinidad por la tubulina de organismos fungosos. Además, se ha comprobado que las especies de hongos resistentes a los productos benzimidazólicos muestran una menor afinidad o ligamiento, debido a pequeñas diferencias estructurales de las subunidades proteicas de la tubulina. Debido a la especificidad del sitio de acción, estos fungicidas se consideran sitio-específicos (Latorre, 1989).

Debido a que los benzimidazoles han generado razas resistentes de *B. cinerea*, se deben usar mezclas de fungicidas u otros productos químicos, para controlar estas razas. El tratamiento con difeniamina (DPA), empleado para reducir escaldado y las aplicaciones de cloruro de calcio reducen la incidencia de pudrición gris (Latorre, 1992).

2.4.2 Imazalil

Este fungicida es del grupo químico de imidazoles, perteneciente a los fungicidas inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (IBE). Imazalil se ha desarrollado para el control de enfermedades de postcosecha en cítricos, pomáceas y frutales de carozo, principalmente de *Penicillium* spp., en especial cuando existen problemas de tolerancia del patógeno a fungicidas benzimidazólicos (Latorre, 1989).

Su modo de acción es por contacto, actuando en uno o dos de tres sitios específicos en el proceso de síntesis del ergosterol. Por este motivo se considera un fungicida sitio-específico y en consecuencia existe un riesgo potencial de desarrollo de resistencia (Latorre, 1989).

La dosis recomendada es de 75 cc/100 L agua, en sistema de ducha durante 25 a 30 segundos (AFIPA, 1998).

2.4.3 Pyrimethanil

Es un nuevo compuesto de la familia de las anilino-pirimidinas, con excelentes propiedades fungicidas. Tiene un nuevo modo de acción, que 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 poligalactosas, celulasas y proteinasas (Arancibia, 1997).

Pyrimethanil no es mutagénico, ni carcinogénico y no presenta efecto negativo sobre la reproducción. Es rápidamente absorbido, metabolizado, excretado y sin evidencia de acumulación. Presenta baja toxicidad para mamíferos, aves y abejas; lombrices y organismos acuáticos, y no produce efectos inhibitorios sobre la respiración y nitrificación del suelo. El producto es moderadamente adsorbido en el suelo y, dada su rápida degradación microbiana, su potencial de lixiviación es bajo. Por lo anterior, no se espera acumulación en el suelo ni contaminación de aguas subterráneas cuando se usa de forma adecuada (Arancibia, 1997).

Pyrimethanil es ligeramente tóxico (Grupo IV), LD₅₀ dermal en ratas de 4.000 mg/Kg, oral de 5.000 mg/Kg, no es irritante vía dermal u ocular y no produce ninguna reacción de sensibilidad cutánea (Arancibia, 1997; AFIPA, 1998).

Es compatible con la mayoría de los productos fitosanitarios comerciales actuales, a excepción de suspensiones de Wuxal o productos que contengan aluminio (AFIPA, 1998).

2.5 Manzana cv. Fuji

Este cultivar es un cruce entre Ralls Janet y Delicious hecho en Japón por H. Nitsu en la Estación Experimental de Tohoku. El fruto es de color anaranjado, pudiendo ser rayado o liso según del tipo de Fuji. La forma del fruto es cilíndrica y algo achatada; la pulpa es blanco verdosa, fina, jugosa, muy dulce, poco ácida y poco perfumada (Baeza y Konig, 1989).

La madurez de cosecha es tardía, ocurriendo para Chile entre fines de marzo y primera quincena de abril (Baeza y Konig, 1989). Uno de los índices de cosecha empleados corresponde al cambio de color de fondo de verde claro a blanco. Debe ser cosechada antes de la completa degradación del almidón (Mitcham *et al*, 2000).

La conservación en frío de esta variedad es excelente, pudiendo almacenarse ocho a nueve meses sin problemas (Baeza y Konig, 1989). La temperatura y humedad óptima de almacenamiento son entre 0 – 1 °C y 90 – 95 % respectivamente. Su tasa de respiración es de 4 a 6 mL CO₂/Kg h a 0°C (Mitcham *et al*, 2000).

Las manzanas cv. Fuji son ligera a moderadamente susceptibles a escaldado, por lo que son necesarios aplicaciones de DPA para almacenamiento por más de dos meses. Se ha observado un pequeño porcentaje de bitter pit, lo que se controla con aplicaciones de calcio en pre y postcosecha. Además, es susceptible a partidura de la piel (skin cracking o checking), la cual es incrementada con una cosecha tardía (Mitcham *et al*, 2000).

Finalmente, la variedad Fuji es susceptible a corazón mohoso debido a su cavidad calicinal abierta como su progenitora Red Delicious (Mitcham *et al*, 2000).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Origen de la fruta utilizada en el ensayo

Manzanas cv. Fuji fueron obtenidas desde huertos comerciales de la zona de Linares, VII Región (Latitud Sur 35° 45'36" 00' y Longitud Oeste 71° 30'71" 45'). La fruta recibida presentaba serias deficiencias en cuanto a homogeneidad en tamaño, color y grado de madurez. Sin embargo, se seleccionaron las más homogéneas del lote recibido para la realización de los ensayos.

3.2 Inoculación

El inóculo utilizado provino de manzanas con síntomas de pudrición gris. Para el aislamiento de *B. cinerea*, se extrajeron trocitos de tejido desde el frente de avance de la pudrición, los cuales fueron colocados en una placa petri con agar papa dextrosa (APD) en condiciones óptimas de temperatura y humedad. De este cultivo se extrajeron desde el frente de avance, trocitos de micelio los que fueron sembrados en otra placa para obtener un cultivo puro. De este último se volvió a extraer trozos, nuevamente del frente de avance, los que fueron colocados sobre pedazos de durazno en conserva y en este sustrato el hongo se dejó esporular. Las conidias fueron colectadas después de 6 días a 20 °C y suspendidas en agua destilada estéril. La concentración del inóculo fue ajustada a través de un hemacitometro para asegurar una concentración de 10^6 conidias de *B. cinerea* por ml.

Grupos de 100 manzanas fueron inoculados realizando una incisión superficial en la zona ecuatorial, previa desinfección superficial de la piel con etanol 70%, mediante agujas esterilizadas, las que eran embebidas en la suspensión de conidias. Una vez realizada la inoculación se dejaron 20 frutos a temperatura ambiental para comprobar que la infección fuera

exitosa y desde las nuevas pudriciones se sembraron trocitos de tejido infectado en medio APD. Después de tres días a 20 °C se observó el crecimiento de *B. cinerea*, comprobándose que la inoculación y el procedimiento empleado fue el correcto.

Los grupos de fruta, tanto inoculadas como sin inocular, claramente rotulados y contenidos en mallas de plástico, fueron sometidos a los distintos tratamientos fungicidas. Posteriormente la fruta tratada se almacenó a 0°C por tres meses, dejando además fruta no inoculada, pero también tratada, por seis meses en almacenaje refrigerado.

3.3 Aplicaciones de fungicidas

3.3.1 Aplicaciones vía “drenching”

Los tratamientos de fungicidas vía “drenching” fueron aplicados en conjunto con DPA, para tal efecto se construyó un sistema de ducha con bomba y rejilla, con capacidad para un bin de fruta. El tiempo de aplicación fue de 45 segundos, lo que aseguró un completo mojado de la fruta a evaluar. Los fungicidas utilizados fueron TBZ, pyrimethanil e imazalil, los cuales fueron aplicados vía agua a una concentración de 500 ppm.

Simulando procedimientos comerciales, se utilizó el antiescaldante DPA, el cual fue ajustado en la solución para drenching con el fungicida a tratar a través de titulación. De esta forma la concentración de DPA aplicada fue de alrededor de 1300 ppm.

3.3.2 Aplicaciones vía termonebulización

Para el tratamiento fungicida y de DPA vía termonebulizador, la fruta se dispuso en bins, localizados dentro de un camión sellado y refrigerado. Cada tratamiento se aplicó con una máquina termonebulizadora (XEDA).

El camión utilizado tenía una capacidad total de 40 bins (aproximadamente 16 ton), ocupándose para el ensayo 12 bins (aproximadamente 4,8 ton). Con esta información se calculó la dosis, la cual está en relación con las toneladas de fruta y el espacio vacío presente, necesario para la circulación y distribución del producto. De esta forma las dosis de fungicida y de DPA fueron 50 y 90 g/ton respectivamente. La aplicación vía termonebulización duró aproximadamente 5 minutos y luego se dejó la fruta en contacto con la niebla por 12 horas. Se realizó primero la aplicación de DPA y al día siguiente, luego de ventilar el interior del camión, se efectuó la aplicación de pyrimethanil.

Para la aplicación vía termonebulización, los productos químicos se mezclaron con propilenglycol, el cual es un compuesto oleoso neutro que sirve como acarreador, y que además es utilizado para la limpieza de la máquina.

En el Cuadro 3.1 se presentan los tratamientos evaluados tanto para aplicaciones vía drenching como de termonebulización.

Cuadro 3.1 Tratamientos utilizados para comparar la efectividad de fungicidas aplicados vía termonebulización y vía drenching en manzanas Fuji inoculadas y no inoculadas con *B. cinerea*.

Tratamiento	Ia* (ppm)	Inoc.	Sin inoc.	
		3 m	3 m	6 m
T1: Testigo	-	✓	✓	✓
T2: Termonebulizador DPA 15%	90	✓	✓	✓
T3: Termonebulizador DPA 15% + Pyrimethanil 16%	90 + 50	✓	✓	✓
T4: Drenching DPA + Imazalil 75 SG	1300 + 500	✓	✓	-
T5: Drenching DPA + Imazalil 75 SG + Pyrimethanil 40 WV	1223 + 500 + 500	✓	✓	-
T6: Drenching DPA + TBZ (tecto 50%)	1223 + 500	✓	✓	✓
T7: Drenching DPA	1317	✓	✓	✓
T8: Drenching DPA + Pyrimethanil 40 WV	1223 + 500	✓	✓	✓

* Ingrediente activo

3.4 Evaluación

Las evaluaciones, las cuales se iniciaron luego de tres meses de almacenaje, incluyeron la incidencia de pudrición expresada como el número de lesiones resultantes en relación al número total de inoculaciones realizadas; y su severidad, expresada como grado de avance de la pudrición en el fruto de acuerdo a una escala arbitraria de 5 niveles: 1: lesión incipiente; 2: lesión leve; 3: lesión moderada; 4: lesión prominente y 5: lesión severa (Anexo 1). Las mediciones se realizaron después de tres meses de almacenaje y una semana después a temperatura ambiente; y a los 6 meses de almacenaje y una semana a temperatura ambiente.

Adicionalmente, y luego de cada tratamiento, 6 manzanas fueron colectadas desde las mallas al azar, depositadas en bolsas plásticas rotuladas y enviadas a un laboratorio de análisis de residuos.

3.5 Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental utilizado, correspondió a un diseño completamente al azar con ocho tratamientos y tres repeticiones de 100 frutos cada uno. De esta forma se constituyeron tres sub-ensayos: 1) almacenaje por tres meses, fruta inoculada; 2) almacenaje por tres meses, fruta sin inocular y 3) almacenaje por seis meses, fruta sin inocular.

Los datos recolectados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) empleando el programa Statgraphics Plus, previa transformación de aquellos en porcentaje a valores angulares ($\text{arsen } (\%)^{1/2}$) para asegurar los supuestos de homogeneidad de las varianzas. Para las variables que mostraron diferencia significativa se realizó una separación de medias utilizando el test de Tukey ($p < 0,05$). Además, los datos de incidencia fueron sometidos a un análisis de contraste ortogonales, de manera de dar respuesta a los objetivos de interés planteados en la investigación.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis de residuos

En la fruta expuesta a los distintos tratamientos, se realizó un análisis de residuos inmediatamente después de la aplicación de los productos químicos. Los resultados de estos análisis se muestran en el cuadro 4.1

Cuadro 4.1 Análisis de residuos en la fruta, después de la aplicación de los tratamientos.

Tratamiento	Análisis de residuos (ppm) ¹			
	DPA	Imazalil	Pyrimethanil	TBZ
T1: Testigo	-	-	-	-
T2: Termonebulizador DPA 15%	1,58	-	-	-
T3: Termonebulizador DPA 15% + Pyrimethanil 16%	-	-	0,67	-
T4: Drenching DPA + Imazalil 75 SG	-	0,82	-	-
T5: Drenching DPA + Imazalil 75 SG + Pyrimethanil 40 WV	-	1,0	0,85	-
T6: Drenching DPA + TBZ (tecto 50%)	3,51	-	-	0.64
T7: Drenching DPA	5,02			
T8: Drenching DPA + Pyrimethanil 40 WV	4,53	-	1,65	-

¹: promedio de dos repeticiones

Los residuos en la fruta con tratamientos aplicados vía drenching son mayores que los aplicados vía termonebulización, siendo para DPA 3 veces y para pyrimethanil de 2,5 veces. En el caso de la aplicación conjunta de imazalil y pyrimethanil, este último presenta un nivel de residuos más bajos a pesar de que se aplicó la misma concentración que en los tratamientos de cada uno por separado (Cuadro 4.1).

Los límites máximos de residuos (LMR) permitidos para TBZ son de 10 ppm y 5 ppm en EEUU y UE respectivamente para postcosecha (Agenda de Pesticidas, 2003), aunque se espera un buen control con niveles de residuos entre 0,2 a 0,9 ppm (Morales, 1989). Los residuos obtenidos en el ensayo (0,64 ppm) se encuentran dentro de estos niveles (Cuadro 4.1). Es importante recalcar que éste es el único producto permitido para tratamientos fungicidas en manzanas. Para USA se cancelará en los próximos cuatro años el uso del fungicida benomyl (lo que podría involucrar a sus congéneres), por lo cual es conveniente buscar nuevas alternativas para pre y postcosecha (Agenda de Pesticidas, 2003).

Para imazalil solo existen registros en cítricos, siendo para naranja de 5 ppm en poscosecha para EEUU y de 2 ppm con 15 días de carencia (DC) para UE (Agenda de Pesticidas, 2003).

El fungicida pyrimethanil no tiene registro para EEUU, pero para Canadá el LMR es de 0,1 ppm con 75 DC. La UE no tiene registro para este producto, aunque algunos países si lo tiene. Por ejemplo Alemania, es uno de los países con menos exigencias, con un LMR de 2 ppm y 7 DC (Agenda de Pesticidas, 2003). Los residuos obtenidos en este ensayo fueron de 0,67 y 1,65 ppm para las aplicaciones vía termonebulización y drenching respectivamente en el momento de la aplicación (Cuadro 4.1). No se tiene conocimiento del comportamiento del producto durante el almacenaje y los niveles de residuos con que llegarían a los mercados de destino.

4.2 Evaluación de la incidencia de pudrición gris en los tratamientos

El ANDEVA realizado entre los tratamientos practicados arrojó un resultado altamente significativo ($p < 0,001$) para fruta inoculada y almacenada por tres meses a 0°C. Es así como el testigo alcanzó una incidencia de pudrición de 85%, el cual fue significativamente superior al obtenido en todos los demás tratamientos y que demuestra la efectividad de la inoculación

(Cuadro 4.2). Por el contrario, el tratamiento que consideró la aplicación vía drenching del fungicida pyrimethanil (T8), fue el que logró una incidencia significativamente menor de lesiones (13,7%) en comparación a los demás tratamientos, dentro de los cuales se incluyen el tratamiento estándar practicado a nivel comercial con TBZ (T6) aplicado por esta vía (35,5%) y al mismo fungicida pyrimethanil aplicado con termonebulizador (T3)(56,4%) (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2 Incidencia (%) de pudrición gris en manzanos cv. Fuji inoculadas con *B. cinerea* y sin inocular después de tres meses de almacenaje, y no inoculada después de seis meses de almacenaje, las cuales fueron sometidas a los diferentes tratamientos fungicidas vía termonebulizador y vía drenching

Tratamiento	Incidencia (%)		
	Inoc.	Sin inoc.	
	3 m	3 m	6 m
T1: Testigo	85,2 e	12,4 b	55,5 bc
T2: Termonebulizador DPA 15%	71,8 de	11,5 b	62,2 c
T3: Termonebulizador DPA 15% + Pyrimethanil 16%	56,4 cd	4,6 a	47 b
T4: Drenching DPA + Imazalil 75 SG	60,1 cd	6,7 ab	-
T5: Drenching DPA + Imazalil 75 SG + Pyrimethanil 40 WV	50,8 bc	2,3 a	-
T6: Drenching DPA + TBZ (tecto 50%)	35,5 b	4,8 a	3,9 a
T7: Drenching DPA	34,5 b	12,7 b	63,3 c
T8: Drenching DPA + Pyrimethanil 40 WV	13,7 a	1 a	12,5 a
Significancia	**	**	**
Contrastes Ortogonales			
T1 vs T2-T8	**	**	**
T3 vs T8	**	NS	**
T2-T3 vs T7-T8	**	NS	**
T4 vs T5	NS	NS	-
T6 vs T8	**	NS	*
T6 vs T4	**	NS	-
T5 vs T8	**	NS	-

Cifras seguidas por las mismas letras no difieren estadísticamente. Tukey ($p < 0,05$)

** : altamente significativo ($p < 0,01$)

* : significativo ($p < 0,05$)

ns: no significativo

El análisis de contrastes ortogonales nos indica que sería significativamente más efectivo aplicar pyrimethanil vía drenching que a través del termonebulizador y también que esa aplicación es más efectiva en reducir la incidencia de pudrición que su mezcla con el fungicida imazalil o en comparación con el fungicida TBZ. En relación a este último, los resultados analizados demuestran que su aplicación vía drenching fue significativamente más efectiva en reducir la incidencia de las lesiones en manzana cv. Fuji que utilizando el fungicida imazalil, el cual no mejoró su efectividad al ser mezclado con el fungicida pyrimethanil (Cuadro 4.2).

En la fruta sin inocular que permaneció tres meses en almacenaje refrigerado, la cual representaría aquella con el inóculo natural o la fruta en condiciones normales, se puede observar que no existe diferencia significativa en el número de fruta con pudrición entre el testigo y los tratamientos que incluyeron sólo DPA; sin embargo, existen diferencias con los tratamientos de drenching TBZ, pyrimethanil, pyrimethanil + imazalil y aplicado vía termonebulizador pyrimethanil (Cuadro 4.2). El análisis de contrastes ortogonales muestra solo la existencia de una diferencia significativa entre el testigo y el resto de los tratamientos (Cuadro 4.2).

En la fruta sin inocular con *B. cinerea*, tratada y almacenada a 0°C por seis meses, el tratamiento con TBZ muestra una incidencia de 3,9 %, siendo similar a la registrada a los tres meses. El tratamiento de drenching con pyrimethanil, el cual fue el mejor tratamiento en fruta almacenada por tres meses, mostró un aumento en la fruta afectada (12,5%). El análisis de contrastes ortogonales muestra que existe una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre estos tratamientos (Cuadro 4.2), siendo TBZ el que muestra un control preventivo mejor para tiempos de almacenaje más prolongados. Además, el análisis de contrastes ortogonales muestra que para esta fruta, los tratamientos aplicados vía drenching son más efectivos que los aplicados vía termonebulizador (Cuadro 4.2)

4.3 Evaluación de severidad de pudrición gris en los tratamientos

Los resultados del cuadro 4.3 indican que el mejor tratamiento fue la aplicación vía drenching de pyrimethanil, el cual tuvo la menor incidencia de la enfermedad y sólo presenta lesiones incipientes (nivel 1). El segundo mejor tratamiento es el drenching TBZ, pero éste muestra un 5% de pudrición severa (nivel 5), lo que podría ser atribuido a una deficiente distribución del fungicida en la fruta o a cepas resistentes de *B. cinerea*. En relación a este último punto, existe evidencia de cepas resistentes a benzimidazoles (Latorre,1992), principalmente por su excesivo uso por ser el único producto aceptado para tratamientos de postcosecha en manzanas (Agenda de Pesticidas, 2003). Con respecto al tratamiento con pyrimethanil vía termonebulizador la mayor parte de las lesiones son incipientes, pero existe un 13,2% con pudrición severa lo que se puede atribuir al bajo nivel de residuos del producto sobre la fruta (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.3 Porcentaje de cada uno de los niveles de severidad en fruta inoculada con *B. cinerea* después de tres meses de almacenaje refrigerado a 0°C y que fueron sometidas a los diferentes tratamientos

Tratamiento	Severidad (Niveles)				
	1	2	3	4	5
T1: Testigo	12,9 a	1,7 a	1,4 ab	2,4 c	67,8 e
T2: Termonebulizador DPA 15%	22,7 ab	3,5 ab	0,7 ab	1,4 abc	43,6 d
T3: Termonebulizador DPA 15% + Pyrimethanil 16%	36 cd	5,1 abc	0,4 a	1,7 bc	13,2 bc
T4: Drenching DPA + Imazalil 75 SG	30 bcd	10,5 c	2,4 b	0,3 ab	16,9 b
T5: Drenching DPA + Imazalil 75 SG + Pyrimethanil 40 WV	37,8 d	9,4 bc	0,3 a	0,3 ab	3 ab
T6: Drenching DPA + TBZ (tecto 50%)	28 bcd	2,4 a	0 a	0 a	5 abc
T7: Drenching DPA	24 abc	6,4 abc	0,3 a	0 a	3,7 ab
T8: Drenching DPA + Pyrimethanil 40 WV	13,7 a	0 a	0 a	0 a	0 a
Significancia	**	**	**	**	**

** : altamente significativo ($p < 0,01$)

Cifras seguidas por las mismas letras no difieren estadísticamente. Tukey ($p < 0,05$)

En la fruta sin inocular y almacenada por tres y seis meses se pudo observar además de pudrición gris causada por *B. cinerea*, una baja incidencia de fruta con moho azul causada por *Penicillium expansum*.

El fungicida pyrimethanil en ensayos para diversos cultivos, ha mostrado una alta eficiencia en el control de *B. cinerea* en precosecha (Arancibia, 1997). Con los resultados de este ensayo se puede inferir que también es una alternativa para el control de pudrición gris en postcosecha aplicados vía drenching.

Para poder comprobar la efectividad de las aplicaciones vía termonebulizador se deberían realizar estudios en donde se prueben distintas dosificaciones, y de esta forma buscar la dosis que controla eficazmente la enfermedad, con un mínimo de residuos posible, debido a las exigencias de los mercados, especialmente el europeo. También se debería controlar de mejor manera los factores de aplicación del sistema de termonebulización como el sellado del lugar de aplicación y el volumen de fruta.

Por último el tratamiento con drenching DPA, muestra una incidencia estadísticamente similar al TBZ (Cuadro 4.2). Esto no debería haber ocurrido ya que este producto es un antiescaldante, que se utiliza comúnmente en conjunto con las aplicaciones para control de enfermedades. Este fenómeno probablemente se deba a que la fruta que se utilizó en el ensayo no poseía la homogeneidad deseable y se desconocía la procedencia de esta y los tratamientos de precosecha a los que fueron expuestos.

5. CONCLUSIONES

- 1.- La aplicación vía termonebulizador de pyrimethanil no presentó los resultados esperados, con una incidencia de la mitad de la fruta con pudrición gris en fruta inoculada. La diferencia de control entre las formas de aplicación se puede explicar por las diferencias de residuos en la fruta que es de 1: 2,5.
- 2.- El tratamiento de pyrimethanil vía drenching controló en forma eficaz pudrición gris en fruta inoculada después de tres meses de almacenaje, incluso una semana después de mantener la fruta a temperatura ambiente.
- 3.- El fungicida pyrimethanil prevendría más efectivamente pudrición gris en manzanas cv. Fuji que TBZ, en fruta inoculada y almacenada por tres meses.
- 4.- En fruta sin inocular no se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos con fungicidas, siendo todos igualmente efectivos.
- 5.- El tratamiento con imazalil no controló en forma satisfactoria la enfermedad y además bajó el nivel de efectividad de pyrimethanil cuando se aplicaron en forma conjunta; esto se reflejó en una disminución también de los residuos de pyrimethanil sobre el fruto.
- 6.- En fruta almacenada por seis meses el fungicida pyrimethanil aplicado vía drenching, mostró una disminución en el control de pudrición gris, en comparación a la aplicación de TBZ vía drenching.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. AFIPA. 1998. Asociación nacional de fabricantes e importadores de plaguicida agrícolas A. G. (Chile). Manual Fitosanitario 1998 – 1999. 731 p.
2. Agenda de pesticidas, 2003. Asociación de exportadores de Chile. A. G., Actualización Agosto del 2003.
3. Agrios G. 1996. Fitopatología. Limusa. Segunda edición. México. 838 p.
4. Arancibia R. 1997. Scala (Pyrimethanil), un nuevo botricida para Chile. Botrytis nuevas estrategias de control cultural, biológico y químico en uva de mesa. Universidad de Chile Fac. de Ciencias Agrarias y Forestales: 59 – 66.
5. Baeza C. y König A. 1989. Nuevas variedades de Manzana para Chile. Rev. Frutícola 10 (1): 17 – 19.
6. Citrosol. 2003. Desinfección, control y regulación automática de cámaras de conservación y desinfección. Disponible en <http://www.citrosol.com/maquinaria.htm>. Consultada 26 mayo de 2003.
7. Combrink J. C. 1994. Integrated management of postharvest fruit quality. International Symposium on Postharvest Treatment of Horticultural Crops. Disponible en http://www.actahort.org/books/368/368_78.htm. Consultado 22 de mayo de 2003.
8. CRCDG. 2003. Désinfection des aires de stockage et des surfaces par thermonébulisation d'un fongicide. Disponible en http://www.crcdg.culture.fr/culture/conservation/fr/laborato/crcdg/fr/microbio_tr02.htm. Consultado 26 de mayo de 2003.
9. Hurdall R., Dodd M., Lotz E., Barnard F. y Blows R. 1994. South African experience with the application of DPA by means of thermofogging. Deciduous Fruit Grower. 44:104 – 107.
10. Latorre B. 1989. Fungicidas y Nematicidas, avances y aplicaciones. Colección en agricultura. Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad de Católica de Chile. 216 p.
11. _____ 1992. Enfermedades de las plantas cultivadas. Ediciones Universidad Católica de Chile. Tercera edición. 628 p.
12. Mitcham E, Crisosto C. y Kader A. 2000. Manzana Fuji, recomendaciones para mantener la calidad de postcosecha. Disponible en <http://www.coolforce.com/facts/espanol/manzanafuji.html>. Consultado 28 de abril de 2003.
13. Morales A. 1982. Consideraciones sobre fungicidas aplicados en postcosecha de frutas. Rev. Frutícola 3 (3): 92 – 93.
14. _____ 1988. Control de hongos en postcosecha. Rev. Aconex 21: 19 – 23.
15. _____ 1989. Manejo y control de enfermedades fungosas en postcosecha de carozo, pámaceas y kiwi. Publicaciones Misceláneas Agrícolas. Universidad de Chile Fac. de Ciencias Agrarias y Forestales 30: 147 – 15

16. Nitsche J. 1998. Visión de la industria de agroquímicos: un compromiso de la empresa para la producción sana y eficiente de alimentos. En: Actas Curso Chileno de la Manzana. Centro de Pomáceas y Soc. Chilena de Fruticultura: 155 – 163.
17. PACE internacional LLC. 2000. Actualización en el uso de Shield liquid DPA 31% para el control de escaldado en pomáceas. Boletín Técnico 1: 10 – 15.
18. Pinilla B. y Alvarez M. 1998. Pudrición en cámaras frigoríficas. Rev. Tierra Adentro 22: 10 – 13.
19. _____ 2003. Estudios epidemiológicos de la "pudrición calicinal" de las pomáceas causada por *Botrytis cinerea*. Resúmenes de trabajos presentados en el XI Congreso SOCHIFIT. Disponible en <http://www.fitopatologiachile.cl/publicaciones.html>. Consultado 12 de noviembre del 2003.
20. Pinilla B., Alvarez M y Villafranca J.1998. Efecto del tratamiento por hidrocooler sobre la incidencia de pudrición calicinal causada por *Botrytis cinerea* en manzanas Royal Gala. En: Actas Curso Chileno de la Manzana. Centro de Pomáceas y Soc. Chilena de fruticultura: 109 – 115.
21. Tricancontrol. 2003. Control de insectos. Disponible en <http://www.tricancontrol.com/plagas.html>. Consultado 26 de mayo de 2003.
22. Xeda internacional. 2003. Tratamientos de postcosecha por termonebulizador. Disponible en <http://www.Xeda.com/Doc/prodgb.pdf>. Consultado 7 de abril de 2003.

ANEXO 1

Escala de severidad arbitraria de niveles de desarrollo de la enfermedad pudrición gris en manzana cv. Fuji en fruta inoculada.

Niveles de severidad:

- 1.- Lesión incipiente
- 2.- Lesión leve
- 3.- Lesión moderada
- 4.- Lesión prominente
- 5.- Lesión severa

