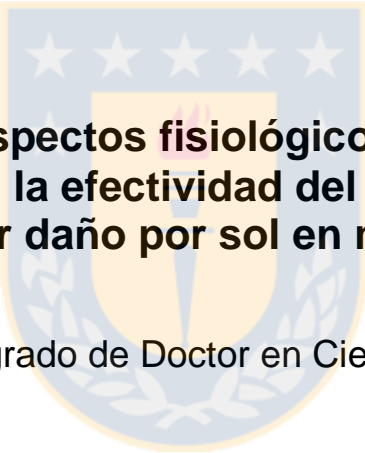




Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Agronomía - Programa de Doctorado en Ciencias de la Agronomía



**Estudios de aspectos fisiológicos y bioquímicos
relacionados con la efectividad del uso de mallas para
prevenir daño por sol en manzanas**

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias de la Agronomía

HECTOR MIGUEL OLIVARES SOTO

CHILLAN - CHILE
2018

Profesor Guía: Dr. Richard M. Bastías Ibarra
Dpto. de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía
Universidad de Concepción



Estudios de aspectos fisiológicos y bioquímicos relacionados con la efectividad del uso de mallas para prevenir daño por sol en manzanas

Aprobada por la Comisión:

Richard M. Bastías Ibarra
Ingeniero Agrónomo, Dr.

Profesor Guía

Arturo A. Calderón Orellana
Ingeniero Agrónomo, Dr.

Profesor Co-guía

María Dolores López Belchí
Licenciado Química, Dra.

Evaluadora Interna

Gonzalo Silva Aguayo
Ingeniero Agrónomo, Dr.

Director de Programa



AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México ya que con su esfuerzo laboral contribuyen al fomento de la Investigación Científica, el cual por medio del **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** me brindó la oportunidad y el apoyo financiero para realizar mis estudios de postgrado y la presente investigación.

Al **Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola Pecuaria (INIFAP)** por brindarme todas las facilidades que un investigador pueda desear para su formación profesional y obtención de grado.

A la **Universidad de Concepción** por la oportunidad que me brindaron para realizar mis estudios y en especial al postgrado de Agronomía.

Al **Dr. Richard M. Bastías Ibarra**, por ser una excelente persona, por su valiosa orientación, paciencia y tiempo dedicado en la realización de esta investigación y, además, por su amistad brindada.

Al **Dr. Arturo A. Calderón Orellana** y la **Dra. María Dolores López Belchí**, por su amabilidad y sencillez, por su apoyo brindado y sus valiosas contribuciones aportadas.

DEDICATORIA

A mis amores; mi hija **Laila Romina Olivares Reyes** y mi esposa **Altagracia Reyes Castillo**, por todo su amor brindado durante estos años, entusiasmo, energía, y por ser parte fundamental en mi vida, por todo su apoyo y comprensión incondicional.

Héctor Miguel Olivares Soto.



TABLA DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS.....	ix
INDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY	xv
I. CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1. Factores fisiológicos.....	1
1.1.1. Quemaduras por sol tipo necrótico	2
1.1.2. Quemaduras de sol tipo bronceado en la epidermis	3
1.1.3. Quemadura por sol del tipo fotooxidación	5
1.2. Factores micro-climáticos	7
1.2.1 Temperatura.....	7
1.2.2 Radiación solar	8
1.2.3 Humedad Relativa	9
1.2.4 Movimiento de aire (velocidad del viento).....	10
1.3 Factores bioquímicos	10
1.3.1 Actividad enzimática	10
1.3.2 Acumulación de pigmentos o metabolitos	11
1.4. Medidas para el manejo del daño por sol	14
1.4.1 Enfriamiento por evaporación.....	14
1.4.2 Embolsado de fruta.....	15
1.4.3 Supresores.....	15
1.4.4 Protectores químicos	15
1.4.5 Mallas	16
1.5. Hipótesis	17
1.6. Objetivos.....	17
1.6.1. Objetivo General	17

1.6.2. Objetivos específicos	17
1.7. Referencias	19
II. CAPITULO 2: EFICIENCIA FOTOSINTÉTICA EN MANZANAS PROTEGIDAS BAJO MALLAS SOMBRA	26
2.1 ABSTRACT	26
2.2 INTRODUCCIÓN	27
2.3 MATERIALES Y MÉTODOS	29
2.3.1 Material vegetal y diseño experimental	29
2.3.2 Evaluación de fluorescencia y condiciones micro-climáticas	30
2.3.3 Evaluación en la cosecha	30
2.3.4 Análisis estadístico	33
2.4 RESULTADOS	33
2.5 DISCUSIÓN	40
2.6 CONCLUSIONES	47
2.7 REFERENCIAS	47
III. CAPITULO 3: EL CONTROL DE QUEMADURA POR SOL CON MALLAS AFECTA DIFERENCIALMENTE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES EN LA PIEL DE FRUTOS EN MANZANOS 'GALA' Y 'FUJI'	51
3.1 ABSTRACT	51
3.2 INTRODUCCIÓN	52
3.3 MATERIALES Y MÉTODOS	55
3.3.1 Material vegetal y diseño experimental	55
3.3.2 Composición de la luz solar	55
3.3.3 Condiciones micro-climáticas	56
3.3.4 Daño por sol y color de frutos	56
3.3.5 Compuestos fenólicos y actividad antioxidante	57
3.3.6 Análisis estadístico	58
3.4 RESULTADOS	58
3.4.1 Composición de la luz solar	58
3.4.2 Condiciones micro-climáticas	60

3.4.3 Quemadura por sol y color de frutos.....	61
3.4.4 Compuestos fenólicos y actividad antioxidante	64
3.5 DISCUSIÓN.....	67
3.6 CONCLUSIONES.....	72
3.7 REFERENCIAS.....	72
IV. CONCLUSION GENERAL.....	78



INDICE DE TABLAS

TABLA 1. PARÁMETROS DE ESPECTRO DE LUZ ESTIMADOS EN MALLAS ROJA Y PERLA.59



INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. SÍNTOMAS DE DAÑO POR SOL EN MANZANAS DEL TIPO NECRÓTICO (A), BRONCEADO EN LA EPIDERMIS (B) Y FOTO-OXIDATIVO (C) (SCHRADER ET AL., 2001).....	2
FIGURA 2. GRADOS DE QUEMADURAS POR SOL EN MANZANAS ‘FUJI’ (SCHRADER ET AL., 2005). NB, SIN QUEMADURA POR SOL; SB-1, QUEMADURA POR SOL DEL TIPO LEVE; SB-2, QUEMADURA POR SOL DEL TIPO LEVE-MEDIO 2; SB-3, QUEMADURA POR SOL DEL TIPO MODERADA; SB-4, QUEMADURA POR SOL DEL TIPO SEVERA.....	4
FIGURA 3. DETALLE DEL MÉTODO UTILIZADO PARA LA MEDICIÓN DE PARÁMETROS DE FLUORESCENCIA DE CLOROFILA EN LA PIEL DEL FRUTO DE MANZANOS, UTILIZANDO UN CLIP DE OBTURADOR MÓVIL DESARROLLADO PARA ESTA MEDICIÓN BAJO CONDICIONES DE CAMPO.	32
FIGURA 4. DETALLES DEL MÉTODO UTILIZADO PARA ESTUDIAR LOS EFECTOS DEL ENMALLADO EN MANZANAS COSECHADAS.....	32
FIGURA 5. INCIDENCIA DE QUEMADURA DE SOL EN FRUTOS DE MANZANOS ‘GALA’ Y ‘FUJI’ CUBIERTAS CON MALLA Y SIN MALLA (CONTROL), SEGÚN CATEGORÍA DE DAÑO: SANO, LEVE Y SEVERO.	34
FIGURA 6. RADIACIÓN SOLAR COMO DENSIDAD DE FLUJO DE FOTONES FOTOSINTÉTICAMENTE ACTIVOS (PPFD) MEDIDA A LOS 50 (A), 80 (B), 110 (C) DÍAS DESPUÉS DE PLENA FLORACIÓN (DDPF) EN MANZANOS ‘GALA’, Y A LOS 90 (D), 120 (E), 150 (F) DDPF EN ‘FUJI’ CUBIERTOS CON MALLA Y SIN MALLA (CONTROL).....	34
FIGURA 7. RADIACIÓN ULTRAVIOLETA ($W m^{-2}$) MEDIDA EN MALLA Y SIN MALLA (CONTROL) EN HUERTOS DE MANZANA ‘GALA’ Y ‘FUJI’.	35
FIGURA 8. TEMPERATURA DE LA SUPERFICIE DE LA FRUTA (FST) MEDIDA A LOS 50 (A), 80 (B), 110 (C) DÍAS DESPUÉS DE PLENA FLORACIÓN (DDPF) EN MANZANOS ‘GALA’, Y A LOS 90 (D), 120 (E), 150 (F) DDPF EN ‘FUJI’ CUBIERTOS CON MALLA Y SIN MALLA (CONTROL).	36
FIGURA 9. EFICIENCIA CUÁNTICA FOTOQUÍMICA MÁXIMA DEL FOTOSISTEMA II (F_v/F_m) MEDIDA EN LA PIEL DE FRUTOS A LOS 50 (A) Y 80 (B) DÍAS DESPUÉS DE PLENA FLORACIÓN (DDPF) EN MANZANOS ‘GALA’ Y A LOS 90 (C), 120 (D), 150 (E) DDPF EN ‘FUJI’ CUBIERTOS CON MALLA Y SIN MALLA (CONTROL).	37

FIGURA 10. EVOLUCIÓN DIARIA DE RADIACIÓN SOLAR COMO DENSIDAD DE FLUJO DE FOTONES FOTOSINTÉTICAMENTE ACTIVOS (PPFD), TEMPERATURA DE LA SUPERFICIE DE LA PIEL (FST, °C) Y EFICIENCIA CUÁNTICA FOTOQUÍMICA MÁXIMA DEL FOTOSISTEMA II (F_v/F_m) MEDIDA A MADUREZ FISIOLÓGICA DE FRUTOS DESCONECTADOS DESDE EL ÁRBOL DE MANZANOS 'GALA' CUBIERTOS CON MALLA Y SIN MALLA (CONTROL).....	38
FIGURA 11. EVOLUCIÓN DE RADIACIÓN SOLAR COMO DENSIDAD DE FLUJO DE FOTONES FOTOSINTÉTICAMENTE ACTIVOS (PPFD), TEMPERATURA DE LA SUPERFICIE DE LA PIEL (FST) Y EFICIENCIA CUÁNTICA FOTOQUÍMICA MÁXIMA DEL FOTOSISTEMA II (F_v/F_m) MEDIDA A MADUREZ FISIOLÓGICA DE FRUTOS DESCONECTADOS DEL ÁRBOL DE MANZANOS 'FUJI' CUBIERTOS CON MALLA Y SIN MALLA (CONTROL).....	39
FIGURA 12. RELACIÓN ENTRE EFICIENCIA CUÁNTICA FOTOQUÍMICA MÁXIMA DEL FOTOSISTEMA II (F_v/F_m) Y RADIACIÓN SOLAR COMO FLUJO DE FOTONES FOTOSINTÉTICAMENTE ACTIVOS (PPFD) MEDIDA EN LA TEMPORADA DE CRECIMIENTO (A Y B) Y A MADUREZ FISIOLÓGICA (C Y D) EN FRUTOS DE 'GALA' Y 'FUJI' CUBIERTOS CON MALLA Y SIN MALLA (CONTROL).	41
FIGURA 13. RELACIÓN ENTRE EFICIENCIA CUÁNTICA FOTOQUÍMICA MÁXIMA DEL FOTOSISTEMA II (F_v/F_m) Y TEMPERATURA SUPERFICIAL DE LA FRUTA (FST) MEDIDA EN LA TEMPORADA DE CRECIMIENTO (A Y B) Y A MADUREZ FISIOLÓGICA (C Y D) EN FRUTOS DE 'GALA' Y 'FUJI' CUBIERTOS CON MALLA Y SIN MALLA (CONTROL).....	42
FIGURA 14. CATEGORÍA DE DAÑO POR SOL UTILIZADA EN MANZANAS 'GALA' Y 'FUJI' DESDE LA AUSENCIA DE DAÑO (NB) HASTA DAÑO POR SOL SEVERO (SB-4).	57
FIGURA 15. TRANSMISIÓN ESPECTRAL DE LA LUZ SOLAR EN EL RANGO UV-VIS-FR BAJO MALLA ROJA, PERLA Y SIN MALLA (PLENO SOL).	59
FIGURA 16. TRANSMISIÓN ESPECTRAL DE LA LUZ SOLAR EN EL RANGO IR BAJO MALLA ROJA, PERLA Y SIN MALLA (PLENO SOL).....	60
FIGURA 17. DENSIDAD DE FLUJO DE FOTONES FOTOSINTÉTICAMENTE ACTIVOS (PPFD), RADIACIÓN ULTRAVIOLETA (UV) (C Y D) Y TEMPERATURAS EN LA SUPERFICIE DE LA FRUTA (FST) (E Y F) MEDIDA EN MANZANOS 'GALA' Y 'FUJI' BAJO MALLA ROJA, PERLA Y SIN MALLA (CONTROL).	61

FIGURA 18. INCIDENCIA DE QUEMADURA DE SOL EN FRUTOS DE MANZANOS ‘GALA’ Y ‘FUJI’ CUBIERTAS CON MALLA ROJA, PERLA Y SIN MALLA (CONTROL), SEGÚN CATEGORÍA DESDE AUSENCIA DE DAÑO POR SOL (NB) HASTA DAÑO POR SOL SEVERO (SB-4).....	62
FIGURA 19. PARÁMETROS DE COLOR (L^* , a^* Y b^*) EN FRUTOS DE MANZANOS ‘GALA’ Y ‘FUJI’ CUBIERTAS CON MALLA ROJA, PERLA Y SIN MALLA (CONTROL), SEGÚN CATEGORÍA DESDE AUSENCIA DE DAÑO POR SOL (NB) HASTA DAÑO POR SOL SEVERO (SB-4).....	63
FIGURA 20. RELACIÓN ENTRE PARÁMETROS DE COLOR (a^* Y b^*) EN FRUTOS DE MANZANOS ‘GALA’ (A Y C) Y ‘FUJI’ (B Y D) CUBIERTAS CON MALLA ROJA, PERLA Y SIN MALLA (CONTROL), SEGÚN CATEGORÍA DESDE AUSENCIA DE DAÑO POR SOL (NB) HASTA DAÑO POR SOL SEVERO (SB-4).....	64
FIGURA 21. POLIFENOLES TOTALES (A Y B), ANTOCIANINAS TOTALES (C Y D) Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DPPH (E Y F) Y FRAP (G Y H) EN FRUTOS DE MANZANOS ‘GALA’ Y ‘FUJI’ CUBIERTAS CON MALLA ROJA, PERLA Y SIN MALLA (CONTROL), SEGÚN CATEGORÍA DESDE AUSENCIA DE DAÑO POR SOL (NB) HASTA DAÑO POR SOL SEVERO (SB-4).....	66



RESUMEN

El golpe de sol en manzanas es causado por el exceso de radiación solar y elevadas temperaturas, significando pérdidas que van desde los 25 a 100 millones de dólares anuales para la industria del manzano a nivel mundial, incluyendo países como Australia, Sudáfrica, España, Nueva Zelanda y Chile. El cambio climático global podría promover este problema en los próximos años hacia otras zonas productoras de manzanas del mundo. El uso de mallas sombra es la técnica más utilizada para el control del daño por sol en huertos de manzanos, tanto en países del hemisferio sur como del hemisferio norte. Sin embargo, los mecanismos que subyacen la efectividad de esta técnica en el control de golpe por sol en manzanas aún no han sido del todo comprendidos. El objetivo de la presente Investigación Doctoral fue estudiar aspectos fisiológicos y bioquímicos ligados del uso de mallas como medida para el control de daño por sol en manzanos. En una primera etapa de la investigación se estudió el efecto de las condiciones de radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y temperatura superficial del fruto (FST, $^{\circ}\text{C}$) bajo mallas de colores sobre la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (F_v/F_m) en la piel de frutos de manzanos 'Gala' y 'Fuji' creciendo en el árbol para distintos estados fenológicos desde 20 y hasta 175 días después de plena flor (DDPF), y así como también en frutos que fueron desconectados del árbol al momento de cosecha. En el cv. Gala la malla redujo la FST en 2 a 5 $^{\circ}\text{C}$, mientras que en 'Fuji' esta reducción fue de 2 a 3 $^{\circ}\text{C}$ con respecto a la condición sin malla ($P < 0.05$). La incidencia de PAR fue reducida en 27 % en 'Gala' y en 22 % en 'Fuji' con respecto al control ($P < 0.05$). Para distintos estados de crecimiento del fruto el valor promedio de F_v/F_m a pleno sol fue 12 y 3 % inferior al de bajo malla, tanto para 'Gala' como 'Fuji', respectivamente. Esta diferencia de F_v/F_m se mantuvo en frutos desconectados del árbol y fue de 13 y 8 % para 'Gala' y 'Fuji', respectivamente. En una segunda etapa de la investigación, se evaluó el efecto características de transmisión espectral de luz total; UV (350 – 400 nm), VIS (400 – 800 nm) e IR (900 – 1700 nm), radiación fotosintéticamente activa (PAR $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), ultravioleta (UV, W m^{-2}) y de temperatura superficial del fruto (FST, $^{\circ}\text{C}$) de mallas de color roja y perla sobre el contenido de fenoles totales (mg ácido gálico 100 g^{-1}), antocianinas totales (mg de cianidina-3-glucósido 100 g^{-1}) y capacidad antioxidante con diferentes métodos,

utilizando el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y del poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP) ($\mu\text{mol Trolox } 100 \text{ g}^{-1}$), en manzanas 'Gala' y 'Fuji' con cuatro categorías de daño por sol: sin daño (NB), leve (SB-1), medio leve (SB-2), moderado (SB-3) y severo (SB-4). La malla roja incrementó la proporción de luz roja (600 – 700 nm) en relación con las otras longitudes de onda del espectro PAR. Ambas mallas redujeron en 8 % la transmisión de la radiación en el espectro infra-rojo (900 – 1700 nm) significando una disminución de la FST en 4 – 5 °C. Las mallas rojas y perla redujeron en promedio en 25 y 21 % la radiación PAR y en 29 y 25 % la radiación UV, respectivamente y vs. el control. En 'Gala' la malla roja incrementó significativamente ($P < 0.05$) el contenido de antocianinas y capacidad antioxidante FRAP en frutos para la categoría de daño por sol SB-3 y SB-4. Contrariamente, en 'Fuji' la malla perla redujo significativamente ($P < 0.05$) la cantidad de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante FRAP en frutos de la categoría de daño por sol SB-4. Los resultados de esta investigación indican que la protección de daño por sol en manzanas a través de mallas estaría relacionada a la capacidad de esta técnica de reducir el proceso de foto-inhibición en la epidermis del fruto frente al exceso de radiación solar y altas temperaturas, y así como también a cambios en la composición y capacidad de antioxidantes en la piel de la fruta; esta última respuesta varía dependiendo del cultivar y color de la malla.

Palabras clave: Daño por sol, malla sombra de colores, condiciones de luz, foto-inhibición en piel de frutos, antioxidantes en piel de frutos, *Malus domestica* Borkh.

SUMMARY

The sunburn in apples is caused by excessive solar radiation and high temperatures which means, annually 25 to 100 million dollars of economic losses from the Global Apple Industry, including countries such as Australia, South Africa, Spain, New Zealand and Chile. In the coming years, the global climate change could expand this problem towards other apple producing areas of the world. The use of shade netting is the most used technique for sun damage control in apple orchards growing in countries from the southern hemisphere, as well others from northern hemisphere. However, the mechanisms behind effectiveness sunburn control in apples by this technique have not been fully understood yet. The objective of this Doctoral Research was to study physiological and biochemical aspects linked to the use of netting in sun damage control in apples. The first stage of the research conducted the effect of photosynthetically active radiation (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and fruit surface temperature (FST, $^{\circ}\text{C}$) under nets on photochemical efficiency of the photosystem II (F_v/F_m) in apple skin. This study was carried out on 'Gala' and 'Fuji' apple fruit growing at different phenological stages from 20 to 175 d after flowering (DAF), as well as on fruit picked from the trees at harvest. In Gala cultivar netting reduced the FST by 2 to 5 $^{\circ}\text{C}$, while in 'Fuji' this reduction was of 2 to 3 $^{\circ}\text{C}$ with respect to the condition without netting ($P < 0.05$). The incidence of PAR decreased by 27 % in 'Gala' and 22 % in 'Fuji' compared to the control ($P < 0.05$). On different stages of fruit growth, both cultivars showed lower average value of F_v/F_m in full sun in comparison with under netting (12 and 3 % for 'Gala' and 'Fuji' respectively). The variation in F_v/F_m retained in fruits picked from the tree (13 and 8 % for 'Gala' and 'Fuji' respectively). In the second part, the effect of light spectral transmission; UV (350 – 400 nm), VIS (400 – 800 nm) e IR (900 – 1700 nm), photosynthetically active radiation (PAR $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), ultraviolet (UV, W m^{-2}) and fruit surface temperature (FST, $^{\circ}\text{C}$) under colored nets (red and pearl) related with polyphenols, anthocyanins and antioxidant capacity were carried out. Total phenols content ($\text{mg gallic acid } 100\text{g}^{-1}$), anthocyanin content ($\text{mg cyanidin-3-glucoside } 100\text{g}^{-1}$) and antioxidant capacity were calculated by different methods, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH assay) and the ferric reducing antioxidant power (FRAP assay) ($\mu\text{mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$) in apple skin. This study was carried out in 'Gala' and 'Fuji' apples

with four categories of sun damage: non damage (NB), slight damage (SB-1), slight medium damage (SB-2), moderate damage (SB-3) and severe damage (SB-4). Red net increased the proportion of red light (600 - 700 nm) in relation with the other wavelengths of the PAR spectrum. Both nets (red and pearl) reduced by 8 % the transmission of radiation in infra-red spectrum (900 - 1700 nm) which means a decrease in FST by 4 - 5 °C. The red nets reduced 25 % of PAR radiation and 29 % of UV radiation compared to the control, while pearls nets decreased PAR and UV radiation in 21 and 25 % respectively. In 'Gala' the red net significantly increases ($P < 0.05$) anthocyanin content and antioxidant capacity FRAP in fruits for the SB-3 and SB-4 sun damage categories. Opposite, in 'Fuji' pearl net significantly reduced ($P < 0.05$) the polyphenols, anthocyanins and antioxidant capacity FRAP in fruits of SB-4 sun damage category. Results of this research indicate that protection by sun damage in apples through nets would be related to reduction of photo-inhibition process in fruit skin under excessive solar radiation and high temperatures, as well as changes in the composition and capacity of antioxidants in the peel of the fruit. This last response varies depending on cultivar and color of net.

Key words: Sunburn, colored nets, light conditions, fruit skin photo-inhibition, fruit skin antioxidants, *Malus domestica* Borkh.

I. CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL

La incidencia de daño por sol en manzanas está dada por factores fisiológicos, micro-climáticos, bioquímicos y/o moleculares, que determinan de cierta manera la efectividad de las técnicas que se emplean o se debieran emplear para su control.

1.1. Factores fisiológicos

La quemadura por sol es el daño por insolación que afecta la piel del fruto del manzano reduciendo la calidad y limitando su comercialización (Brown, 2009). Este desorden fisiológico es particularmente importante para la producción de manzanas en zonas con gran intensidad de radiación solar y alta temperatura. De hecho, se ha mencionado que la magnitud del daño tiene relación directa con la interacción de estos dos factores ambientales (Wand y Gindaba, 2005). No obstante, otros factores que actúan indirectamente pueden estar incidiendo en la generación del daño por sol en manzanas, tales como el uso de cultivares sensibles y los actuales cambios en el diseño de plantación de huertos, en cuya conformación la fruta queda muy expuesta al sol, debido a un menor desarrollo de follaje de los árboles en estos sistemas productivos (Wünsche et al., 2004).

En la manzana se han descrito tres síntomas de daño de quemadura por sol: daño de tipo necrótico, daño del tipo bronceado en la epidermis (Schrader et al., 2001), y daño por fotooxidación (Felicetti y Schrader, 2008b) (Figura 1). Bajo las condiciones climáticas de Chile se ha identificado al menos dos de estos tipos de daños, el primero causado por altas temperaturas y el segundo causado por la combinación de radiación solar y altas temperaturas (Yuri et al., 2008).

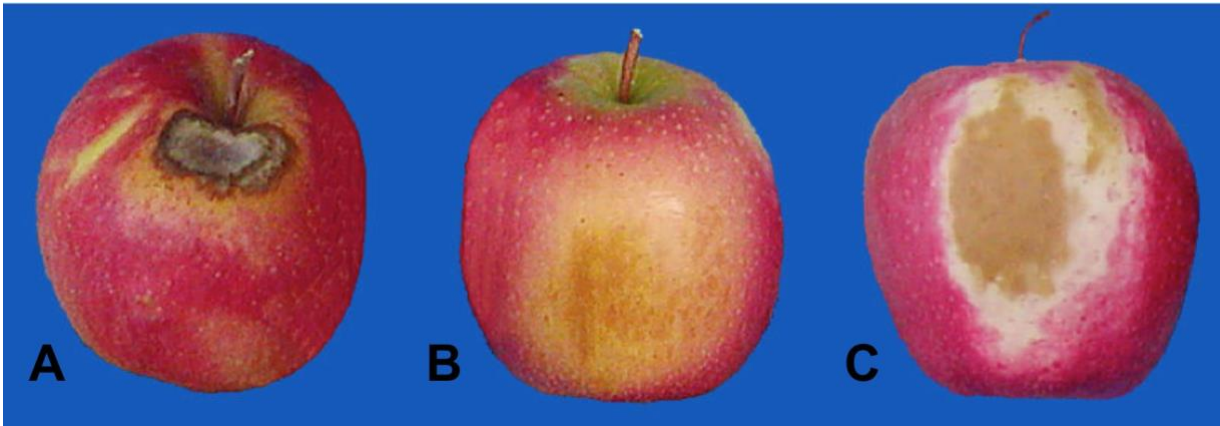


Figura 1. Síntomas de daño por sol en manzanas del tipo necrótico (A), bronceado en la epidermis (B) y foto-oxidativo (C) (Schrader et al., 2001).

1.1.1. Quemaduras por sol tipo necrótico

Son manchas necróticas de color marrón oscuro o negro que se desarrollan en la superficie de la fruta expuesta cuando la temperatura de la superficie de las manzanas alcanza valores cercanos a los 52 ± 1 °C por un periodo de 10 min (Schrader et al., 2001). Se ha observado que la gravedad de este síntoma no se incrementa después de 10, 20, o 30 minutos de exposición de la fruta a esta temperatura, pues la mayor parte del daño ocurre en tan sólo 10 min. Este tipo de quemadura puede ser inducida de forma natural con la luz del sol o inducida experimentalmente en la oscuridad a la misma temperatura de la superficie de la fruta; sólo la alta temperatura que alcanza la superficie de la manzana es la causa más importante (Schrader et al., 2003a). Las manchas necróticas de color marrón oscuro o negro aparecen en la superficie de la fruta expuesta dentro de uno a cuatro días después de la exposición a tales temperaturas y debido al colapso de las células a nivel de la epidermis y subepidermis. El daño puede ocurrir desde unos pocos milímetros a varios centímetros de profundidad en el tejido de la pulpa por debajo de la superficie de la fruta expuesta (Racsko et al., 2005b).

El desarrollo de este tipo de daño se basa en reacciones biofísicas inducidos por el estrés térmico (por ejemplo, las transiciones de fase de membranas, desnaturalización de proteínas, y lesiones metabólicas) (Schrader et al., 2001). La temperatura de la piel y de las células corticales subyacentes que exceden el límite térmico pueden conducir a una serie de efectos sobre la capacidad de recolección de

la luz del fruto, algunos de los cuales son claramente no específicos (por ejemplo, daño a la estructura celular, desnaturalización térmica de proteínas insitu y su agregación en complejos insolubles del fotosistema I (PS-I) y fotosistema II (PS-II)) (Tang et al., 2007). Estos efectos pueden dañar irreversiblemente todo el aparato fotosintético, impidiendo su funcionamiento normal. Debido a la degradación total de clorofila la capacidad fotosintética es prácticamente nula en la piel de la fruta que muestra los síntomas de quemaduras por sol con necrosis. Esto se evidencia con los altos valores de la conductividad relativa del electrolito medida en la piel de manzana con este síntoma de quemaduras por sol, lo que indica que la integridad de la membrana se ve completamente destruida (Schrader et al., 2001).

1.1.2. Quemaduras de sol tipo bronceado en la epidermis

Este tipo de sintomatología de quemadura por sol es el que se observa más frecuente en las manzanas bajo condiciones de campo. Se caracteriza por una decoloración de la piel expuesta al sol con tonalidad de color amarillo, marrón, bronce o punto oscuro. Para evaluar y describir la gravedad de este tipo de quemadura en base a la apariencia externa del tejido, se ha desarrollado un sistema de clasificación que va desde la ausencia del daño (NB) hasta quemadura severa (SB-4); Figura 2 (Schrader et al., 2005). El síntoma de quemadura por sol con bronceado en la epidermis se ha correlacionado con la disminución en la concentración de pigmentos como clorofilas, antocianinas y en el aumento en la concentración de pigmentos como carotenoides y flavonoides como glicósidos de quercetina; todos estos cambios en la piel de los frutos (Felicetti y Schrader, 2009a b).



Figura 2. Grados de quemaduras por sol en manzanas 'Fuji' (Schrader et al., 2005). NB, sin quemadura por sol; SB-1, quemadura por sol del tipo leve; SB-2, quemadura por sol del tipo leve-medio 2; SB-3, quemadura por sol del tipo moderada; SB-4, quemadura por sol del tipo severa.

Este tipo de quemadura es inducida por la alta radiación solar del tipo visible, UV y en forma combinada a altas temperaturas (Schrader et al., 2001). A diferencia de la quemadura por sol con necrosis, la quemadura por sol con bronceado en la epidermis no causa cambios estructurales graves en la epidermis y los tejidos sub-epidérmicos (Schrader et al., 2003). Debido a esto es que es considerado un daño del tipo sub-lethal. Se ha mencionado que en lugares donde la radiación ultravioleta es mayor (por ejemplo, países del hemisferio sur), la temperatura umbral para la inducción de quemadura por sol con bronceado en la epidermis puede ser menor a la normalmente requerida para inducir este tipo de daño (Schrader et al., 2001).

Importantes avances sobre mecanismos moleculares y bioquímicos de las quemaduras por sol con bronceado de la manzana se han reportado por Chen et al. (2008) y Felicetti y Schrader (2008a, 2009a b). Reducciones significativas en el contenido de clorofila total y un aumento de la relación de la clorofila a/b en la fruta ha sido relacionado con las quemaduras por sol con bronceado en la epidermis (Merzlyak et al., 2002). Chen et al. (2008) indicaron una disminución en la cantidad del complejo de recolección de la luz del PS-II (LHC II) que contiene la mayor parte de la clorofila b, en manzanas con daño por sol. En comparación con la fruta sin daños, la fruta con quemadura por sol del tipo bronceado en la epidermis mostró una reducción significativa en la fotosíntesis y fluorescencia de la clorofila (Chen et al., 2008).

Las altas temperaturas que alcanza la piel de la manzana y en las que se produce este tipo de quemadura pueden afectar preferentemente la donación de electrones de la fotosíntesis al centro de reacción del PS-II, lo que lleva a la acumulación de

moléculas de clorofila al centro de reacción, que pueden dañar finalmente el PS-II (Chen et al., 2008). Se ha registrado un rápido descenso de la máxima eficiencia cuántica fotoquímica del fotosistema II (F_v/F_m) en manzanas luego de un día después de un tratamiento térmico de 12 horas a temperatura de 46 °C (Song et al., 2001). Además, los valores F_v/F_m disminuyeron exponencialmente al aumentar la severidad de los síntomas de la quemadura de sol en los frutos (Seo et al., 2008).

Wand et al. (2008b) hicieron una comparación detallada de la sensibilidad al calor del aparato fotosintético entre cultivares de manzanas. Ellos encontraron que cuando la temperatura de la superficie de la fruta alcanza valores de hasta 38 °C el valor de F_v/F_m se mantuvo alto (> 0.7) con capacidad de recuperación de la funcionalidad total del PS-II. Sin embargo, cuando se aplicaron temperaturas de la superficie de la fruta de 42 - 43 °C, la F_v/F_m se redujo significativamente después de 2 a 4 horas, sin capacidad de recuperación al cabo de 6 a 8 horas. En este estudio se logró identificar que la temperatura umbral de la superficie de la fruta que induce una pérdida de la funcionalidad del PS-II fue de 45 - 47 °C y en cuyo caso los valores de F_v/F_m fueron inferiores a 0,2. Es importante destacar que en cultivares altamente sensibles al daño por sol como 'Fuji' se encontró una pérdida total de la funcionalidad del PS-II después de 4 horas de exposición de la fruta a esa misma temperatura (Wand et al., 2008b).

1.1.3. Quemadura por sol del tipo fotooxidación

Felicetti y Schrader (2008b) caracterizaron un tercer tipo de quemadura por sol en la manzana. En cultivares Gala y Fuji ellos observaron un síntoma de quemadura diferente a las quemaduras por sol con necrosis y bronceado en términos de apariencia y en las condiciones específicas para su inducción. Este tipo de daño es mencionado como daño foto-oxidativo en referencia al mecanismo involucrado durante su formación. El primer síntoma es una mancha blanca que se origina cuando los frutos son expuestos en forma repentina a la luz solar. Este fenómeno es común en manzanas que hayan crecido cubiertas por las hojas u otras frutas dentro de un grupo o incluso situado en el interior del dosel no están aclimatadas a alta luz del sol. La exposición repentina puede ocurrir después de la cosecha selectiva (floreo), después de la poda de verano, o incluso después de dejar al descubierto manzanas cosechadas

en los contenedores antes o durante el transporte al lugar de acondicionamiento (Schrader et al., 2003a).

El síntoma inicial del daño foto-oxidativo se puede desarrollar con temperaturas de la superficie de la fruta por debajo de los 31 °C y pueden detectarse dentro de las 24 horas de exposición a la radiación solar y cuyo síntoma se inicia con un blanqueo de la superficie de la fruta expuesta. A diferencia de los otros tipos de daños, el grado de daño foto-oxidativo no está correlacionado con la máxima temperatura de la superficie de la fruta o la diferencia térmica entre la fruta y el aire, por lo que se descarta a la temperatura como factor principal en la formación del síntoma asociado a este tipo de daño (Felicetti y Schrader, 2008b).

El daño fotooxidativo ocurre cuando el exceso de energía de excitación sobrepasa la capacidad de la manzana para la disipación térmica y el sistema antioxidante (Bertamini et al., 2004). En casos severos donde el daño inicial es irreparable, se manifiesta en forma de quemadura solar, que es evidente como el blanqueamiento dependiente de oxígeno y luz de los pigmentos de las manzanas, y aquí se define como quemadura solar foto-oxidativa (Felicetti y Schrader, 2008b).

La fruta que se desarrolla a la sombra tiene una mayor capacidad de captación de luz por la clorofila, que la capacidad para el transporte de electrones y el uso de energía en la asimilación de carbono (Blanke y Lenz, 1989). Debido a ello este tipo de frutos en general, tienen una menor capacidad de disipación de la energía “*quenching*” en forma no fotoquímica para protegerse de los efectos adversos de la alta intensidad de la luz. Por lo anterior, estos frutos disipan de manera segura el exceso de energía de excitación como calor, ayudando a regular y proteger la fotosíntesis en ambientes donde la absorción de energía de la luz excede su capacidad de utilización y en correlación con las actividades más bajas de disipación de energía dependiente del ciclo xantofila (Ma y Cheng, 2003). Es probable que la antena más grande del PS II se centre en la fruta de sombra y hará que estos centros sean más vulnerables al exceso de fotones con luz brillante debido a la presunta transferencia de excitación más efectiva entre la antena y los centros de reacción. Estas diferencias pueden explicar por qué las manzanas cultivadas a la sombra son mucho más sensibles a la exposición solar directa y, por lo tanto, a la quemadura de sol del tipo foto-oxidativa (Merzlyak et

al., 2002). Merzlyak et al. (2002, 2008) pudieron inducir quemaduras solares foto-oxidativas en manzanas desprendidas que no se seleccionaron específicamente como cultivadas a la sombra (es decir, supuestamente cultivadas al sol). Sin embargo, indujeron el trastorno a una densidad de flujo de fotones fotosintéticos muy alta ($2.500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), lo que sugiere que la aclimatación de la manzana a la exposición al sol puede ser más importante que las condiciones de crecimiento (es decir, cultivadas al sol o de sombra) A menudo se enfatiza la ocurrencia de quemadura solar foto-oxidativa en la fruta de sombra bajo condiciones de campo (a un nivel PPFD máximo dado) las manzanas cultivadas al sol (es decir, aclimatadas) no pueden dañarse por quemaduras solares foto-oxidativas debido a las fluctuaciones diurnas o diarias de la fotosíntesis, la densidad del flujo de fotones no puede superar el nivel de aclimatación de la luz de la fruta (Merzlyak y Chivkunova, 2000).

1.2. Factores micro-climáticos

1.2.1 Temperatura

La temperatura del aire y/o la temperatura de la superficie del fruto se han identificado directamente con la incidencia de daño por el sol en la fruta (Holmes et al., 2009). Schrader et al. (2003b) encontraron que la temperatura máxima del aire estaba más correlacionada con la temperatura máxima de la superficie de la fruta que la radiación solar, la humedad relativa o la velocidad del viento. De hecho, la temperatura máxima de la superficie del fruto estaba altamente correlacionada ($R = 0.90$, $P \leq 0.01$) con la temperatura máxima diaria del aire Se reporta que la temperatura de la superficie de la fruta excedió la temperatura del aire ($5 - 15 \text{ }^\circ\text{C}$) y consideraron que la temperatura de la superficie del fruto esta más relacionada con la inducción de quemaduras del tipo bronceado en la epidermis y necrosis (Schrader et al., 2008).

Ferguson et al. (1999) observaron síntomas de quemaduras por sol cuando la temperatura de la pulpa excedió los $40 \text{ }^\circ\text{C}$ en Nueva Zelanda. Descubrieron que las altas temperaturas de la pulpa del fruto en campo son comunes a diario y no están necesariamente asociadas con eventos meteorológicos extremos (Ferguson et al., 1998).

Yuri et al. (2004) sostienen que la alta temperatura, en lugar de la exposición a la luz, es el principal factor causante de daños por sol en las manzanas en Chile. Debido a que en sus investigaciones obtuvieron los siguientes resultados: los frutos desprendidos desde el árbol desarrollaron síntomas graves de quemaduras por sol durante unas cuantas horas de irradiación, mientras que la fruta en la planta estaba sin daños. Este autor atribuye los daños graves en la fruta desprendida del árbol a la ausencia de transpiración en ellos, lo que ocasionó una alta temperatura en la superficie de la fruta. Aunque en este caso se reportó que el síntoma de la quemadura por sol puede desarrollarse en condiciones de alta temperatura de la superficie de la fruta, o incluso sin luz solar directa, este supuesto no se puede generalizar, ya que es válido sólo para el tipo de daño que implica necrosis. Los otros tipos de daño por sol como bronceado en la epidermis o a nivel foto-oxidativo necesitan de la presencia de luz solar directa para desarrollar los síntomas anteriormente descritos.

1.2.2 Radiación solar

También se ha informado que la exposición al exceso de luz solar es el factor más importante que causa quemaduras solares en las manzanas (Van den Ende, 1999) a través de reacciones principalmente fotoquímicas; sin embargo, algunos se refieren a la luz del sol como fuente de calor primaria solamente (es decir, causan daños que son de naturaleza física) para la formación de quemaduras solares (Kays, 1999). En la generación de daño por sol en la fruta participan tres componentes de la radiación solar: luz ultravioleta (UV, 280 - 400 nm), luz visible (PAR, 400 - 700 nm) y luz infrarroja (IR, >740 nm). Los fotones UV-B (280 - 320 nm) tienen la más alta energía del espectro de la luz del día y tienen el potencial de dañar las macromoléculas, incluyendo el ADN (Jenkins, 2009). Debido a lo anterior, se ha sostenido que además de un cierto umbral de temperatura de la superficie de la fruta se cree que la radiación UV-B (280 - 320 nm) participa en la inducción de quemadura por sol que involucra bronceado en la epidermis (Schrader et al., 2001).

Sin embargo, se ha mencionado que la radiación solar en el rango visible (PAR) presenta una mayor participación en la inducción de daño por quemadura por sol a nivel foto-oxidativo en comparación a la radiación UV (Felicetti y Schrader, 2008b). Los mismos autores mencionan que en el caso de radiación infra-roja, ésta es poco

energética por lo que solo participa en el calentamiento del tejido vegetal, pero no se considera un factor crítico en la inducción de la quemadura por sol del tipo foto-oxidativo. La absorbancia por parte del fruto de radiación en el espectro infrarrojo no ha sido bien entendida y podría estar relacionada tanto a la forma, como al tamaño de la célula, así como también a la cantidad de espacio intercelular y contenido de agua de los tejidos vegetales (Barber y Sharpe, 1971). La banda roja lejana interactúa con la planta a través del sistema complejo del fitocromo, pero no existe evidencia del mecanismo involucrado en la muerte celular por efecto de la radiación infrarroja y de la participación del sistema fitocromo en la epidermis de la manzana (Felicetti y Schrader, 2008b).

1.2.3 Humedad Relativa

La influencia de la baja humedad relativa se considera que es un factor importante en la inducción indirecta a las quemaduras solares, pero se debe de asociar con los factores de la radiación y temperatura (Racsco y Schrader, 2012). Schrader et al. (2003b) informaron que, a lo largo de la temporada, la temperatura máxima de la superficie de la fruta se correlacionó inversamente ($R = -0,66$, $P \leq 0,01$) con la humedad relativa media entre 11:00 y 17:00 horas en el Estado de Washington. Esto fue consistente con sus observaciones anteriores de que los manzanos en condiciones de estrés hídrico son más susceptibles a las quemaduras por sol.

Aunque se cree que la transpiración de la fruta es muy baja, la baja humedad relativa aumenta la tensión en el árbol y se cree que también aumenta el estrés en la fruta. Las condiciones de baja humedad relativa, cuando se asocian con altas temperaturas, también fueron reportadas por otros (Gonda et al., 2006) para favorecer las quemaduras por sol en las manzanas. Zhang et al. (2007) encontraron que, independientemente de las temperaturas a las que se sometiera la fruta, una humedad relativa alta era favorable para estimular un componente de membrana, la actividad 5'-nucleotidasa y la reducción del daño por quemaduras por sol. Especulan que esto podría explicar en parte por qué la quema de frutas se reduce en climas húmedos. Aun así, este factor es menos importante en la inducción de quemaduras por sol en

manzanas y cuando se compara en relación con la radiación o a la temperatura (Racsco y Schrader, 2012).

1.2.4 Movimiento de aire (velocidad del viento)

El efecto del viento sobre la disminución en la temperatura de la fruta ha sido reportado. Cuando aumenta el movimiento de aire sobre la superficie de la fruta, la capa límite alrededor del fruto es perturbada y la refrigeración por convección se convierte en un componente importante en la disminución de la temperatura del fruto. En un modelo de Thorpe (1974) se menciona que las temperaturas de la superficie de la fruta de manzana, mostró que un aumento de la velocidad del viento de 0,3 a 4,0 m.s⁻¹ dio lugar a un descenso de la temperatura de 5 °C en la superficie de la fruta.

Van den Ende (1999) afirmó que la cantidad de circulación de aire alrededor de los árboles es uno de los factores importantes que reduce el riesgo de daños por quemaduras por sol; la dirección del viento es de menor importancia a este sentido. Wilton (1994) mencionó que los molinos de viento de protección contra las heladas, al crear movimiento de aire en días calurosos y tranquilos durante el verano, también pueden reducir las quemaduras por sol. El daño por quemadura por sol también fue muy influenciado por la velocidad del viento en los experimentos de Bergh et al. (1980) en Sudáfrica, donde una ligera circulación de aire causó diferencias en la temperatura de la superficie de la fruta de más de 4 °C. Schrader et al. (2003b) encontraron que la velocidad del viento estaba correlacionada negativamente ($R = -0.24$, $P \leq 0.01$) con la temperatura de la superficie de la fruta entre 11:00 y 17:00 horas en el estado de Washington.

1.3 Factores bioquímicos

1.3.1 Actividad enzimática

Johnson et al. (1999) sugieren que existe una estrecha relación entre el incremento de compuestos antioxidantes y el desarrollo de quemadura por sol en manzanas. En la piel de las manzanas creciendo a la sombra, y con posterior y repentina exposición al sol, se ha observado un incremento importante de enzimas que participan en el complejo antioxidante de la fruta (Ma y Cheng, 2004). El aumento de

la actividad en estas enzimas antioxidantes descendentes del ciclo ascorbato-glutati6n es consistente con la idea de la transferencia directa de electrones desde el centro de reacci6n PS-I al PS-II. Entre las enzimas antioxidantes examinadas por Ma y Cheng (2004) se encuentra super6xido dismutasa (SOD). Los cambios en la actividad de la SOD durante el desarrollo de quemadura por sol en manzanas parecen ser espec6fico a cada cultivar. Esta enzima no mostr6 ninguna respuesta a la exposici6n de la fruta a pleno sol cuando fue estudiado en manzanas 'Gala', mientras que si se encontr6 una mayor actividad de esta enzima en manzanas quemadas por el sol del tipo de da1o foto-oxidativo y del tipo bronceado para manzanas 'Fuji' y 'Granny Smith' (Hao y Huang, 2004).

Adem6s de la SOD tambi6n se ha observado un aumento en la actividad de las enzimas polifenoloxidasa y peroxidasa. Bajo las condiciones clim6ticas de Chile, Yuri et al. (2000a) informaron una mayor actividad de polifenoloxidasa y peroxidasa en el lado expuesto de manzanas 'Granny Smith' en comparaci6n con el lado sombreado de los mismos frutos. El hecho de que la piel con da1o por quemadura por sol del tipo bronceado tuvo mayores concentraciones de per6xido de hidr6geno (H_2O_2) y malondialdeh6do indica que el sistema antioxidante no es capaz de hacer frente a la fotooxidaci6n provocada por alta temperatura junto con la exposici6n a la radiaci6n UV-B y que se encuentra involucrada en el s6ntoma de da1o por quemadura por sol en la fruta (Chen et al., 2008).

1.3.2 Acumulaci6n de pigmentos o metabolitos

La acumulaci6n de pigmentos en la piel de la manzana posee dos funciones principales; primero, la protecci6n al exceso de radiaci6n PAR y UV-B (280 – 320 nm); y, en segundo lugar, un papel similar al de las enzimas con capacidad antioxidante, las cuales inhiben o retrasan la oxidaci6n de las mol6culas mediante la inhibici6n de la iniciaci6n o propagaci6n de la oxidaci6n en reacciones en cadena (Velioglu et al., 1998). En la piel de la manzana con s6ntomas de quemadura por sol, los compuestos fen6licos complementan de alguna manera esta funci6n y se pueden agrupar en antocianinas, flavonoles y 6cidos fen6licos (Hall y Cuppett, 1997).

Los compuestos que protegen contra el exceso de cantidad de luz visible en las manzanas incluyen flavonoides (antocianinas), mientras que principalmente

flavonoides y ácidos fenólicos juegan un papel importante en la protección contra el daño solar por la radiación UV-B (Solovchenko y Merzlyak, 2008). Por otra parte, los pigmentos de carotenoides tales como β -caroteno, además de proporcionar precursores para el ciclo de la xantofila, también pueden cumplir una función fotoprotectora (Rice-Evans et al., 1997). En la piel de la manzana el pigmento cianidina 3-galactósido es la principal antocianina. El color rojo de las manzanas es atribuible al contenido cianidina 3-galactósido, en copigmentación con flavonoles y protoantocianinas (Lancaster et al., 1994). Los espectros de absorción para las antocianidinas y las antocianinas se encuentran en la banda de onda corta (alrededor de 280 nm), así como también en la longitud de onda azul-verde del espectro visible (Miyazawa et al., 1999) y también en la banda de absorción de onda larga entre 500 – 580 nm, la antocianina responsable de la coloración roja de la manzana se encuentra cerca de los 525 nm (Gould et al., 2002).

El papel fotoprotector de las antocianinas en las manzanas ha sido cuestionado (Ma y Cheng, 2004). Merzlyak et al. (2008) encontraron un efecto de este pigmento sobre la fluorescencia de clorofila y por lo tanto una función en la fotoprotección directa de la molécula de la clorofila. Por otra parte, las antocianinas, independientemente de su absorción en la región UV-B, son capaces de proporcionar fotoprotección en esta región espectral cuando se acumulan en cantidades elevadas (Solovchenko y Schmitz-Eiberger, 2003).

En general, una exposición de la fruta al sol moderadamente alta (menor a 40 °C) durante el día y a bajas temperaturas durante la noche favorece la acumulación antocianinas (Merzlyak et al., 2002). Se ha observado que la concentración de antocianinas es mayor en el lado expuesto al sol de las manzanas (Felicetti y Schrader, 2009b), lo que demuestra un rol fotoprotector. Como ya se mencionó esta mayor presencia de antocianinas en el lado expuesto de la piel de la manzana otorgaría una mayor resistencia de la clorofila a la degradación durante el proceso foto-oxidativo que se desencadena en el daño por quemadura por sol en la fruta (Merzlyak et al., 2002). Sin embargo, una vez que se forman los síntomas de la quemadura por sol a nivel foto-oxidativo o la quemadura por sol con necrosis, el contenido de antocianinas en la piel no es detectable debido a la degradación térmica, siendo responsable de la

disminución de las antocianinas en la piel del fruto de la manzana con estos daños (Yamasaki et al., 2006).

Los flavonoides (antocianinas) representan una clase de metabolitos secundarios que son sintetizadas en las manzanas en respuesta a una variedad de estímulos ambientales, incluyendo también la generación de daño por sol. En la piel de la manzana las antocianinas se encuentran generalmente presentes como cianidina 3-galactosa (Awad et al., 2000). Los flavonoides se dividen en proantocianidinas, flavonoles y antocianidinas, en función de sus máximos de absorción. Las proantocianidinas tienen un máximo de absorción de 275 a 290 nm, los flavonoles tienen máximos de 250 a 270 nm y de 350 a 390 nm, las antocianidinas tienen un máximo de 270 a 280 nm y de 475 a 560 nm (Lunte S.M., 1987).

En un estudio en que se comparó el espectro de absorción del lado expuesto y sombreado de manzanas sugiere que los flavonoides acumulados en cantidades muy altas en la piel de manzanas expuestas al sol sirven también como mecanismo de protección en longitudes de onda más largas que la UV, incluyendo el rango visible y cercano a los 400 a 430 nm (Merzlyak et al., 2002). Existe consenso en que una alta intensidad de la luz solar induce la síntesis de flavonoides (Hao et al., 2004). Por lo tanto, la concentración de flavonoides es generalmente más alta en el lado expuesto al sol de las manzanas que en el lado de sombra (Merzlyak et al., 2002); aunque el aumento de la síntesis de flavonoides se considera principalmente como una respuesta para reducir la penetración de la radiación UV-B (Bornman y Teramura, 1993).

La acumulación de flavonoides se ha observado durante el desarrollo de síntomas de quemadura por sol que se caracteriza con un bronceado en la epidermis (Felicetti y Schrader, 2009b). Felicetti y Schrader (2008a) encontraron un aumento notable en la concentración en estos metabolitos al aumentar la severidad de daño. Esto puede indicar que el contenido de estos compuestos está directamente con el nivel de radiación solar y el que se eleva considerablemente en la medida que el fruto crece expuesto al sol, siempre y cuando las temperaturas de la epidermis no superen los 40 °C.

1.4. Medidas para el manejo del daño por sol

Las distintas medidas implican intervenciones tecnológicas que tienen como objetivo reducir los efectos adversos del exceso de radiación solar y dando origen a un microclima más benigno alrededor de fruta en términos de temperaturas. Sobre esta base las técnicas más comúnmente utilizadas a nivel de huertos de manzanos corresponden a las siguientes:

1.4.1 Enfriamiento por evaporación

Este método consiste en la aplicación aérea de agua sobre los árboles con el fin de reducir la temperatura en la epidermis de los frutos. Este efecto se logra a través de la evaporación del agua de la superficie del fruto debido a su alta demanda de calor por evaporación (2,43 MJ/kg) (Evans et al., 1995). La reducción de la temperatura de la superficie de la fruta por enfriamiento evaporativo ha demostrado reducir efectivamente la incidencia de daño por sol del tipo bronceado y necrótico (Carbó et al., 2005). Sin embargo, aunque el método es efectivo en la reducción de la temperatura de la superficie de la fruta de manzanas, no reduce la radiación UV perjudicial; radiación que igualmente genera daño incluso cuando se utiliza el enfriamiento por evaporación. Se ha determinado que el método de enfriamiento por evaporación reduce la temperatura de la superficie de la fruta de manzana hasta 8.5 °C (Van den Dool, 2006). Pese a sus beneficios el uso del sistema de enfriamiento evaporativo tiene un alto costo de instalación, requerimientos de agua, energéticos y de mantención. La falla del sistema de enfriamiento por evaporación en un solo día puede significar en una pérdida importante de fruta por quemadura de sol, frente a altas temperaturas del aire (Gindaba y varita, 2005). Además, la calidad del agua de riego utilizada debe estar libre de impurezas, similar al agua potable, para evitar la acumulación de carbonatos de calcio y magnesio en la superficie de la fruta, afectando su calidad cosmética y de inocuidad (Kotze et al., 1988; Yuri et al., 2000a).

1.4.2 Embolsado de fruta

Esta técnica permite proteger físicamente a las manzanas del exceso de radiación solar, muy asociada a quemadura por sol del tipo de bronceado y foto-oxidativo. Debido a que la quemadura por sol con necrosis puede ocurrir después de la exposición a un calor excesivo y sin la presencia de luz, el incremento de la temperatura al interior de la bolsa, que a veces se produce durante los días calurosos de verano, puede causar igualmente graves daños a la fruta (Gao et al., 2002). Por otra parte, la selección del tipo de bolsa (color y material) y el momento en que es colocada y retirada la bolsa del fruto son aspectos claves para el éxito del manejo de daño por sol con esta técnica, lo que a la larga encarece los costos de su utilización (Hao et al., 2008).

1.4.3 Supresores

Los materiales que se pulverizan sobre la fruta para suprimir el daño por quemadura por sol en la manzana son llamados supresores. Existen películas de partículas blancas que actúan como pantallas inorgánicas y que bloquean, reflejan y dispersan la radiación solar (Antoniou et al., 2008). Una segunda clase de supresor es un agente químico-orgánico con capacidad de absorción de la intensidad de la radiación UV de alta energía. En este tipo se encuentran las láminas de partículas en base a caolín o carbonato de calcio (Hanrahan et al., 2009). Estas láminas forman una cubierta blanca, altamente reflectante en la superficie de la fruta que aumenta la reflexión de la radiación solar, un aspecto clave en la reducción de la incidencia de daño por sol (Puterka, 2005). El inconveniente de la utilización de esta técnica en manzanas es la dificultad de eliminar completamente los residuos de estas partículas de las zonas del extremo del pedicelo y cáliz de la fruta (Hanrahan et al., 2009).

1.4.4 Protectores químicos

Estos protectores incluyen ciertos agentes de origen natural que se pulverizan en los árboles. El concepto detrás de esta técnica es aumentar la concentración de metabolitos en la fruta y mejorar la capacidad de esta para evitar el daño por estrés térmico u oxidativo, incluyendo anti-transpirantes (i.a. poli-1-P menteno, se ha utilizado como protector solar), ácido abscísico, ácido ascórbico y los tocoferoles (Andrews et

al., 1999). Aunque el ácido ascórbico ha mostrado cierta eficiencia para el control de daño por sol en algunos cultivares de manzana, la cantidad sugerida, la frecuencia de las aplicaciones y su precio hacen que sea una técnica poco viable en huertos de manzanos (Andrews et al., 1999).

1.4.5 Mallas

El uso de mallas es la herramienta que más se ha difundido en la actualidad en huertos de manzanos para el control de daño por sol en manzanos, debido a que además ofrece la posibilidad de ser aprovechada con otros propósitos tales como el control de daño por granizos y viento, además del control de plagas (Mupambi et al., 2018). Para el caso de control de daño por sol, el objetivo es generar sombra sobre la copa de los árboles con el propósito de reducir la radiación solar incidente y con ello la temperatura de la superficie de la fruta. El color y la densidad de la malla afectan de manera significativa la eficacia de esta técnica para el control de quemadura por sol en frutos. Blanke (2009) encontró que la transmisión de la luz del sol a través de malla transparente (color cristalino) fue de un 95 %, mientras que con malla negra fue de 78 %. Además de una reducción en la radiación solar incidente transmitida, el espectro de la luz transmitida también fue alterado. Por ejemplo, las mallas de color verde y rojo transmiten 3 % más de luz verde y roja, respectivamente, sin alterar la relación de actividad de fitocromo del tipo luz roja y roja - lejana (Solomakhin y Blanke, 2010).

Amarante et al. (2011) informaron de una reducción de la radiación fotosintética (PAR) del orden de 18% bajo malla de color blanco. Esta malla fue efectiva para reducir daño por sol en cultivares como 'Gala', pero insuficiente para mitigar el daño en cultivares más susceptibles como 'Fuji'. Dussi et al. (2005) informaron que una reducción de la transmisión de la radiación solar de 15 % bajo mallas no resulta ser eficaz para prevenir daño por sol en manzanas 'Fuji'; en este estudio se demostró además que para lograr un 100% de efectividad en el control de daño por sol, se requiere del uso de mallas con capacidad de reducir la radiación en un 55 %, pero consecuencias muy negativas para la producción y calidad de fruta, por el excesivo sombreado. Además, debido a la considerable reducción en los niveles de radiación solar bajo malla sombra se puede afectar negativamente procesos como la fotosíntesis

(Gindaba y Wand, 2007). De igual manera, la reducción en la acumulación de antocianinas, es decir, el desarrollo de color rojo, bajo mallas sombra es un problema comúnmente reportado en cultivares rojos y bicolors (Solomakhin y Blanke, 2010). La firmeza y la concentración de sólidos solubles son generalmente más bajas en frutos bajo mallas sombra (Gindaba y Wand, 2008; Solomakhin y Blanke, 2010).

1.5. Hipótesis

Los frutos de manzanos poseen mecanismos fisiológicos y bioquímicos de protección natural al daño por sol, incluyendo cambios en la eficiencia fotosintética y de composición y actividad de compuestos antioxidantes en la piel de los frutos (Racsco y Schrader, 2012). El uso de mallas es la técnica más difundida a la fecha para la protección de daño por sol en manzanas, pero los aspectos fisiológicos o bioquímicos que determinan su efectividad no han sido del todo comprendidos (Mupambi et al., 2018).

La presente investigación propone que el uso de mallas en huertos de manzanos afecta la eficiencia fotosintética y la composición y actividad de compuestos antioxidantes en la piel de los frutos, lo que determina la efectividad de esta técnica como herramienta para el control de daño por sol.

1.6. Objetivos

1.6.1. Objetivo General

Estudiar aspectos fisiológicos y bioquímicos relacionados con la efectividad de la malla como técnica para prevenir el daño por sol en manzanas.

1.6.2. Objetivos específicos

Cuantificar cambios en la eficiencia fotoquímica del fotosistema II en frutos expuestos a diferentes condiciones micro-climáticas bajo malla y como indicador del grado de susceptibilidad de la manzana al daño por sol.

Estimar variaciones en la capacidad antioxidante, concentración de polifenoles y antocianinas en manzanas cubiertas con mallas y con relación a distintos niveles de daño por sol en la fruta.



1.7. Referencias

- Amarante, C. V. T., Steffens, C. A., y Argenta, L. C. 2011. Yield and fruit quality of 'Gala' and 'Fuji' apple trees protected by white anti-hail net. *Scientia Horticulturae* 129: 79 – 85.
- Andrews, P.K., y Johnson, J.R., 1996. Physiology of sunburn development in apples. *Good Fruit Grower* 47: 33 – 36.
- Antoniou, C., Kosmadaki, M. G., Stratigos, A. J., y Katsambas, A. D. 2008. Sunscreens – What's important to know. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 22: 1110 – 1119.
- Awad, M. A., de Jager, A., y Van Westing, L. M. 2000. Flavonoid and chloro-genic acid levels in apple fruit: characterization of variation. *Scientia Horticulturae* 83: 249 – 263.
- Barber, H.N. y Sharpe, P.J.H. 1971. Genetics and physiology of sunscald of fruits. *Postharvest Biology and Technology* 8: 171 – 175.
- Bergh, O., Franken, J., van Zyl, E. J., Kloppers, F., y Dempers, A. 1980. Sunburn on apples—preliminary results of an investigation conducted during the 1978/79 season. *Deciduous Fruit Grower* 30: 8 – 22.
- Bertamini, M., Mutchuchelian, K., and Nedunchenzhian, N. 2004. Photoinhibition of photosynthesis in sun and shade grown leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Photosynthetica* 42: 7 – 14.
- Blanke, M. M. 2009. The structure of coloured hair nets affects light transmission, light spectrum, phytochrome and apple fruit colouration. *Acta Horticulturae* 817: 177 – 184.
- Bornman, J. F., y Teramura, A. H. 1993. Effects of ultraviolet-B radiation on terrestrial plants. In: *Environmental UV-Photobiology* 427 – 471.
- Brown, G. 2009. Minimising sunburn damage of fruit. *Australian Fruitgrower* 31: 14 – 18.
- Carbó, J., Casals, M., Iglesias, I., Pagés, J. M., y Bonany, J. 2005. Sunburn of apples: causes and control. *Fructicultura Profesional* 153: 4 – 10.

- Chen, L. S., Li, P., y Cheng, L. 2008. Effects of high temperature coupled with high light on the balance between photooxidation and photoprotection in the sun-exposed peel of apple. *Planta* 228: 745 – 756.
- Dussi, M. C., Giardina, G., Sosa, D., Gonzalez Junyent, R., Zecca, A., y Reeb, P. 2005. Shade nets effect on canopy light distribution and quality of fruit and spur leaf on apple cv. 'Fuji'. *Spanish Journal of Agricultural Research* 3: 253 – 260.
- Evans, R. G., Kroeger, M. W., y Mahan, M. O. 1995. Evaporative cooling of apples by overtree sprinkling. *The Journal of Applied Horticulture* 11: 93 – 99.
- Felicetti, D. A. y Schrader, L. E. 2008a. Changes in pigment concentrations associated with the degree of sunburn browning of 'Fuji' apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133: 27 – 34.
- Felicetti, D. A. y Schrader, L. E. 2008b. Photooxidative sunburn of apples: Characterization of a third type of apple sunburn. *International Journal of Fruit Science* 8(3): 160 – 172.
- Felicetti, D. A. y Schrader, L. E. 2009a. Changes in pigment concentrations associated with sunburn browning of five apple cultivars. I. Chlorophylls and carotenoids. *Plant Science* 176: 78 – 83.
- Felicetti, D. A. y Schrader, L. E. 2009b. Changes in pigment concentrations associated with sunburn browning of five apple cultivars. II. Phenolics. *Plant Science* 176: 84 – 89.
- Ferguson, I. B., Snelgar, W., Lay Yee, M., Watkins, C. B., and Bowen, J. H. 1998. Expression of heat shock protein genes in apple fruit in the field. *Austral. Journal of Plant Physiology* 25: 155 – 163.
- Ferguson, I. B., Volz, R., y Woolf, A. 1999. Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. *Postharvest Biology and Technology* 15: 255 – 262.
- Gao, K-J., Wen, J-H., Li, X-R., Xu, H-L., y Lu, W-D. 2002. The problems of bagging of variety Fuji and its use. *China Fruits* 5: 52 – 61.
- Gindaba, J. y Wand, S.J.E. 2005. Comparative effects of evaporative cooling, kaolin particle film, and shade net on sunburn and fruit quality in apples. *Horticulture Science* 40 : 592 – 596.

- Gindaba, J. y Wand, S.J.E. 2007. Do fruit sunburn control measures affect leaf photosynthetic rate and stomatal conductance in 'Royal Gala' apple? *Environmental and Experimental Botany* 59: 160 – 165.
- Gindaba, J. y Wand, S.J.E. 2008. Comparison of climate ameliorating measures to control sunburn on 'Fuji' apples. *Acta Horticulturae* 772: 59 – 64.
- Gonda, I., Lakatos, L., Rakonczas, N., y Holb, I. 2006. The effect of summer pruning on solar radiation conditions in apple orchards. *International Journal of Fruit Science* 12: 87 – 91.
- Gould, K. S., McKelvie, L., y Markham, K. R. 2002. Do anthocyanins function as antioxidants in leaves Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury. *Plant, Cell and Environment* 25: 1261 – 1269.
- Hall, C. A. y Cuppett, S. L. 1997. Structure-activities of natural antioxidants. In: *Antioxidant Methodology In Vivo and In Vitro Concepts*. American Oil Chemists' Society 2 – 29.
- Hanrahan, I., Schmidt, T. R., y McFerson, J. 2009. Comparison of commercial sunburn protection products. *Horticulture Science* 44: 1084 – 1085.
- Hao, Y-Y. y Huang, W-D. 2004. Changes in antioxidative system and cell ultrastructure in the fruit peels of apple during sunburn development. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* 30: 19 – 26.
- Hao, Y-Y., Huang, W-D., y Zhang, W-H. 2008. Studies on changes in phenolics in the apple fruit peel in response to light intensity. *Agricultural Sciences in China* 3: 108 – 115.
- Hao, Y., Y. Wang, X. Mei, X. Huang, X. Cui, X. Zhou, and H. Niu. 2004. CO₂, H₂O and energy exchange of an Inner Mongolia steppe ecosystem during a dry and wet year. *Acta Oecologica* 33: 133 – 143.
- Holmes, R., Crisera, M., y Brown, G. 2009. Harvest and postharvest options for heat-affected apples and pears. *Australian Fruitgrower* 3(2): 8 – 10.
- Jenkins, G. I. 2009. Signal transduction in responses to UV-B radiation. *Annual Review of Plant Biology* 60: 407 – 431.
- Johnson, J. R., Fahy, D., Gish, N., y Andrews, P. K. 1999. Influence of ascorbic acid sprays on apple sunburn. *Good Fruit Grower* 50: 81 – 83.

- Kays, S. J. 1999. Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biology and Technology* 15: 233 – 247.
- Kotze, W.A.G., Carreira, J. A., Beukes, O., y Redelinghuys, A. U. 1988. Effect of evaporative cooling on the growth, yield and fruit quality of apples. *Deciduous Fruit Grower* 38: 20 – 24.
- Lancaster, J. E. Grant, J. E., Lister, C. E., y Taylor, M. C. 1994. Skin color in apples—Influence of co-pigmentation and plastid pigments on shade and darkness of red color in five genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 119: 63 – 69.
- Lunte, S. M. 1987. Structural classification of flavonoids in beverages using liquid chromatography with UV and electrochemical detection. *Journal Chromatography*. 384: 371 – 382.
- Ma, F. y Cheng, L. 2004. Exposure of the shaded side of apple fruit to full sun leads to up-regulation of both the xanthophylls cycle and the ascorbate-glutathione cycle. *Plant Science* 166: 1479 – 1486.
- Ma, F. y Cheng, L. 2003. The sun-exposed peel of apple fruit has higher xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and antioxidants of the ascorbate-glutathione pathway than the shaded peel. *Plant Science* 165: 819 – 827.
- Merzlyak, M. N., Melo, T. B., y Naqvi, K. R. 2008. Effect of anthocyanins, carotenoids and flavonoids on chlorophyll fluorescence excitation spectra in apple fruit: signature analysis, assessment, modeling and relevance to photoprotection. *Journal Experimental Botany* 59: 349 – 359.
- Merzlyak, M. N., Solovchenko, A. E., y Chivkunova, O. B. 2002. Patterns of pigment changes in apple fruits during adaptation to high sunlight and sunscald development. *Physiologia Plantarum* 40: 679 – 684.
- Merzlyak, M.N. & Chivkunova, O.B., 2000. Light-stress-induced pigment changes and evidence for anthocyanin photoprotection in apple. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology* 55: 155 – 163.
- Miyazawa, T., Nakagawa, K., Kudo, M., Muraishi, K., y Someya, K. 1999. Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and

- cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 1083 – 1091.
- Mupambi, G., Anthony, B., Layne, D., Musacchi, S., Serra, S., Schmidt, T., Kalcsits, L. 2018. The influence of protective netting on tree physiology and fruit quality of apple: A review. *Scientia Horticulturae*, 236 (16): 60 – 72.
- Puterka G.J. 2005. Season and cultivar influence the fruit quality response of apple cultivars to particle film treatments. *Horticulture Technology* 15: 249 – 253.
- Racsco, J., Schrader, L.E. 2012. Sunburn of apple fruit: Historical background, recent advances and future perspectives. *Crit. Plant Science* 31: 455 – 504.
- Racsco, J., Szabo, Z., y Nyeki, J. 2005b. Importance of supra optimal radiance supply and sunburn effects on apple fruit quality. *Acta Biological* 49: 111 – 114.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Papanga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 2: 152 – 159.
- Schrader, L. E., Sun, J., Felicetti, D., Seo, J-H., Jedlow, L., y Zhang, J. 2003a. Stress-induced disorders: Effects on apple fruit quality. *Proc. Washington Tree Fruit Postharvest Information Network* 636: 545 – 550.
- Schrader, L. E., Sun, J., Zhang, J., Felicetti, D., y Tian, J. 2008. Heat and light-induced apple skin disorders: causes and prevention. *Acta Horticulturae* 772: 51 – 58.
- Schrader, L. E., Sun, J., Zhang, J., y Felicetti, D. 2005. Stress management in the fruit production. *Proc. 101 Annual Meeting, Washington State Horticulture Science* 3: 234 – 245.
- Schrader, L. E., Zhang, J., y Duplaga, W. K. 2001. Two types of sunburn in apple caused by high fruit surface (peel) temperature. *Plant Health Progress*. 86: 376 – 389.
- Schrader, L. E., Zhang, J., y Sun, J. 2003b. Environmental stresses that cause sunburn of apple. *Acta Horticulturae* 618: 397 – 405.
- Schrader, L.E., Zhang, J. y Sun, J. 2003. Environmental stresses that cause sunburn of apple. *Acta Horticulturae* 618: 397 – 405.
- Seo, J. H., Sun, J., Schrader, L. E., y Tian, J. 2008. Use of chlorophyll fluorescence to assess heat stress in apple fruit. *Acta Horticulturae* 772: 279 – 282.

- Solomakhin, A. y Blanke, M. M. 2010. Can coloured hailnets improve taste (sugar, sugar: acid ratio), consumer appeal (colouration) and nutritional value (anthocyanin, vitamin C) of apple fruit. *LWT- Food Science and Technology* 43: 1277 – 1284.
- Solovchenko, A. E. y Merzlyak, M. N. 2008. Screening of visible and UV radiation as a photoprotective mechanism in plants. *Journal of Plant Physiology* 55: 719 – 737.
- Solovchenko, A. E. y Schmitz-Eiberger, M. 2003. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. *J Journal Experimental Botany* 54: 1977 – 1984.
- Song, J., Fan, L., Forney, C. F., y Jordan, M. A. 2001. Using volatile emission and chlorophyll fluorescence as indicator of heat injury in apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 126: 771 – 777.
- Tang, Y. L., Wen, X. G., Lu, Q.T., Yang, Z. P., Cheng, Z. K., y Lu, C. M. 2007. Heat stress induces an aggregation of the light-harvesting complex of photosystem II in spinach plants. *Physiologia Plantarum* 143: 629 – 638.
- Thorpe MR. 1974. Radiant heating of apples. *Journal of Applied Ecology* 11: 755 – 760.
- Van den Dool, K. 2006. Evaporative cooling of apple and pear orchards. Tesis de Magister en Agronomía, Stellenbosch Univ., South Africa.
- Van den Ende, B. 1999. Sunburn management. *Compact Fruit Tree* 32(1): 13 – 14.
- Velioglu, Y. S., G. Mazza, L. Gao, y B. D. Oomah. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 413 – 417.
- Wand, S. y Gindaba, J. 2005. Controlling sunburn: What are the options? *South African Fruit Journal* 4: 24 – 26.
- Wand, S.J.E., van den Dool, K., Smit, A., y Steyn, W. J. 2008b. Heat injury thresholds in apples measured using chlorophyll fluorescence are influenced by orchard heat reduction technologies. *Acta Horticulturae* 772: 273 – 277.
- Wilton, J. 1994. Managing the sunburn problem. *Orchardist* 67: 19 – 21.
- Wünsche, J. N., Bowen, J., Ferguson, I., Woolf, A., y McGhie, T. 2004. Sun-burn on apples – Causes and control mechanisms. *Acta Horticulturae*. 636: 631 – 636.

- Yamaki, K.; Saga, T.; Hirata, T.; Sakaino, M.; Nohno, M.; Kobayashi, S. y Hirao, T. 2006. Anatomical study of the vertebral artery in Japanese adults. *Anatomical Science International* 81: 100 – 106.
- Yuri, J. A., Lepe, V., Moggia, C., Bastias, R. y Bertschinger, L. 2004. Sunburn on apple. *Schweiz. Zeitschr. Obstund Weinbau* 8: 7 – 10.
- Yuri, J. A., Neira, A., Quilodran, A., Razmilic, I., Motomura, Y., Torres, C., y Palomo, I. 2008. Sunburn on apples is associated with increases in phenolic compounds and antioxidant activity as a function of the cultivar and areas of the fruit. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 8: 920 – 925.
- Yuri, J. A., Torres, C., Bastias, R., Naira, Y. A. 2000a. Sunburn on apples. II. Inducing factors and biochemical responses. *Agrociencia* 16(1): 23 – 32.
- Zhang, J-G., Di, B., Li, Y-L., Zhang, J-Q., Sun, J., y Liu, Y. 2007. Effect of microenvironments and exogenous substance application on 5'-nucleotidase activities in apple peel. *Frontiers of Agriculture in China* 1: 67 – 71.



II. CAPITULO 2: EFICIENCIA FOTOSINTÉTICA EN MANZANAS PROTEGIDAS BAJO MALLAS SOMBRA

Hector Olivares-Soto^{1, 3}, and Richard M. Bastías^{2*}

¹Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícola y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Tecomán, Colima, México.

²Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, Av. Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

*Corresponding author (ribastias@udec.cl).

³Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, Programa de Doctorado en Ciencias de la Agronomía, Av. Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

***Artículo aceptado y publicado en Chilean Journal of Agricultural Research.
Volumen 78, Número 1, marzo 2018. DOI: 10.4067/S0718-58392018000100126***

2.1 ABSTRACT

Sunburn in apples is caused by excessive solar radiation and high temperatures. Shade netting is used to control sun damage in apple (*Malus domestica* Borkh.) orchards. The physiological aspects of the effectiveness of this technique have not yet been fully understood. The objective was to study the variation in chlorophyll fluorescence in apples exposed to environmental conditions of radiation and temperature under netting, to better understand the physiological aspects in the effectiveness of this technique to control sun damage. From 50 and up to 150 d after flowering (DAF), maximum photochemical quantum efficiency of photosystem II (F_v/F_m), incidence of photosynthetically active radiation (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), and fruit surface temperature (FST, °C) were evaluated in netted and non-netted 'Fuji' and 'Gala' apple orchards with 20 % shade netting, as well as at harvest in fruit picked from the tree. Netting reduced sunburn by 9 % for 'Gala' and 5 % for 'Fuji'. For 'Gala', netting reduced FST from 2 to 5 °C and 2 to 3 °C for 'Fuji' compared to the control ($P < 0.05$). The PAR decreased by 27 % for 'Gala' and 22 % for 'Fuji' compared to the control ($P < 0.05$). The mean value of F_v/F_m was 12 % in 'Gala' and 3 % in 'Fuji' lower than under

netting. This difference in F_v/F_m was maintained in fruit picked from the tree and was 13 % in 'Gala' and 8 % in 'Fuji'. The effectiveness of nets as a measure to control sun damage in apples is related to the ability of this technique to reduce the photo-inhibition process on the fruit skin.

2.2 INTRODUCCIÓN

La quemadura por sol en manzanas (*Malus domestica* Borkh.) es un desorden fisiológico causado por exceso de radiación solar y elevadas temperaturas, cuyo problema se ha hecho más evidente en los últimos años debido a los efectos del calentamiento global (Schrader et al., 2009). Estas lesiones son el trastorno fisiológico más importante que afecta a las manzanas en Chile (Yuri et al., 2004) y otras áreas semiáridas productoras de fruta en todo el mundo (Naschitz et al., 2015) y en algunos ambientes fríos como el noreste de EE. UU. (Brunner et al., 2003). Los síntomas incluyen decoloración de la cáscara con tonalidad pálida, amarillamiento y parda en áreas del fruto expuestas al sol. Estos síntomas son inducidos tanto por una alta radiación solar incidente como por temperaturas elevadas durante la estación de crecimiento del fruto que causa estrés en el tejido de los frutos (Naschitz et al., 2015).

Se han caracterizado en manzanas tres tipos de quemaduras por sol: daño por sol con necrosis, daño por sol con bronceado en la epidermis (Schrader et al., 2009) y daño foto-oxidativo (Felicetti y Schrader, 2009a). El primero se caracteriza por un daño en la epidermis causados por la exposición a temperaturas extremadamente altas (52 °C) que en un lapso de alrededor de 10 min es capaz de causar la muerte de las células epidermales del fruto (Felicetti y Schrader, 2009b). El segundo daño es ocasionado por la acción conjunta de temperaturas altas y la exposición de frutos a radiación ultravioleta-B (UV-B); en este caso, el bronceado se visualiza en la piel al término de un par de días después de la exposición (Racsco y Schrader, 2012). El daño foto-oxidativo se desarrolla en frutos que creciendo bajo condiciones de sombra son expuestos en forma repentina a la radiación solar directa (Zupan et al., 2014). A diferencia de los dos primeros tipos de daños mencionados, el daño por sol de tipo foto-oxidativo se desarrolla bajo condiciones de altos niveles de radiación fotosintéticamente activa (PAR), porque el espectro de luz ultravioleta no participa

mayormente en este tipo de daño (Felicetti y Schrader, 2009b; Racsko y Schrader, 2012).

Todavía existe discusión respecto al umbral de temperatura que induce daño por sol en manzanas. Wand et al. (2008) encontraron que, dependiendo de la duración, que 42 a 47 °C en la piel del fruto fue fundamental para inducir los síntomas de quemadura por sol en manzanas cultivadas en Sudáfrica. Del mismo modo, y dependiendo del cultivar, 46 a 49 °C fue necesaria para el desarrollo de daño por sol en manzanas cultivadas en Washington, EE. UU. (Schrader et al., 2009). Yuri et al. (2004) informaron que la exposición de manzanas por cinco horas a 45 °C es suficiente para inducir daño por sol bajo las condiciones climáticas de Chile.

Desde el punto de vista fisiológico, se ha determinado que la piel de la fruta expuesta a la luz directa del sol causa la foto-inhibición del fotosistema II (PS-II), reflejado como una disminución en la eficiencia máxima cuántica fotoquímica del fotosistema II (F_v/F_m) en fruta expuesta a la radiación solar (Ma y Cheng, 2003).

Por otra parte, cuando los niveles de temperatura en manzanas son mayores a 45 °C, provocaron una reducción significativa de F_v/F_m (Wand et al., 2008). Ma y Cheng (2003) informaron que el tejido de manzana expuesta al sol mostró una menor eficiencia fotoquímica, pero un mayor tamaño del grupo de ciclos xantófilos, lo que indicaba una mayor disipación térmica en la piel expuesta al sol como mecanismo de protección complementario para mitigar el daño por exceso de energía. Asimismo, se ha demostrado que el área sombreada de la fruta no se adapta a la alta radiación solar; por lo tanto, es más sensible a la foto-inhibición con valores de F_v/F_m inferiores al tejido expuesto al sol en las mismas condiciones de luz y fase de desarrollo del fruto (Li y Cheng, 2008).

Proteger los frutos de la exposición a la radiación solar reduce en gran medida la aparición de quemaduras por sol en manzanas (Schrader, 2011). La cobertura de huertos con malla sombra se usa para este propósito; permite disminuir la luz solar y la temperatura de la superficie de la fruta, y a través de una reducción de la transmisión de la radiación solar directa (Dussi et al., 2005). El color y la densidad de la malla afectan significativamente la transmisión de la radiación solar directa. Blanke (2009) informo que la transmisión de la luz del sol a través de mallas transparentes fue de 95

%, mientras que la malla negra fue de 78 %. Además de una reducción en la radiación solar incidente transmitida, el espectro de luz fue alterado bajo la malla; por ejemplo, las mallas verde y rojo transmiten 3 % más de luz verde y roja, respectivamente, sin alterar la relación rojo/rojo - lejano (Solomakhin y Blanke, 2010). Amarante et al. (2011) informaron de una disminución de la radiación fotosintética cercana del 8 al 25 % bajo diferentes tipos de mallas. Gindaba y Wand (2005) informaron que la temperatura de la superficie de la fruta de manzanas bajo malla sombra era 5 a 9 °C más baja en los días con temperatura máxima del aire de 34 a 37 °C, respectivamente. Cuando la temperatura del aire al mediodía era de 30 a 32 °C, la temperatura de la superficie de la fruta era 5 °C más frías que las manzanas en el tratamiento sin malla sombra (Gindaba y Wand, 2008). Sin embargo, la efectividad del uso de malla para el control de daño por sol en manzanas ha mostrado un comportamiento errático; cuando se ha evaluado en diferentes ubicaciones geográficas y variedades, los aspectos fisiológicos que determinan tales diferencias no se han entendido completamente (Gindaba y Wand, 2005; Amarante et al., 2011; Umanzor et al., 2017).

El objetivo de la presente investigación fue estudiar la variación en la fluorescencia de clorofila en frutos expuestos a condiciones ambientales de radiación y temperatura que se generan en huertos bajo mallas, para comprender mejor los aspectos fisiológicos detrás de la efectividad de esta técnica en el control de daño por sol en manzanas.

2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

2.3.1 Material vegetal y diseño experimental

Los experimentos se realizaron en la Estación Experimental "El Nogal" (36°36'21"S; 72°06'13"O), Universidad de Concepción, Chillán, Región del Ñuble, en huertos de manzanos con cultivares Gala y Fuji; estos fueron árboles de 4 años injertados sobre patrón M9 y plantados a una distancia de 3.5 x 1 m. Una vez finalizada la polinización (cuajado de frutos), se cubrieron 40 árboles con piezas de 185 m² de mallas, colocadas a 2.5 m del suelo. Las mallas de color rojo y perla al 20 % de sombra (ChromatiNet, Polysack Industries, Negev, Israel), que son utilizadas comercialmente por los productores de manzanas, se utilizaron para 'Gala' y 'Fuji', respectivamente.

Se usaron árboles descubiertos como control. El experimento tuvo un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones (parcelas) distribuidas en dos filas con orientación norte-sur para cada repetición, y cinco árboles fueron seleccionados al azar en cada parcela como la unidad experimental.

2.3.2 Evaluación de fluorescencia y condiciones micro-climáticas

Diez frutos expuestos al sol fueron elegidos al azar de los cinco árboles seleccionados de cada réplica; los frutos se ubicaron en la posición suroeste de los árboles a una altura de 140 cm del suelo. A los 50, 80 y 110 días después de plena floración (DDPF) en 'Gala' y 90, 120 y 150 DDPF en 'Fuji', se midieron los siguientes parámetros en tres momentos durante el día (10:00, 13:00, y 16:00 h): Máxima eficiencia fotoquímica del fotosistema II (F_v/F_m), radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); y temperatura de la superficie del fruto (FST, °C). La radiación ultravioleta (UV, W m^{-2}) se midió a 80 DDPF. Las mediciones de F_v/F_m se realizaron después de adaptar la piel del fruto a la oscuridad durante 30 minutos, con un clip de obturador móvil (Figura 3). La sonda del fluorómetro se insertó en el orificio del clip; y después de la exposición de 0.8 s para un pulso de saturación de luz blanca (3000 fotones $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), se cuantificaron los valores de fluorescencia de clorofila máxima (F_m) y mínima (F_0) con un fluorómetro portátil (OS5p +, Opti-Sciences, Hudson, New Hampshire, EE. UU.). Esta información permitió la cuantificación de F_v/F_m por la siguiente relación: $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$ (Maxwell y Johnson, 2000). Al mismo tiempo, la incidencia de PPFD se cuantificó con un sensor cuántico (LI-189; LI-COR, Lincoln, Nebraska, EE. UU.), Mediciones de radiación UV con un medidor de UV (MU-200, Apogee Instruments, Logan, Utah, EE. UU.) y la FST con un termómetro infrarrojo (Extech, Nashua, New Hampshire, EE. UU.) a una distancia de 0.2 m entre el fruto y el sensor (Umanzor et al., 2017).

2.3.3 Evaluación en la cosecha

En la cosecha, la fruta total de los cinco árboles de cada réplica se clasificó visualmente para la incidencia del daño por sol de acuerdo con una escala desarrollada por Yuri et al. (2004): fruto sano (sin daño aparente), daño leve (área epidérmica con coloración amarillo tenue) y daño severo (área epidérmica con coloración parda y daño

lenticular); la cantidad de fruta dañada se expresó como un porcentaje. Al mismo tiempo, se tomaron 30 frutos sanos de cada cultivar para determinar la dinámica de foto-inhibición en la piel del fruto en un día completamente soleado. Los 30 frutos se cosecharon de los árboles y se colocaron a nivel del suelo en bandejas en condiciones de con y sin malla. Pequeñas piezas de malla de aproximadamente 2 m², se colocaron en una maqueta diseñada de 1 m de ancho por 2 m de largo, que simula la estructura de instalación de la malla en el huerto (Figura 4). En cinco momentos durante el día (10:00, 12:00, 14:00, 16:00 y 18:00 h), se cuantificaron los valores de fluorescencia de clorofila máxima (F_m) y mínima (F_0) con un fluorómetro portátil (OS5p+, Opti-Sciences, Hudson, New Hampshire, EE. UU.). Esta información permitió la cuantificación de F_v/F_m por la relación descrita anteriormente, así como la incidencia de PPFD con un sensor cuántico (LI-189; LI-COR, Lincoln, Nebraska, EE. UU.) y la FST con un termómetro infrarrojo (Extech, Nashua, New Hampshire, EE. UU.) a una distancia de 0.2 m entre la fruta y el sensor.





Figura 3. Detalle del método utilizado para la medición de parámetros de fluorescencia de clorofila en la piel del fruto de manzanos, utilizando un clip de obturador móvil desarrollado para esta medición bajo condiciones de campo.



Figura 4. Detalles del método utilizado para estudiar los efectos del enmallado en manzanas cosechadas.

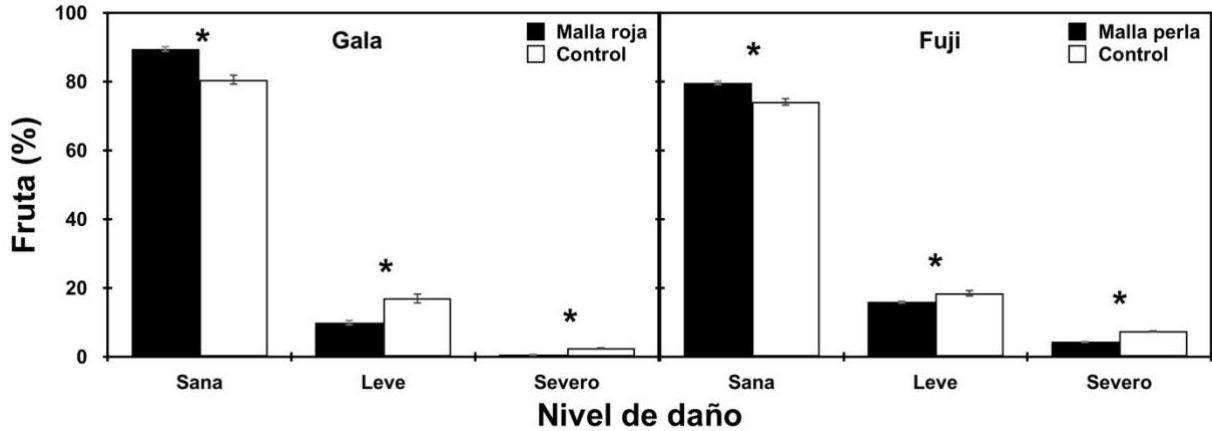
2.3.4 Análisis estadístico

Los datos obtenidos en cada bloque se sometieron a un ANOVA a un nivel de significación $P < 0.05$. Los valores, expresados como un porcentaje, fueron normalizados mediante la fórmula $\sqrt{(x/100)}$. El coeficiente de correlación lineal se realizó con un nivel de significación de ($P < 0.05$). Todos los análisis se realizaron con el software estadístico SAS (Versión 9.1, SAS Institute, Cary, Carolina del Norte, EE. UU.). Los análisis de regresión lineal se realizaron con el software Numbers (Números IOS 10, Apple Inc., Cupertino, California, EE. UU.) con un nivel de significación de $P < 0.05$.

2.4 RESULTADOS

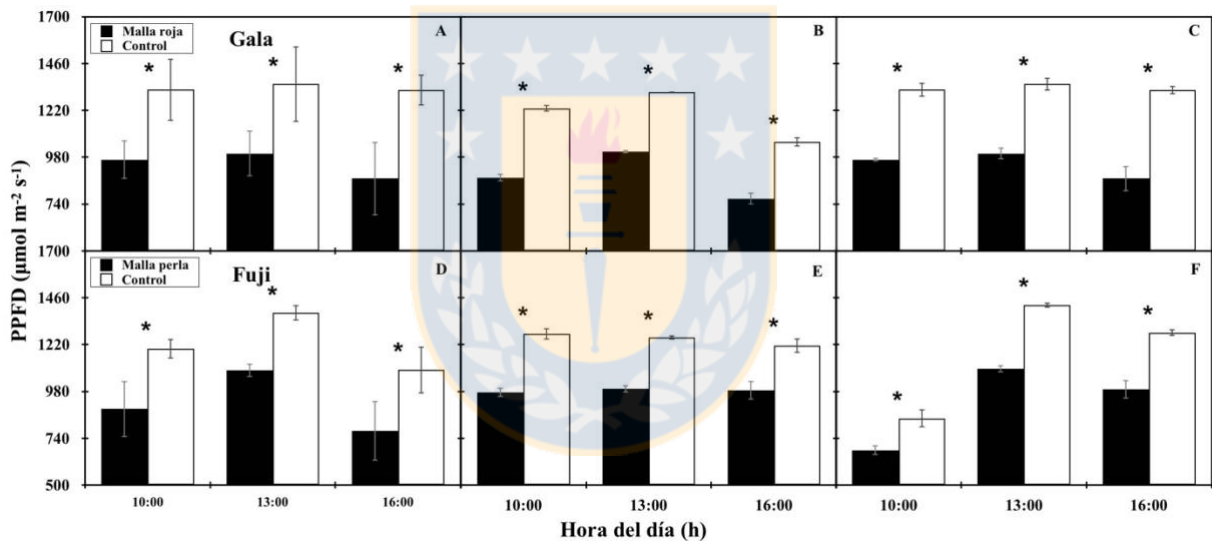
La malla redujo significativamente la cantidad de fruta dañada por quemaduras por sol, para ambos cultivares evaluados. La incidencia por sol en cvs. Gala y Fuji presentan diferencias ($P < 0.05$) dentro de las tres categorías definidas para el daño; siendo mayor la incidencia en el control sin malla (Figura 5). En promedio, las mallas redujeron las quemaduras por sol en 9 % para 'Gala' y en 5 % para 'Fuji'.

La intensidad de la radiación PAR medida como densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activo (PPFD) presenta diferencias entre los tratamientos con malla y sin malla ($P < 0.05$). En ambos cultivares la PAR fue mayor en el control sin malla. No obstante, la capacidad de transmisión de la luz fue variable durante los distintos períodos de estados de desarrollo del fruto en ambos cultivares. Para 'Gala', a los 50 DDPF la malla redujo en 29 % la cantidad promedio de PAR transmitida durante el día (Figura 6A), a los 80 DDPF esta reducción fue de 26 %, mientras que a los 110 DDPF estos valores se redujeron en 29 % (Figuras 6B y 6C). En 'Fuji' se observaron resultados similares a los presentados en 'Gala' a 90, 120 y 150 DDPF. A los 90 DDPF la malla redujo en 24 % la cantidad promedio diaria de PPFD transmitida, mientras que a los 120 y 150 DDPF esta reducción fue de 21 % (Figuras 6D, 6E y 6F).



*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 5. Incidencia de quemadura de sol en frutos de manzanos ‘Gala’ y ‘Fuji’ cubiertas con malla y sin malla (control), según categoría de daño: sano, leve y severo.

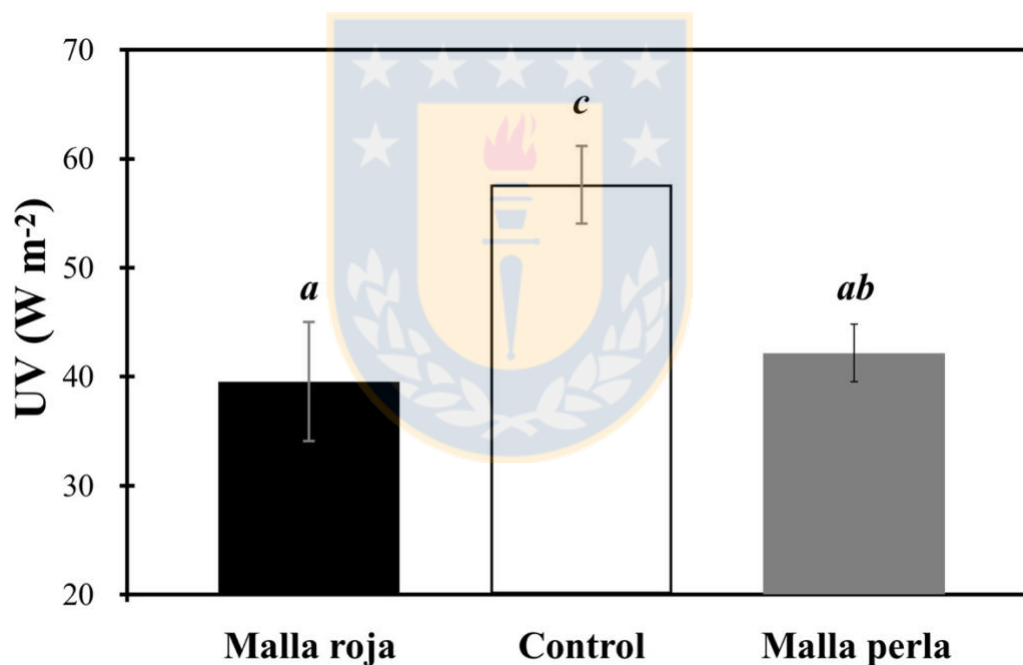


*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 6. Radiación solar como densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activos (PPFD) medida a los 50 (A), 80 (B), 110 (C) días después de plena floración (DDPF) en manzanos ‘Gala’, y a los 90 (D), 120 (E), 150 (F) DDPF en ‘Fuji’ cubiertos con malla y sin malla (control).

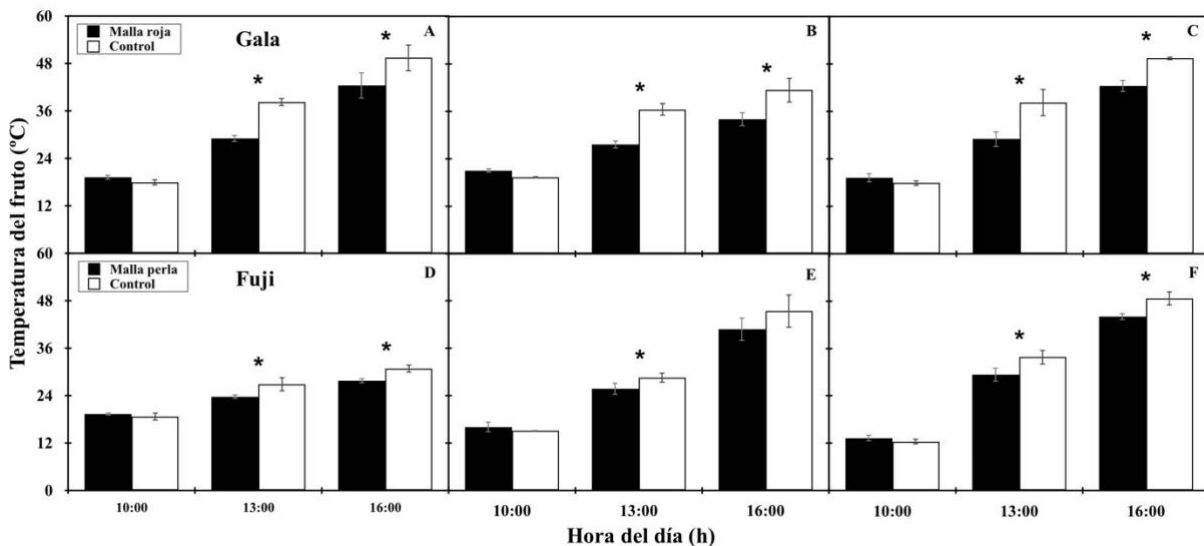
La intensidad de la radiación ultravioleta (UV) muestra diferencias entre los tratamientos con malla y sin malla ($P < 0.05$). Aunque la transmisión de la luz UV no se vio afectada significativamente por el color de las mallas, la malla roja redujo en 5 % más la radiación UV que la malla perla (Figura 7).

La temperatura de la superficie de la fruta (FST) también presentó diferencia significativa entre los tratamientos con malla y sin malla ($P < 0.05$). En 'Gala' la FST fue menor bajo malla en comparación con el control para los tres periodos de evaluación 50, 80 y 110 DDPF, respectivamente (Figuras 8A, 8B, 8C); donde las diferencias más significativas ($P < 0.05$) se presentaron al mediodía (13:00 h) y durante la tarde (16:00 h). En este cultivar y para estos periodos del día la FST fue 5 °C inferior bajo malla en comparación con el control. En 'Fuji' se presentó la misma tendencia que en 'Gala' en FST a los 90, 120 y 150 DDPF. En este cultivar también se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) al mediodía (13:00 h) y en la tarde (16:00 h) (Figuras 8D, 8E, 8F). Sin embargo, en este cultivar la FST diaria fue en promedio 2 °C inferior bajo malla en comparación con el control.



Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Figura 7. Radiación ultravioleta ($W m^{-2}$) medida en malla y sin malla (control) en huertos de manzana 'Gala' y 'Fuji'.

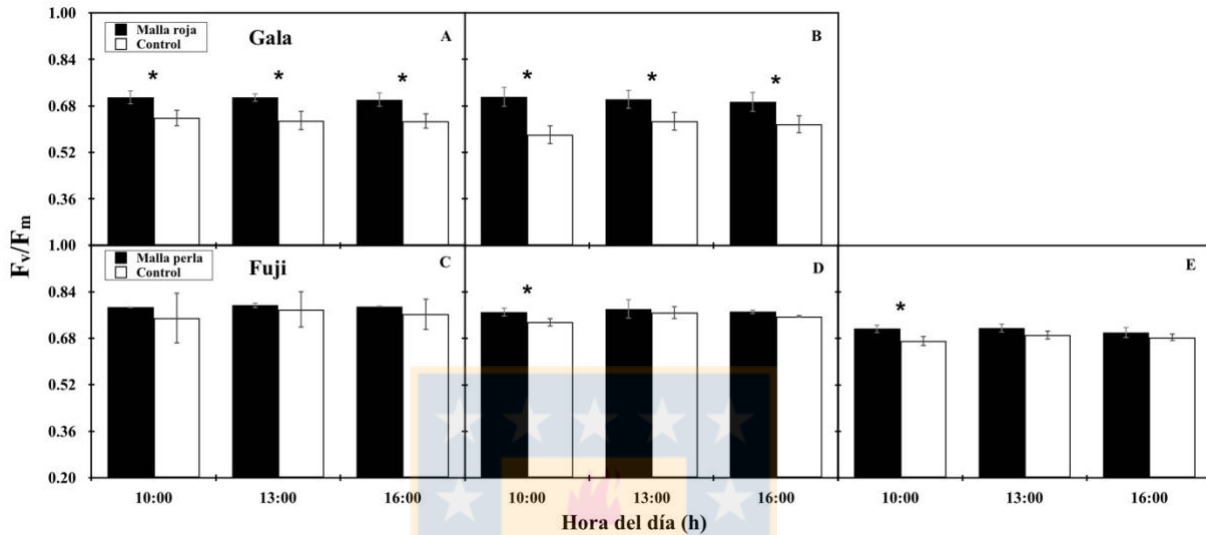


*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 8. Temperatura de la superficie de la fruta (FST) medida a los 50 (A), 80 (B), 110 (C) días después de plena floración (DDPF) en manzanos ‘Gala’, y a los 90 (D), 120 (E), 150 (F) DDPF en ‘Fuji’ cubiertos con malla y sin malla (control).

La eficiencia máxima cuántica fotoquímica del fotosistema II (F_v/F_m) medida en la piel de los frutos también se vio afectada significativamente durante los distintos estados de crecimiento del fruto. En ‘Gala’ y a los 50 DDPF los valores F_v/F_m fueron del orden de 0.70 bajo malla y del 0.63 en el control (sin malla). Para el caso de frutos analizados a los 80 DDPF, el valor promedio diario de F_v/F_m fue del orden de 0.70 bajo malla y 0.60 en el control, sin malla (Figuras 9A, 9B). Cabe destacar que en el cultivar ‘Gala’, no fue posible estimar las variaciones en F_v/F_m en los frutos con un período de crecimiento de 110 DDPF, debido probablemente a que en ese momento la piel de manzana mostró cambios en el desarrollo del color al aumentar en rojo (antocianina) y disminuyendo en color verde (clorofila). Se puede indicar que en este cultivar el valor de F_v/F_m en condiciones sin malla (control) presentó valores que en promedio fueron 12 % inferiores a la fruta bajo malla. En ‘Fuji’, en cambio, estas diferencias fueron menos marcadas que en ‘Gala’. Para los 90 DDPF, en este cultivar se observó que los valores de F_v/F_m en fruta bajo malla fueron en promedio de 0.78 en comparación a 0.76 encontrados bajo la condición sin malla (control). Más tarde y a los 120 DDPF se registraron valores de F_v/F_m que promediaron un valor de 0.77 y 0.75, bajo malla y control, respectivamente. Finalmente, y a los 150 DDPF, el valor promedio de F_v/F_m

registrado bajo mallas fue de 0.71, en comparación al valor de 0.68 registrado en el control, sin malla (Figuras 9C, 9D, 9F). En este cultivar el valor promedio de F_v/F_m en el control (sin malla) presento valores que fueron en promedio 3 % inferiores a la condición con malla.



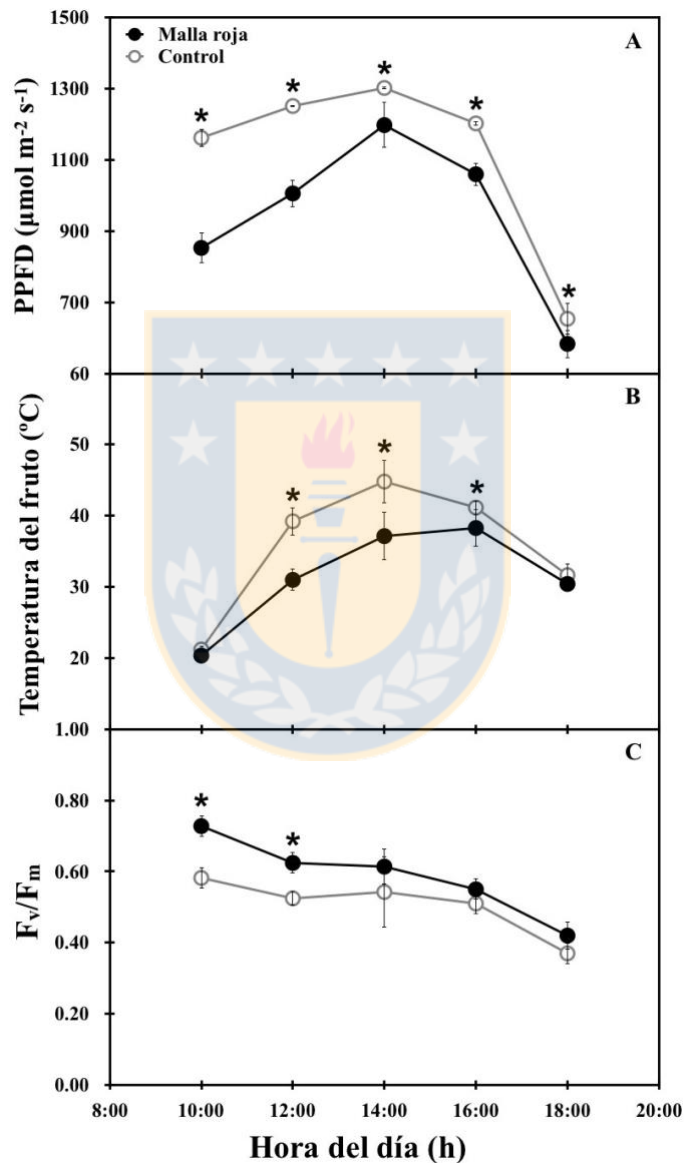
*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 9. Eficiencia cuántica fotoquímica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) medida en la piel de frutos a los 50 (A) y 80 (B) días después de plena floración (DDPF) en manzanos ‘Gala’ y a los 90 (C), 120 (D), 150 (E) DDPF en ‘Fuji’ cubiertos con malla y sin malla (control).

Esta tendencia se mantuvo cuando se evaluó el efecto de la malla en frutos maduros y desconectados del árbol y expuestos al sol para un día completo. En ‘Gala’, y bajo esta condición, la malla redujo en promedio 15 % la transmisión de la PPFd (Figura 10A) y la FST en 4 °C (Figura 10B). Para este caso, el valor de F_v/F_m en la fruta expuesta sin malla fue 13 % inferior en comparación a la malla (Figura 10C). En cambio, en ‘Fuji’ pese a que la malla redujo en promedio 27 % el valor diario de transmisión de PPFd (Figura 11A) y en 3 °C la FST (Figura 11B); el valor de F_v/F_m de la fruta expuesta al sol sin malla fue 8 % inferior en comparación a la condición con malla (Figura 10C).

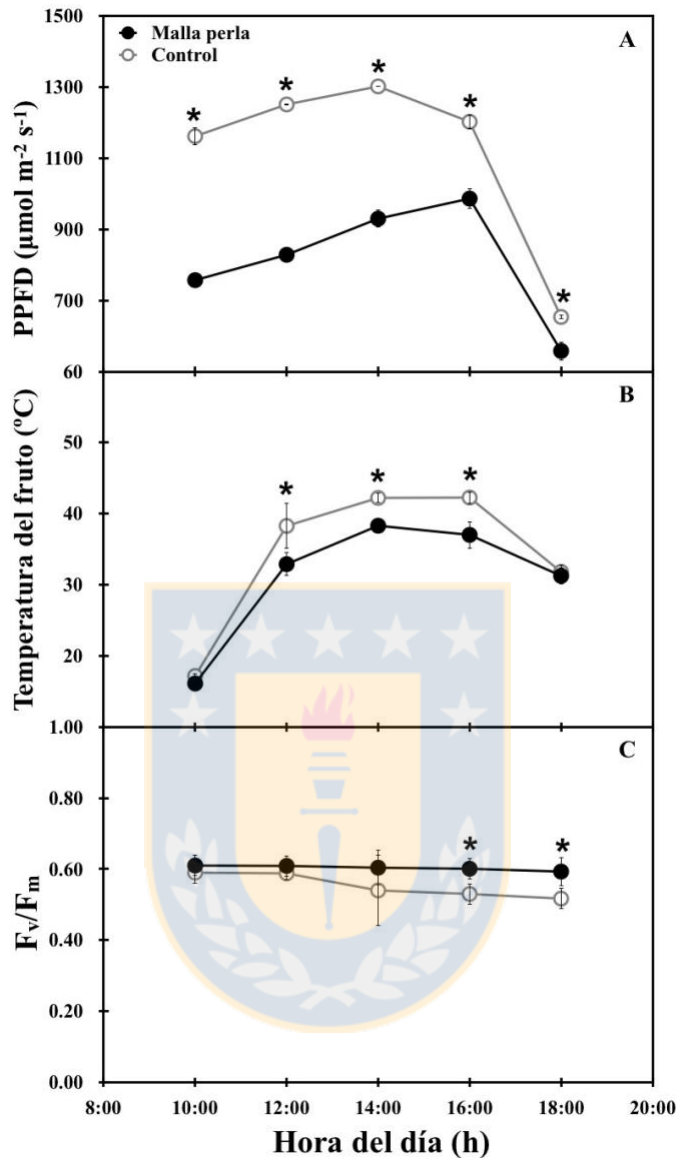
Al realizar un análisis de correlación lineal ($P < 0.05$) de las variables descritas anteriormente, podemos apreciar que en ‘Gala’ la variación en los valores F_v/F_m se relacionó inversamente con la variación en la cantidad de PPFd, presentando una

tendencia a disminuir en la medida que aumentaba la cantidad de PPFD ($R^2 = 0.6$; $P < 0.05$) (Figura 12A). Esta relación no se encontró cuando fue analizada con datos tomados desde frutos madurados y desconectados del árbol; en este caso la relación entre F_v/F_m y PPFD presento un R^2 de 0.16 (Figura 12C), siendo estadísticamente no significativo ($P < 0.05$).



*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 10. Evolución diaria de radiación solar como densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activos (PPFD), temperatura de la superficie de la piel (FST, °C) y eficiencia cuántica fotoquímica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) medida a madurez fisiológica de frutos desconectados desde el árbol de manzanos ‘Gala’ cubiertos con malla y sin malla (control).



*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 11. Evolución de radiación solar como densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activos (PPFD), temperatura de la superficie de la piel (FST) y eficiencia cuántica fotoquímica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) medida a madurez fisiológica de frutos desconectados del árbol de manzanos 'Fuji' cubiertos con malla y sin malla (control).

En 'Fuji' no se apreció una relación significativa ($P > 0.05$) entre F_v/F_m y la intensidad de la radiación PPFD (Figura 12B) tanto para los diferentes períodos de crecimiento del fruto como en frutos maduros desconectados del árbol. Al correlacionar F_v/F_m y FST para ambas variedades (Figura 13) tanto en las evaluaciones con la fruta

en el árbol como en aquellas desconectadas del árbol, los valores R^2 tampoco fueron significativos ($P > 0.05$).

2.5 DISCUSIÓN

Determinar los umbrales climáticos para la ocurrencia de daño por sol y su relación con los cambios en la fluorescencia de la clorofila en el fruto resulta difícil de analizar en los huertos. La mayoría de las investigaciones que se reportan en trabajos realizados bajo condiciones de laboratorio, siendo pocas las investigaciones de este tipo en condiciones de campo. Se han desarrollado más estudios de investigación en otras especies hortícolas como tomate, pimiento, melón y pepino, pero sin estudios en manzanas (Naschitz et al., 2015). Nuestra investigación se basa en la evaluación y en el monitoreo de variables micro-climáticas y fluorescencia de clorofila en frutos creciendo bajo mallas y en condiciones de campo. La cantidad de fruta con daño por sol severo fue inferior a 10 % (Figura 5), siendo en 'Fuji' el cultivar donde se aprecia una mayor cantidad de fruta con este tipo de daño, lo que indica la mayor sensibilidad de este cultivar al daño por sol (Amarante et al. 2011). La baja cantidad de fruta con daño por sol severo registrado en ambos cultivares podría explicarse por la FST alcanzada en nuestros experimentos, que fue de hasta 49 °C para la fruta en el control sin malla en 'Gala' (Figura 8C) y 48 °C en 'Fuji' (Figura 8F). Estas FST son más bajas que las reportadas (52 °C) en las que se induce daño severo por sol con necrosis en las manzanas (Schrader et al., 2009). Cuando se cubren los árboles con mallas lo primero que se espera son cambios en la PPFd, en nuestra investigación hubo una disminución en la PPFd entre 26 - 29 % en 'Gala' y 21 - 24 % en 'Fuji', con diferencias entre los tratamientos con malla y sin malla ($P < 0.05$) (Figura 6). La malla redujo FST en 2 a 5 °C en 'Gala' y de 2 a 3 °C en 'Fuji' entre tratamientos (Figura 8), por lo que las diferencias en FST podrían explicarse por diferencias en PPFd transmitidas entre mallas como lo informaron Iglesias y Alegre (2006). Aunque no se evaluó la cantidad de radiación UV, el posible efecto del componente de luz ultravioleta no debe descartarse porque durante un día soleado la malla (independientemente del color de la malla) reduce entre 25 - 30 % la radiación UV en comparación con la condición sin malla (Control) (Figura 7).

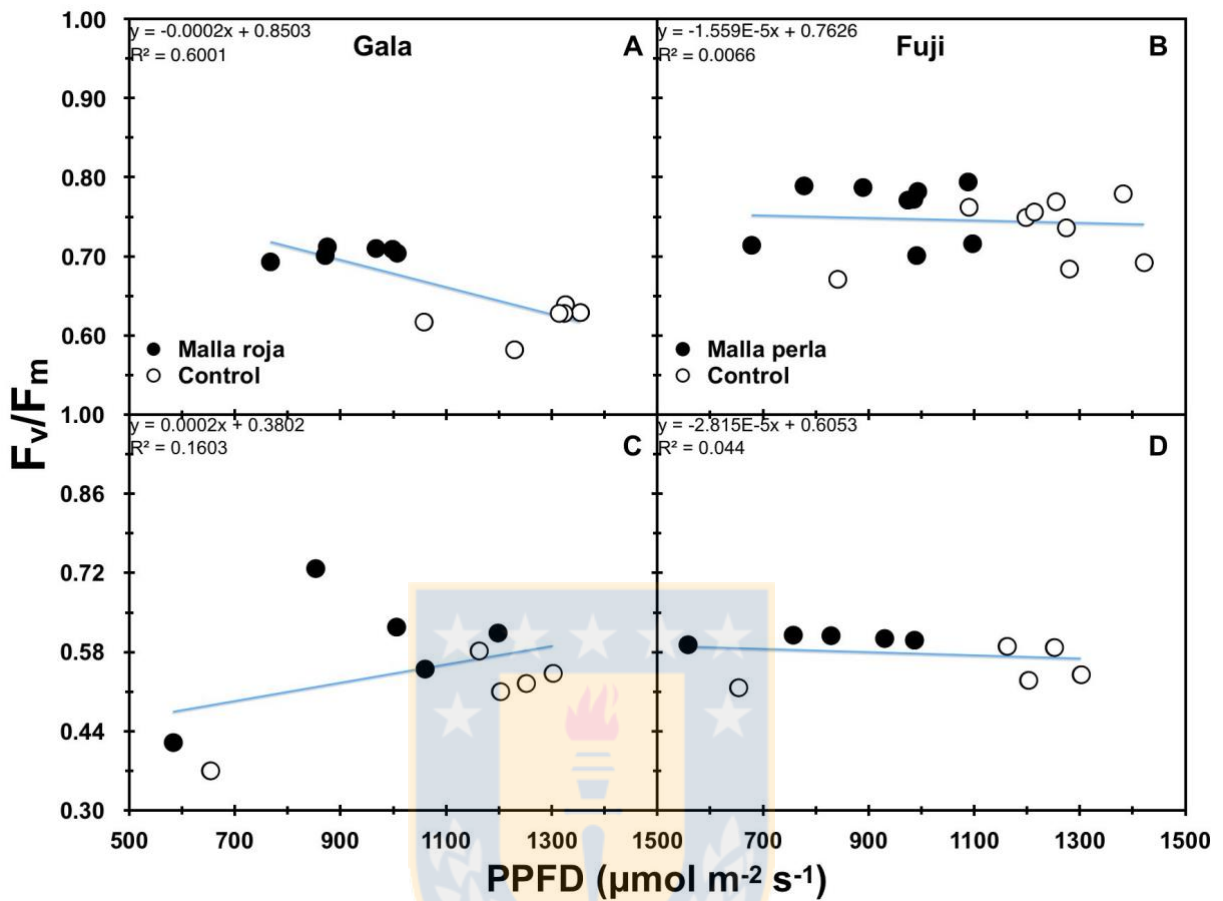


Figura 12. Relación entre eficiencia cuántica fotoquímica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) y radiación solar como flujo de fotones fotosintéticamente activos (PPFD) medida en la temporada de crecimiento (A y B) y a madurez fisiológica (C y D) en frutos de 'Gala' y 'Fuji' cubiertos con malla y sin malla (control).

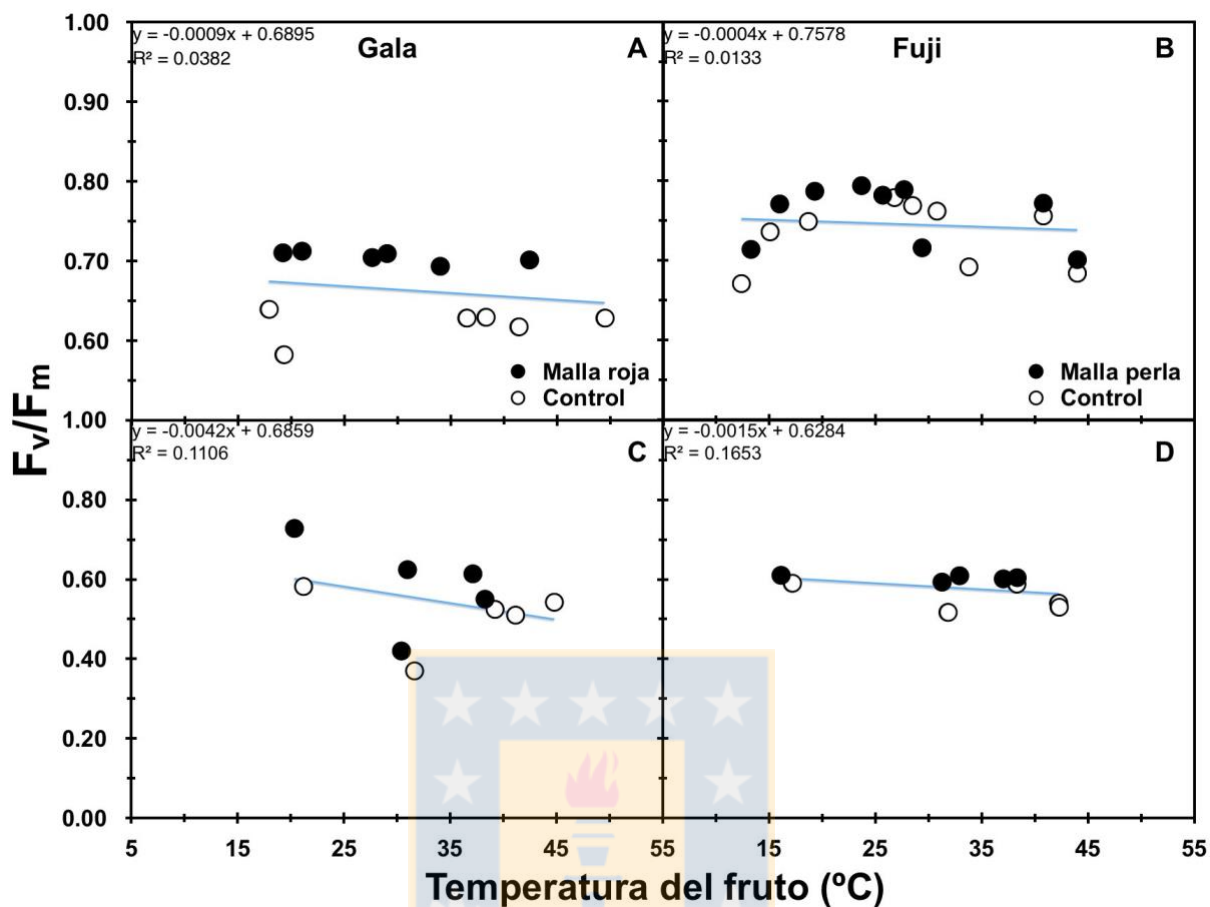


Figura 13. Relación entre eficiencia cuántica fotoquímica máxima del fotosistema II (F_v/F_m) y temperatura superficial de la fruta (FST) medida en la temporada de crecimiento (A y B) y a madurez fisiológica (C y D) en frutos de 'Gala' y 'Fuji' cubiertos con malla y sin malla (control).

Los datos previos de las características de transmisión de luz espectral de las mallas demostraron que la malla roja (utilizada en el huerto 'Gala') redujo la transmisión de luz en los espectros visibles (400-700 nm), mientras que la malla perla (utilizada en el huerto 'Fuji') no alteró la transmisión de luz en los espectros visibles (Umanzor et al., 2017). Estas diferencias en la transmisión espectral entre las mallas se explicarían las diferencias en el PPFD presentada en nuestros experimentos (Figuras 6 y 7). Considerando el efecto de la malla en la reducción de PAR y FST, con menos daño por sol en los frutos en ambos cultivares (Figuras 6, 7 y 8), se puede inferir que el primer mecanismo de la malla sobre el control del daño por sol está relacionado a la reducción de PPFD por intercepción y dispersión de luz, teniendo una reducción en FST, coincidiendo con hallazgos previos en los que se estudió el efecto de las mallas

sobre el fruto en diferentes cultivares de manzanas (Amarante et al., 2011). Además, la reducción de luz UV por las mallas también podría explicarse por la capacidad de las mallas para reducir el daño por sol en las manzanas, demostrando el papel de este componente de la luz en el desarrollo de quemaduras por sol en los frutos de manzano (Racsko y Schrader, 2012).

En la medida que la manzana crece y madura en el árbol, su capacidad de transpiración disminuye notablemente, por lo que también disminuye su capacidad para regular la temperatura de la piel bajo condiciones de extrema radiación solar (Morandi et al., 2012). En nuestro estudio esto se presentó en 'Fuji' a los 150 DDPF (Figura 8F), que registró la FST máxima para las condiciones sin malla (control) como también bajo malla. Esto ha sido avalado por estudios realizados en Chile, donde se demostró que los daños causados en la piel por la exposición de frutos a altas temperaturas durante la temporada productiva (3 a 4 meses) depende del cultivar y estado de desarrollo de los frutos; por lo tanto, así cultivares de cosecha tardía, como 'Fuji', son muy sensibles a dañarse por sol en momentos cercanos a la cosecha (Yuri et al., 2004).

Estudios previos han reportado que una menor incidencia de daño por sol por la utilización de mallas es debido a una menor radiación incidente directa el fruto combinado a la reducción de la temperatura del fruto (Iglesias y Alegre, 2006). Por esta razón, se ha promovido el uso de mallas en varias partes del mundo, y especialmente en zonas de altas temperaturas y radiación solar en que se producen manzanas (McCaskill et al., 2016).

Respecto a la radiación solar, nuestros resultados demuestran que los valores de PPFD encontrados en la condición sin malla, tanto en 'Gala' como en 'Fuji' contribuyen mayormente al aumento del daño por sol con bronceado en la epidermis del fruto en manzanas, y que equivale a la presencia de síntomas de daño por sol leve (Figura 5) tal como se ha reportado en otras investigaciones (Zupan et al., 2014). No obstante, estos umbrales de PPFD no causaron quemaduras por sol del tipo foto-oxidativa como la reportada previamente por otros autores (Felicetti y Schrader, 2009a, Racsko y Schrader, 2012).

Si bien es cierto las diferencias de daño por sol en la malla y el control (Figura 5), pueden ser explicadas por diferencias de PPFD y de FST (Figuras 6 y 8); los aspectos fisiológicos que subyacen a tales diferencias no han sido comprendidos. La fluorescencia de la clorofila ha sido una herramienta no destructiva ampliamente utilizada para evaluar el estrés abiótico y biótico en tejidos que contienen clorofila, es decir, las hojas y los frutos (Seo et al., 2008). Estudios previos han demostrado que la eficiencia fotoquímica del PS-II (F_v/F_m) disminuye en la piel del fruto de manzana y tomate expuestos a daño por sol (Torres et al., 2006; Naschitz et al., 2015), lo que concuerda con los resultados obtenidos en la presente investigación (Figura 9). Los antecedentes a la fecha indica que esto es consecuencia de la pérdida de clorofila en el tejido expuesto al sol y el mal funcionamiento del centro de reacción del PS-II, cuando la piel del fruto presenta daño (Naschitz et al., 2015).

De acuerdo con Naschitz et al. (2015), el valor máximo de F_v/F_m en la piel del fruto de la manzana se alcanza con valores FST de 36 a 39 °C, mientras que las temperaturas por encima de los 40 °C (como los valores encontrados en este estudio, Figura 8) serían responsables de la disminución de F_v/F_m . Resultados similares han sido reportados por Chen et al. (2008) y Wand et al. (2008). En nuestra investigación se observó que por efecto del uso de mallas la FST en 'Gala' y 'Fuji' fue de 5 °C y 2 °C inferior, respectivamente, que en el tratamiento sin malla (Figura 8), lo que significó un aumento del 12 % y 3 % en F_v/F_m para estos cultivares, respectivamente (Figura 9). Naschitz et al. (2015) señalan que el umbral F_v/F_m para el desarrollo de daño por sol en las manzanas era alrededor de valores de 0.1 a 0.2, que es bastante bajo en relación con los encontrados en esta investigación (Figura 9); estos autores concluyeron que el umbral F_v/F_m estaba más relacionado con los síntomas asociados con el blanqueo que con el pardeamiento para las frutas sometidas a condiciones de alta temperatura (40 a 47 °C) y bajo condiciones controladas. Esto indica que los valores umbrales de F_v/F_m en que se induce daño por sol bajo condiciones de campo difieren del estimado bajo condiciones controladas.

Por otro parte, se ha observado una correlación entre la foto-inhibición y la disminución de la relación F_v/F_m (Torres et al., 2006). En esta investigación se encontró que la F_v/F_m fue significativamente disminuyendo por horas de exposición al sol en los

frutos (desconectados del árbol) a pleno sol, lo que fue atenuando por efecto del uso de malla (Figuras 10 y 11). Esto podría explicarse por un mayor nivel de foto-inhibición en aquellas frutas que no son capaces de superar el estrés al estar desconectados del árbol sin un adecuado suministro hídrico para a enfriar la piel, y que finalmente desarrollarán síntomas de quemaduras por sol, como se presentó en fruta cosechada de los árboles y expuesta al sol directo (Racsco y Schrader, 2012).

Para ambos cultivares, en la piel de los frutos bajo mallas los valores de F_v/F_m permanecieron más cercanos a los valores a 0.7 - 0.8, lo que indica que existe un menor grado de foto-inhibición respecto a la piel de los frutos expuesto al sol (sin malla). Wand et al. (2008) compararon la sensibilidad de las manzanas con el calor; cuando el FST estaba cerca de 38 °C, el F_v/F_m se mantuvo en 0.7, lo que indica que bajo este umbral de FST la actividad del PS-II alcanzó la recuperación completa. Estos resultados indican una menor foto-inhibición en los frutos bajo malla con respecto a los frutos expuestos al sol directo (sin malla), donde los valores de F_v/F_m alcanzaron hasta 0.6. Esto podría explicarse probablemente por un efecto directo de la reducción PAR. Si bien esto quedó evidenciado por la correlación que se encontró entre las variaciones de F_v/F_m y PPFd en 'Gala', esto no fue el caso en 'Fuji' (Figura 12). En 'Fuji', no se observó una relación estrecha entre cambios de PPFd y F_v/F_m , lo que indicaría que en este cultivar el efecto de la malla sobre la reducción de daño por sol no estaría explicado del todo por una reducción en la intensidad de radiación solar. Se ha demostrado que cuando FST aumenta hasta daño subletal en la piel del fruto de manzana, el F_v/F_m también se reduce por el efecto negativo de la alta temperatura en la donación de electrones del complejo que involucra oxígeno (OEC) al centro de reacción del PS-II, causando daño en el centro de reacción del PS-II de toda la cadena de transporte de electrones (Chen et al., 2008). El fruto de manzana tiene una capacidad limitada para usar la PPFd en la fotosíntesis; por lo tanto, el exceso de energía se debe disipar en forma de calor a través del ciclo de la xantofila y mediante el proceso llamado enfriamiento No-fotoquímico (NPQ) (Racsco y Schrader, 2012). El mecanismo de NPQ se ha descrito principalmente durante el desarrollo del daño foto oxidativo, que finalmente condujo a un daño por sol letal en las manzanas (Racsco y Schrader, 2012). En nuestros experimentos, los análisis de NPQ no se realizaron y los

parámetros de fluorescencia de la clorofila se midieron en los frutos que no presentaba daños letales (bronceado por quemaduras solares). Sin embargo, lo que si quedó claramente demostrado es que en nuestro estudio el uso de mallas incremento los valores de F_v/F_m en ambos cultivares, tanto en frutos creciendo en el árbol como fuera de este al momento de cosecha (Figuras 7, 8 y 9). Una disminución de F_v/F_m bajo estrés por radiación se considera que refleja el daño al complejo del PS-II (Qiu y Lu, 2003), esto indica que el uso de malla es efectivo en reducir el proceso de foto-inhibición en manzanas expuestas al sol, por el efecto atenuante de la radiación que contribuye sustancialmente a la evolución de las quemaduras por sol en la piel del fruto de manzana (Racsko y Schrader, 2012; Zupan et al, 2014). Se tiene reportes en las peras rojas 'Anjou' que presentan una alta tolerancia cuando se exponen a una alta incidencia de luz y a una alta temperatura, pero aun así la eficiencia del F_v/F_m se vio afectada negativamente en las mismas condiciones (Li y Cheng, 2009), lo que explicaría el por qué el efecto de la malla sobre el incremento de la F_v/F_m se puede apreciar tempranamente (50 y 90 DDPF, dependiendo del cultivar; Figura 9), o al inicio de exposición en frutos desconectados del árbol (Figuras 10 y 11), es decir antes de que los frutos resulten totalmente dañados por sol.

Por otra parte, la pérdida de clorofila por sí mismo, que es un evento temprano en el tejido de la fruta expuesta al sol, como ocurre normalmente durante la maduración de frutos disminuyendo la relación F_v/F_m y que no siempre sería percibido como dañado por sol (Ma y Cheng, 2003). De hecho, en nuestro estudio los valores de F_v/F_m disminuyeron parcialmente durante desarrollo de los frutos, incluso a niveles de fluorescencia de clorofila no detectables en el cv. Gala (Figura 9), independientemente de la intensidad de daño por sol en la fruta, lo que está de acuerdo con lo planteado por Li y Cheng (2008). Esto sería causado por la pérdida de clorofila en las manzanas tanto para cultivares como 'Gala' y 'Fuji'. Del mismo modo, es interesante indicar que cuando se expusieron frutos maduros y desconectados del árbol a pleno sol, en el cv. Gala se observó una disminución más pronunciada en los valores de F_v/F_m en comparación a 'Fuji' (Figuras 10 y 11), pero que fue atenuado en ambos casos por el uso de la malla. Lo anterior indicaría que aspectos como el contenido de clorofila o de pigmentos fotoprotectores que pueden variar por el estado de madurez de la fruta o

del cultivar estarían influyendo también de alguna manera en la efectividad de la malla para reducir el proceso de foto-inhibición en manzanas (Racsko y Schrader, 2012).

2.6 CONCLUSIONES

Una alta radiación solar combinada con una alta temperatura disminuye la eficiencia fotoquímica del fotosistema II en la piel de la manzana expuesta al sol directo, que se mitiga mediante el uso de mallas.

Estos resultados sugieren que la efectividad de la malla en el control de daño por sol en manzanas estaría relacionada con el aumento de la eficiencia fotosintética en la epidermis de los frutos, producto de su efecto atenuante en la radiación solar y temperatura del fruto.

2.7 REFERENCIAS

- Amarante, C. V. T., Steffens, C. A., Argenta, L. C. 2011. Yield and fruit quality of 'Gala' and 'Fuji' apple trees protected by white anti-hail net. *Scientia Horticulturae* 129: 79 – 85.
- Blanke, M. M. 2009. The structure of coloured-hail nets affects light transmission, light spectrum, phytochrome and apple fruit colouration. *Acta Horticulturae* 817: 177 – 184.
- Brunner, J. F., Jones, W., Kupferman, E., Xiao, C-L. Faubion, D., Tangren, G. 2003. Information from the careful evaluation of packingline culls. p. 1.6. Washington Tree Fruit Postharvest Conference, Wenatchee. 2 – 3 December 2003. Postharvest Information Network, Washington State University, Pullman, Washington, USA.
- Chen, L-S., Li, P., Cheng, L. 2008. Effects of high temperature coupled with high light on the balance between photooxidation and photoprotection in the sun-exposed peel of apple. *Planta* 228: 745 – 756.
- Dussi, M. C., Giardina, G., Sosa, D., Gonzalez Junyent, R., Zecca, A., Reeb, P. 2005. Shade nets effect on canopy light distribution and quality of fruit and spur leaf on apple cv. Fuji. *Spanish Journal of Agricultural Research* 3: 253 – 260.

- Felicetti, D. A., and Schrader, L. E. 2009a. Changes in pigment concentrations associated with sunburn browning of five apple cultivars. I. Chlorophylls and carotenoids. *Plant Science* 176: 78 – 83.
- Felicetti, D. A., and Schrader, L. E. 2009b. Changes in pigment concentrations associated with sunburn browning of five apple cultivars. II. Phenolics. *Plant Science* 176: 84 – 89.
- Gindaba, J., and Wand, S. J. 2005. Comparative effects of evaporative cooling, kaolin particle film, and shade net on sunburn and fruit quality in apples. *Horticulture Science* 40(3): 592 – 596.
- Gindaba, J., and Wand, S. J. 2008. Comparison of climate ameliorating measures to control sunburn on 'Fuji' apples. *Acta Horticulturae* 772: 59 – 64.
- Iglesias, I., and Alegre, S. 2006. The effect of anti-hail nets on fruit protection, radiation, temperature, quality and profitability of 'Mondial Gala' apples. *The Journal of Applied Horticulture* 8: 91 – 100.
- Li, P., and Cheng, L. 2008. The shaded side of apple fruit becomes more sensitive to photoinhibition with fruit development. *Physiologia Plantarum* 134: 282 – 292.
- Li, P., and Cheng, L. 2009. The elevated anthocyanin level in the shaded peel of 'Anjou' pear enhances its tolerance to high temperature under high light. *Plant Science* 177: 418 – 426.
- Ma, F., and Cheng, L. 2003. The sun-exposed peel of apple fruit has higher xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and antioxidants of the ascorbate-glutathione pathway than the shaded peel. *Plant Science* 165: 819 – 827.
- Maxwell, K., and Johnson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659 – 668.
- McCaskill, M.R., McClymont, L., Goodwin, I., Green, S., and Partington, D.L. 2016. How hail netting reduces apple fruit surface temperature: A microclimate and modelling study. *Agricultural and Forest Meteorology* 226: 148 – 160.
- Morandi, B., Zibordi, M., Losciale, P., Manfrini, L., Bastías, R. M., and Correlli Grappadelli, L. 2012. Apple and peach: a different role for fruit transpiration. *Acta Horticulturae* 932: 213 – 218.

- Naschitz, S., Naor, A., Sax, Y., Shahak, Y., Rabinowitch, H. D. 2015. Photo-oxidative sunscald of apple Effects of temperature and light on fruit peel photoinhibition, bleaching and short-term tolerance acquisition. *Scientia Horticulturae* 197: 5 – 16.
- Qiu, N., and Lu, C. 2003. Enhanced tolerance of photosynthesis against high temperature damage in salt-adapted halophyte *Atriplex centralasiatica* plants. *Plant Cell and Environment* 26: 1137 – 1148.
- Racsko, J., and Schrader, L. E. 2012. Sunburn of apple fruit. Historical background, recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences* 31: 455 – 504.
- Schrader, L. E. 2011. Scientific basis of a unique formulation for reducing sunburn of fruits. *Horticultural Science* 46: 6 – 11.
- Schrader, L. E., Kahn, C. B., Elfving, D. C. 2009. Sunburn browning decreases at-harvest internal fruit quality of apples (*Malus domestica* Borkh.) *International Journal of Fruit Science* 9: 425 – 437.
- Seo, J. H., Sun, J., Schrader, L., and Tian, J. 2008. Use of chlorophyll fluorescence to assess heat stress in apple fruit. *Acta Horticulturae* 772: 279 – 282.
- Solomakhin, A., and Blanke, M. M. 2010. Can coloured hailnets improve taste, consumer appeal and nutritional value of apple fruit? *LWT- Food Science and Technology* 43: 1277 – 1284.
- Torres, C. A., Andrews, P. K., and Davies, N. M. 2006. Physiological and biochemical responses of fruit exocarp of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) mutants to natural photo-oxidative conditions. *Journal Experimental Botany* 57: 1933 – 1947.
- Umanzor, C., Bastías, R. M., Wilckens, R., and Quezada, C. 2017. Influence of using of Pearl and Red nets on micro-climate conditions, fruit sun damage and fruit color development in ‘Gala’ and ‘Fuji’ apple orchards. *Revista Brasileira de Fruticultura* 39: 930 – 943.
- Wand, S. J. E., Steyn, W. J., and Theron, K. I. 2008. Vulnerability and impact of climate change on pear production in South Africa. *Acta Horticulturae* 800: 263 – 271.

Yuri, J. A., Lepe, V., Moggia, C., Bastias, R., and Bertschinger, L. 2004. Sunburn on apple. *Schweizer Zeitschrift Obstund Weinbau* 8: 7 – 10.

Zupan, A., Mikulic-Petkovsek, M., Slatnar, A., Stampar, F., and Verberic, R. 2014. Individual phenolic response and peroxidase activity in peel of differently sun-exposed apple in the period favorable for sunburn occurrence. *Journal of Plant Physiology* 171: 1706 – 1712.



III. CAPITULO 3: EL CONTROL DE QUEMADURA POR SOL CON MALLAS AFECTA DIFERENCIALMENTE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES EN LA PIEL DE FRUTOS EN MANZANOS 'GALA' Y 'FUJI'

Héctor Olivares-Soto^{1, 3}, Richard M. Bastías^{2*}, Arturo Calderón-Orellana², María Dolores López²

¹Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícola y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Tecmán, Colima, México.

²Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, Av. Vicente Méndez 595, Chillán, Chile.

*Corresponding author (ribastias@udec.cl).

³Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, Programa de Doctorado en Ciencias Agronómicas, Av. Vicente Méndez 595, Chillan, Chile.

Artículo enviado a revisión en la revista Horticulture, Environment, and Biotechnology.

3.1 ABSTRACT

Netting has been widely used in recent years to protect apple orchards from solar injury. There is little information regarding the biochemical aspects involved in the effectiveness of netting against sunburn in apples. The objective of this study was to quantify the effect of netting on the content of polyphenols, anthocyanins, and antioxidant activity in apples. Orchards of 'Gala' and 'Fuji' apples were covered in red and pearl nets (20 % shading), respectively. Uncovered trees served as control for the experiment. The spectral transmission characteristics of both nets were measured at a wavelength of 350 – 1700 nm. Variation of photosynthetically active radiation (PAR, $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), ultraviolet radiation (UV, $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$) and fruit surface temperature (FST, °C) were evaluated 20 to 175 days after flowering (DAF). Apples were harvested at maturity and classified into five categories: no sunburn (NS), slight (SB-1), slight-moderate (SB-2), moderate (SB-3) and severe sunburn (SB-4), which were then characterized using color variation CIE L*, a*, b*. For each category of sun damage, the content of total phenols ($\text{mg gallic acid}\cdot 100\text{g}^{-1}$), total anthocyanins ($\text{mg de cianidina-3-glucoside}\cdot 100\text{g}^{-1}$) and antioxidant capacity were determined using the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) method and the ferric ion-reducing antioxidant power (FRAP)

assay ($\mu\text{mol}\cdot\text{Trolox}\cdot 100\text{g}^{-1}$). Red netting increased red light (600 – 700 nm) compared to other wavelengths of the PAR spectrum. Both red and pearl nets reduced infrared transmission (900 – 1700 nm) by 8 %, which resulted in a decrease of 4 – 5 °C in FST. Similarly, PAR radiation was reduced 25 and 21 % on average, while reductions in UV radiation reached 29 and 25 % with red and pearl netting, respectively. In SB-3 and SB-4, sunburn decreased 15 % in ‘Gala’ under red netting, and only 4 % in ‘Fuji’ under pearl netting. In ‘Gala’, red netting significantly increased ($P < 0.05$) anthocyanin content and FRAP antioxidant capacity. Conversely, pearl netting significantly reduced ($P < 0.05$) the amount of polyphenols, anthocyanins and the FRAP antioxidant capacity in SB-4 of ‘Fuji’ apples. These results suggest that sun protection provided by netting would cause changes in the composition and antioxidant capacity of the fruit skin, whose response varies depending on the cultivar and type of net used.

3.2 INTRODUCCIÓN

La quemadura por sol es un desorden fisiológico en las manzanas que causa la decoloración de la superficie de la fruta y que afecta su aspecto visual en la cosecha y así como también su calidad interna en post-cosecha, debido a la inducción de alteraciones como lenticelosis, escaldado, partiduras y corazón acuoso (Felicetti y Schrader, 2009a; Racsko y Schrader, 2012). Este problema resulta en una importante merma económica para la industria de la manzana de Estados Unidos, Nueva Zelanda, Sudáfrica y Chile, y cuyas pérdidas económicas oscilan entre los 25 a los 100 millones de dólares anuales (Yuri et al., 2010; Racsko y Schrader, 2012). Si bien es cierto, la presencia de daño por sol se ve en mayor grado en regiones con niveles extremos de radiación solar y altas temperaturas, no se descarta que en el futuro este problema se presente en otras zonas productoras de manzanas del mundo, debido a los efectos del cambio climático global (Racsko y Schrader, 2012).

Se han identificado tres tipos de quemaduras por sol en manzanas: daño por sol por elevadas temperaturas con necrosis, daño por sol por combinación de altas temperaturas y radiación con bronceado en la epidermis (Schrader et al., 2009), y daño por exceso de radiación ultravioleta (UV, 280-400 nm) y visible (PAR, 400-700 nm). Todavía existe discusión respecto al umbral de temperatura que induce daño por sol

en manzanas. Wand et al. (2008) encontraron que de 42 a 47 °C en la piel del fruto fue fundamental para inducir síntomas de quemadura por sol en manzanas cultivadas en Sudáfrica. Del mismo modo, y dependiendo del cultivar, 46 a 49 °C fue necesaria para el desarrollo de daño por sol en manzanas cultivadas en Washington, EE. UU. (Schrader et al., 2009). Yuri et al. (2010) informó que la exposición de manzanas por cinco horas a 45 °C es suficiente para inducir daño por sol bajo las condiciones climáticas de Chile. Esta susceptibilidad diferencial estaría determinada por la intensidad de radiación visible/UV y que juegan un rol importante en la aparición del síntoma frente al incremento de la temperatura (Racsko y Schrader, 2012).

El fruto posee mecanismos naturales de protección contra las quemaduras por sol que incluye cambios en la conformación, grosor y composición de la capa de cera epicuticular (Wünsche et al., 2004a), síntesis de proteínas de choque térmico (Ferguson et al., 1998), cambios en la composición de pigmentos fotoprotectores, tales como antocianinas, flavonoles y ácidos fenólicos (Felicetti y Schrader, 2009a) y la síntesis de compuestos antioxidantes, tales como los tocoferoles (Yuri et al., 2010). Se ha observado que la piel del fruto expuesto a un exceso de radiación UV sufre una serie de cambios, entre ellos una degradación de la clorofila y la acumulación de cantidades adicionales de carotenoides y flavonoides. Por otra parte, las antocianinas son capaces de proporcionar foto-protección en este espectro de luz (Solovchenko y Schmitz-Eiberger, 2003). De igual modo, se ha observado cambios en la actividad de superóxido dismutasa específicos en cada cultivar durante el desarrollo de las quemaduras por sol (foto-oxidativo y broceado en la epidermis), encontrándose una mayor actividad superóxido dismutasa en la piel en el cultivar Fuji (Hao y Huang, 2004). A medida que se produce el daño por sol, la actividad de las enzimas antioxidantes ascorbato peroxidasa y así como concentraciones de metabolitos antioxidantes (ascorbato/ascorbato y glutatión) aumenta en la piel del fruto en cultivares como 'Gala' (Ma y Cheng, 2004). Estos resultados indican que la piel expuesta al sol puede mejorar su capacidad fotoprotectora para hacer frente a la quemadura (Chen et al., 2008), mientras que la concentración de antocianinas normalmente disminuye a medida que aumentaba la gravedad del daño por sol en manzanas (Felicetti y Schrader, 2008a).

El uso de mallas se ha adoptado en los huertos como práctica artificial de protección de quemaduras por sol, permitiendo reducir la intensidad de luz solar y la temperatura superficial de la fruta (FST), a través de su efecto sombra (Dussi et al., 2005; Schrader, 2011; Umanzor et al., 2017). Dependiendo del diseño y del color del material el uso de mallas puede alterar tanto la intensidad de la luz como también la composición de la luz solar transmitida (Bastías y Corelli-Grappadelli, 2012). Blanke (2009) encontró que la transmisión de la luz PAR a través de una malla transparente fue del 95 %, mientras que con malla negra fue de 78 %. En tanto, Amarante et al. (2011) reportaron una reducción de la PAR de un 18 % bajo malla blanca. Además de una reducción en la radiación solar incidente transmitida, el espectro de la luz puede alterarse bajo la malla; por ejemplo, las mallas de color verde y rojo transmiten 3 % más de luz verde y roja, respectivamente, sin alterar la relación rojo/rojo - lejano (Solomakhin y Blanke, 2010). Las mallas también alteran la FST, y en distinta magnitud dependiendo de las condiciones ambientales. Se ha reportado que la FST de manzanas bajo malla sombra era 5 a 9 °C inferior en los días con temperaturas máximas del aire de 34 a 37 °C, respectivamente (Gindaba y Wand, 2005). Cuando la temperatura del aire del mediodía era 30 a 32 °C, la FST fue, en promedio 5 °C más fría que las manzanas bajo la condición sin malla (Gindaba y Wand, 2008).

Aun cuando existe suficiente información sobre los cambios bioquímicos involucrados en la protección natural de frutos de manzanos a la quemadura por sol (Ferguson et al., 1998; Wünsche et al., 2004a; Felicetti y Schrader, 2009a; Yuri et al., 2010), poco se sabe sobre estos cambios bioquímicos frente a las condiciones ambientales que se originan bajo sistemas de protección artificial de daño por sol, como lo es el uso de mallas. El objetivo de esta investigación fue cuantificar los polifenoles y antocianinas totales, así como la actividad antioxidante que se produce en la piel de manzanas expuestas a las condiciones de radiación solar y temperatura que se generan en huertos de manzanos bajo mallas. Lo que se pretende es comprender de mejor manera los aspectos bioquímicos que hay detrás de la efectividad del uso de mallas en el control de daño por sol y además proporcionar información sobre el contenido de estos compuestos bajo esta condición particular de cultivo en manzanos.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1 Material vegetal y diseño experimental

Los experimentos se llevaron a cabo en la Estación Experimental “El Nogal” (36° 36' 21" S; 72° 06' 13" O), Universidad de Concepción, Chillan, Región del Ñuble, en huertos de manzanos con cultivares Gala y Fuji; estos fueron árboles de cinco años injertados en porta injertos M9 y plantados a una distancia de 3.5 x 1 m. Una vez que se completó la polinización (cuajado de frutos), se cubrieron parcelas de 40 árboles con pedazos de 185 m² de malla la que fue colocada a 2.5 m del suelo. Para el ensayo se empelaron mallas de color rojo y perla al 20 % de sombra (ChromatiNet, Polysack Industries, Negev, Israel). Estas mallas son utilizadas comercialmente por los productores de manzanas para ‘Gala’ y ‘Fuji’, respectivamente. El experimento fue conducido en un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones (parcelas) y con orientación norte-sur para cada repetición. El seguimiento de las distintas variables se llevó a cabo en un total de cinco árboles seleccionados al azar por cada parcela experimental.

3.3.2 Composición de la luz solar

Una muestra de cada tipo de malla de 1 x 1 m fue colocada a aproximadamente 1.5 m de altura para determinar la trasmisión espectral de la luz en el rango de longitud de onda de 350 - 1700 nm. Las mediciones de espectro de trasmisión se llevaron a cabo a pleno sol, al medio día y utilizando para ello un sistema espectro-radiómetro dual UV-VIS-IR modelos BLUE-Wave y DWARF-Star que estuvieron conectados a un sensor receptor de coseno CR² (StellarNet INC., Tampa FL, EE. UU.). Con la información generada se calculó la trasmisión de la luz en los rangos de Azul (A, 400 – 500 nm), Rojo (R, 600 – 700 nm) y Rojo Lejano (RL, 700 – 800 nm). Posteriormente, se cuantificaron parámetros lumínicos relacionados a la actividad de fitocromos y criptocromos, a través del cálculo de relaciones R/RL, A/R y A/RL, respectivamente (Bastías y Corelli-Grappadelli, 2012).

3.3.3 Condiciones micro-climáticas

Diez frutos expuestos al sol fueron elegidos al azar desde los cinco árboles seleccionados de cada bloque; los frutos se ubicaron en la posición suroeste de los árboles a una altura de 140 cm del suelo. A los 20, 40, 60, 80, 100 y 120 días después de plena floración (DDPF) en 'Gala' y a los 50, 75, 100, 125, 150 y 175 DDPF en 'Fuji' se midieron los siguientes parámetros en un momento del día (15 a las 17 h): radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); radiación ultravioleta (UV, W m^{-2}); y FST ($^{\circ}\text{C}$). Las mediciones de la incidencia de PAR fueron cuantificadas con un sensor quantum LI-189 (Licor, Lincoln, Nebraska, EE. UU.), las mediciones de radiación UV con un sensor MU-200 (Apogee Instruments Inc., Logan, EE. UU.) y de la FST con un radiómetro infrarrojo MI-200 (Apogee Instruments Inc., Logan, EE. UU.) y a una distancia de 0.1 m entre el fruto y el sensor.

3.3.4 Daño por sol y color de frutos

En la cosecha, la fruta total de los cinco árboles de cada réplica se clasificó visualmente para la incidencia del daño solar de acuerdo con una escala desarrollada por Schrader et al. (2003). Este sistema considera la clasificación de la fruta que va desde la ausencia de daño por sol (NB), daño leve (SB-1), daño medio-leve (SB-2), daño moderado (SB-3) y daño severo (SB-4) (Figura 14); la cantidad de fruta dañada se expresó como porcentaje. Una vez concluida la clasificación por categoría de daño por sol, se determinó la variación de coloración del lado dañado utilizando un colorímetro portátil CR-10 (Konica-Minolta Sensing Inc., Osaka, Japón). Para ello, se usó la escala internacional de CIE L^* , a^* , b^* (L^* : corresponden al grado de luminosidad (100: blanco; 0: negro); a^* : indica el grado de componente rojo o verde ($a^* > 0$: rojo; $a^* < 0$: verde) y b^* el grado de componente amarillo o azul ($b^* > 0$: amarillo $b^* < 0$: azul).



Figura 14. Categoría de daño por sol utilizada en manzanas 'Gala' y 'Fuji' desde la ausencia de daño (NB) hasta daño por sol severo (SB-4).

3.3.5 Compuestos fenólicos y actividad antioxidante

Para cada categoría de clasificación de la incidencia de daño por sol, se tomaron frutos y se lavaron con agua con cloro (0.150 g. L^{-1}), posteriormente se extrajo la cascara a través de un pelador de verdura de acero inoxidable hasta obtener una muestra de 5 gr (considerada como la zona epidérmica) del lado expuesto al sol de cada fruto. Todas las muestras se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que se realizaron los análisis. Las muestras fueron tratadas con una solución de agua/metanol/ácido fórmico (24:25:1) y se sonicó durante 60 min en la oscuridad. Se dejó reposar durante 24 horas, se volvió a sonicar, centrifugar y finalmente se extrajo el sobrenadante para su posterior análisis.

El contenido de fenoles totales se cuantificó por el método de Folin-Ciocalteu, este método cuantifica el poder reductor de los compuestos fenólicos sobre el reactivo Folin-Ciocalteu, mediante la formación de un complejo azul que se lee a la longitud de onda de 760 nm y según lo descrito por Ainsworth y Gillespie (2007). Los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra. El contenido total de antocianinas se cuantificó por el método de pH diferencial descrita por Giusti y Wrolstad (2003); la antocianina experimenta una transformación

reversible con los cambios de pH manifestado por un llamativo cambio en la absorbancia, que se lee a la longitud de onda entre 510 nm y 700 nm. Los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de cianidini-3-glucósido por 100 g de muestra. Para la evaluación de la capacidad antioxidante total, se usaron dos métodos; el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y por el método poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP). El método DPPH, se basa en la cuantificación de la eliminación de radicales libres con modificaciones. Este método depende de la reducción del radical DPPH (púrpura) a un difenilpirilhidracina de color amarillo que se lee a la longitud de onda de 515 nm y según lo descrito por Abdel-Hameed (2009). El método FRAP, se basa en la capacidad de los compuestos fenólicos de reducir moléculas de Fe^{+3} a Fe^{+2} , el cual forma un complejo azul con tripidil triazina (TPTZ) que se lee a la longitud de onda de 595 nm, según el protocolo descrito por Benzie y Strain (1996) y los resultados se expresaron en μ mol de trolox por 100 g de muestra. Todas las mediciones de absorbancia, según la longitud de onda, se realizaron por triplicado y utilizando un espectrofotómetro UV-VIS (Orion AquaMate 8000, Chelmsford MA, EE. UU.).

3.3.6 Análisis estadístico

Los datos obtenidos en cada bloque fueron sometieron a un ANOVA a un nivel de significancia de $P < 0.05$. Los valores, expresados como porcentaje, fueron normalizados mediante la fórmula de arcoseno $\sqrt{(x/100)}$. El coeficiente de correlación lineal se realizó con un nivel de significación de ($P < 0.05$). Todos los análisis se realizaron con el software estadístico SAS (Versión 9.1, SAS Institute, Cary, Carolina del Norte, EE. UU.). Los análisis de regresión lineal se realizaron con el software Numbers (Números IOS 10, Apple Inc., California, EE. UU.) y con un nivel de significancia de $P < 0.05$.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Composición de la luz solar

La transmisión espectral de la luz tanto en la malla roja como la malla perla fue variable, en los huertos de 'Gala' y 'Fuji', respectivamente. Las mallas no afectaron la

relación de luz roja/roja-lejana de la actividad del fitocromo, pero la malla roja incrementó la proporción de radiación transmitida en el espectro de luz roja (600 – 700 nm) respecto a la luz azul (400 – 500 nm), reduciendo las relaciones A/R y A/RL, de actividad del criptocromo (Figura 15; Tabla 1). Ambas mallas redujeron en 5 % la cantidad de radiación transmitida en el espectro infra-rojo (900 – 1700 nm), respecto a la condición sin malla (Figura 16).

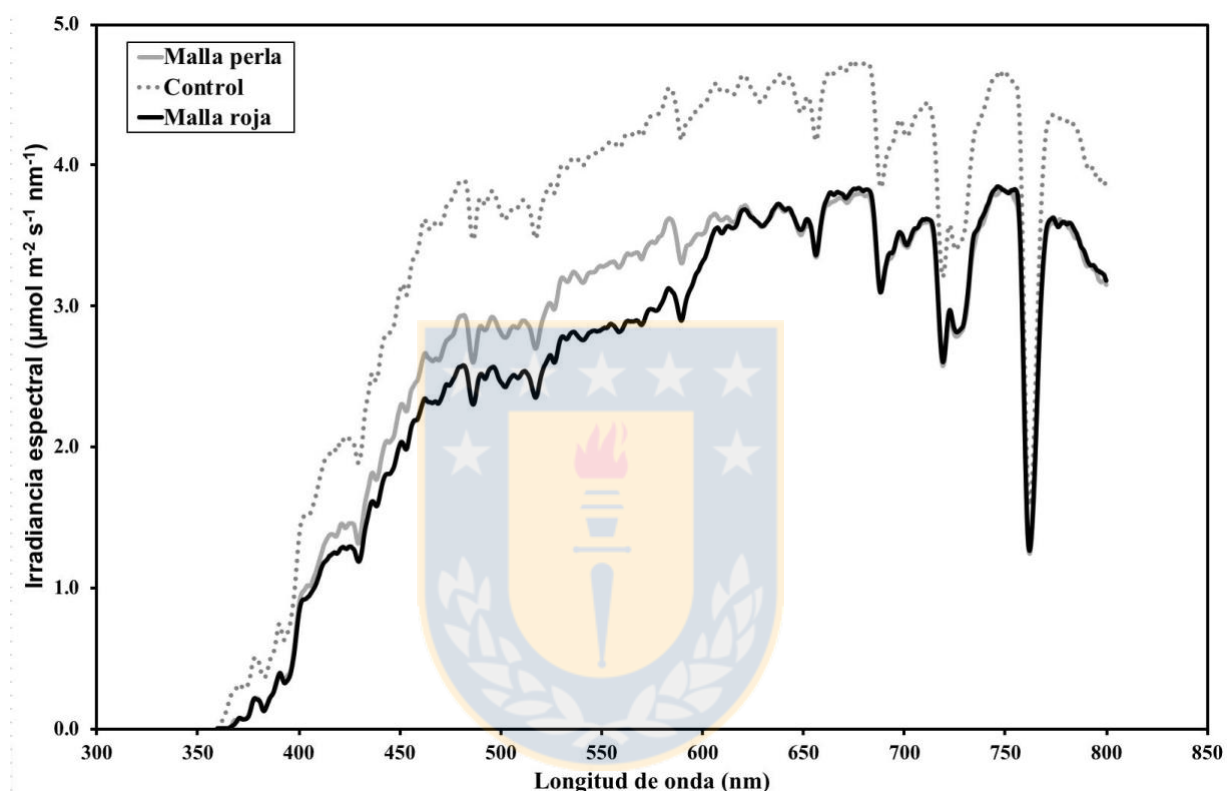


Figura 15. Transmisión espectral de la luz solar en el rango UV-VIS-FR bajo malla roja, perla y sin malla (pleno sol).

Tabla 1. Parámetros de espectro de luz estimados en mallas roja y perla.

Parámetros	Tipo de Malla		
	Malla perla	Control	Malla roja
Relación			
R/FR	1.10	1.13	1.10
A/R	0.58	0.64	0.52
A/FR	0.64	0.72	0.57

R/FR = relación luz roja (600 – 700 nm) / roja lejana (700 – 800 nm); A/R = relación luz azul (400 – 500 nm) / roja (600 – 700 nm); A/FR = relación luz azul (400 – 500 nm) / roja lejana (700 – 800 nm).

3.4.2 Condiciones micro-climáticas

La malla roja como la de color perla redujeron significativamente ($P < 0.05$) la transmisión de radiación PAR y UV, en los huertos de 'Gala' y 'Fuji', respectivamente (Figura 17). La capacidad de transmisión de luz PAR y UV por parte de las mallas fue variable durante los diferentes periodos de desarrollo de la fruta. Considerando todo el periodo entre 20 – 120 DDPF para el huerto de 'Gala', la malla roja redujo en promedio la transmisión de PAR en 25 % y de la UV en 29 % (Figuras 17A y 17C), mientras que para el huerto de 'Fuji' y desde 50 – 150 DDPF este valor con la malla perla fue de 21 % para la PAR y de 25 % para la UV (Figuras 17B y 17D).

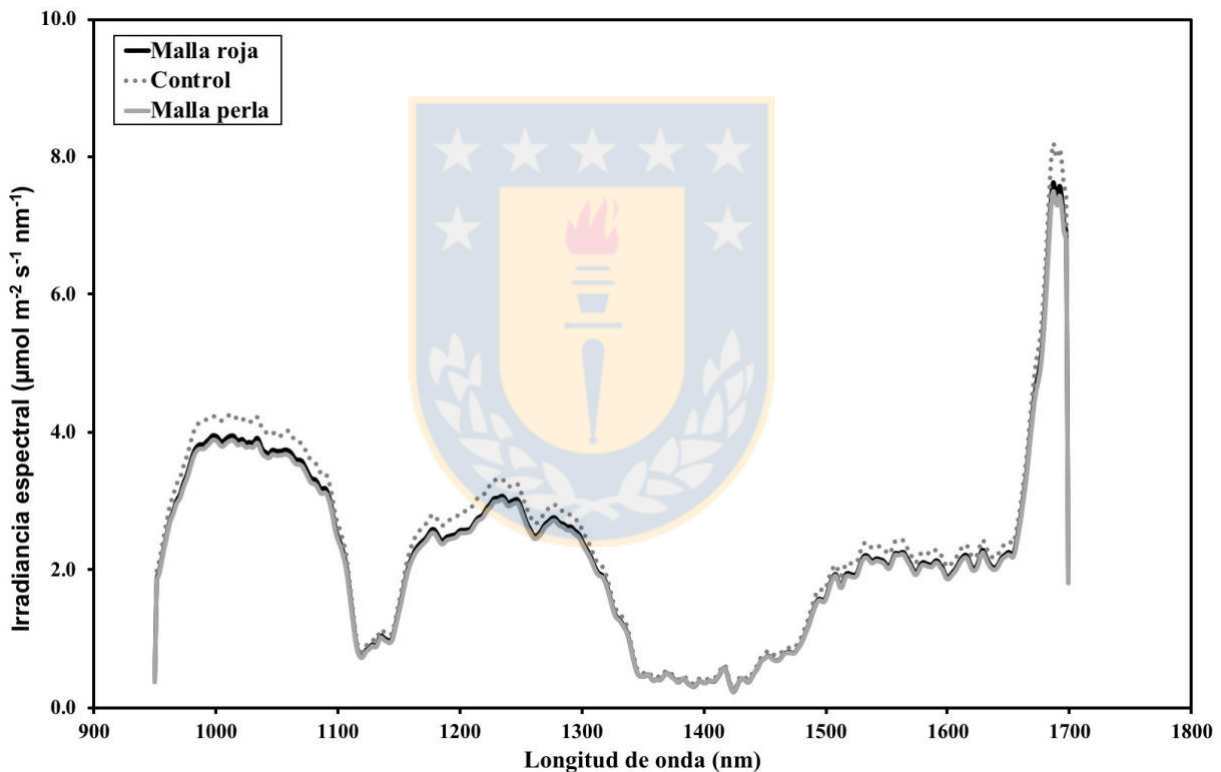
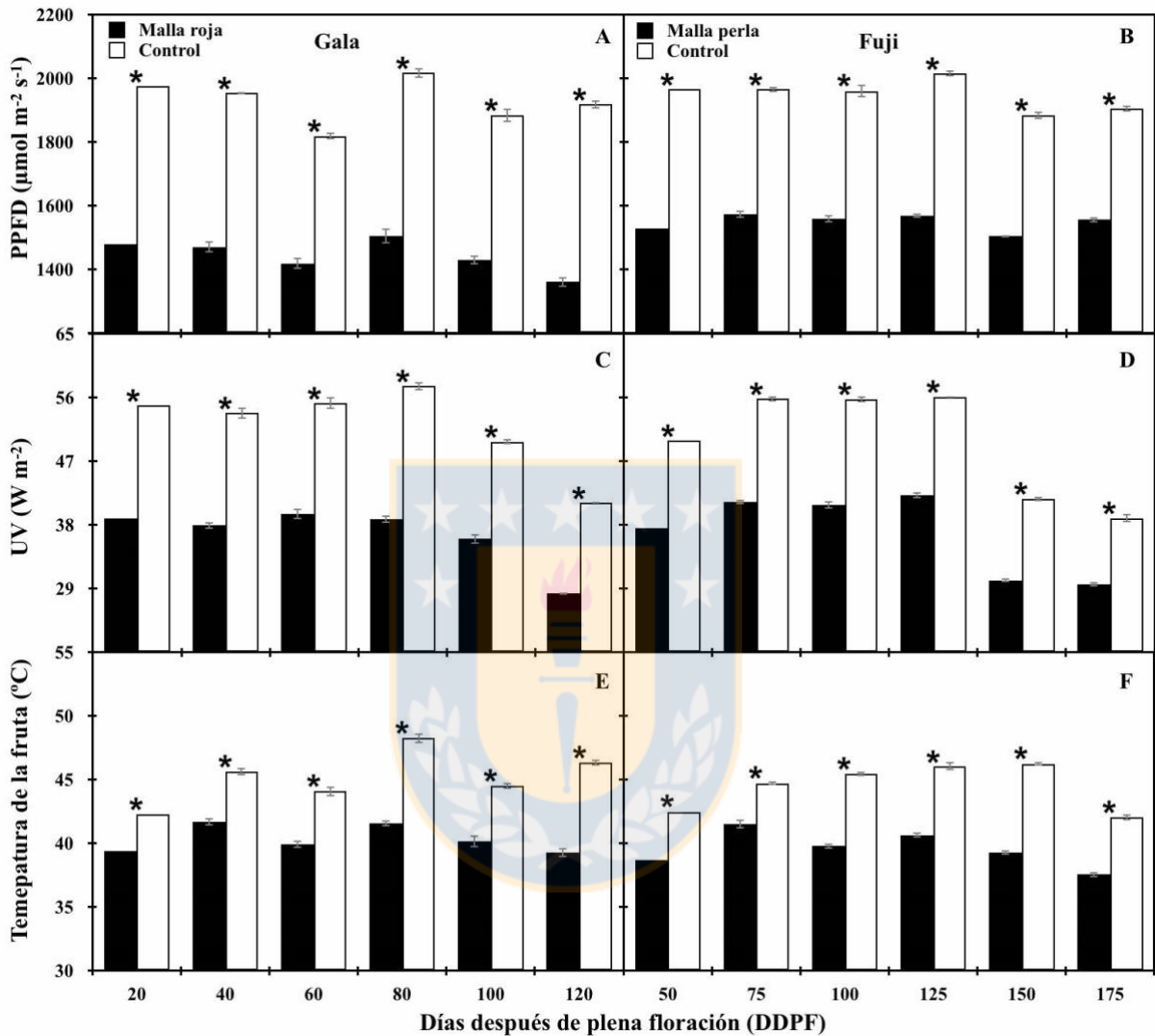


Figura 16. Transmisión espectral de la luz solar en el rango IR bajo malla roja, perla y sin malla (pleno sol).

En cuanto al efecto de las mallas sobre la temperatura del fruto, la FST medida para 'Gala' bajo malla roja desde los 20 – 120 DDPF fue para esos periodos del día en promedio 5 °C inferior en comparación con el control, sin malla (Figura 17E), mientras

que en la FST diaria fue en promedio para 'Fuji', 4 °C inferior bajo malla perla en comparación con el control (Figura 17F).



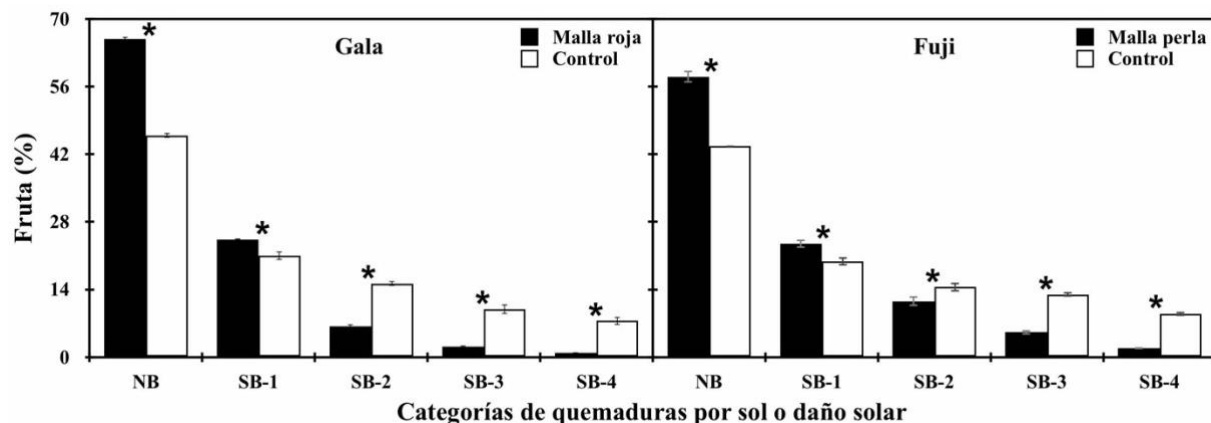
*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 17. Densidad de flujo de fotones fotosintéticamente activos (PPFD), radiación ultravioleta (UV) (C y D) y temperaturas en la superficie de la fruta (FST) (E y F) medida en manzanos 'Gala' y 'Fuji' bajo malla roja, perla y sin malla (control).

3.4.3 Quemadura por sol y color de frutos

Ambas mallas (roja y perla) redujeron significativamente la cantidad de fruta dañada por quemadura de sol (Figura 18). En comparación al control sin malla, el daño por sol en las categorías de SB-2, SB-3 y SB-4 (Figura 14) fue reducido en 15 % en

‘Gala’ con malla roja y solo en 4 % en ‘Fuji’ con malla perla. No se apreció efecto del tipo de malla en el daño por sol de la categoría SB-1 (Figuras 14 y 18).

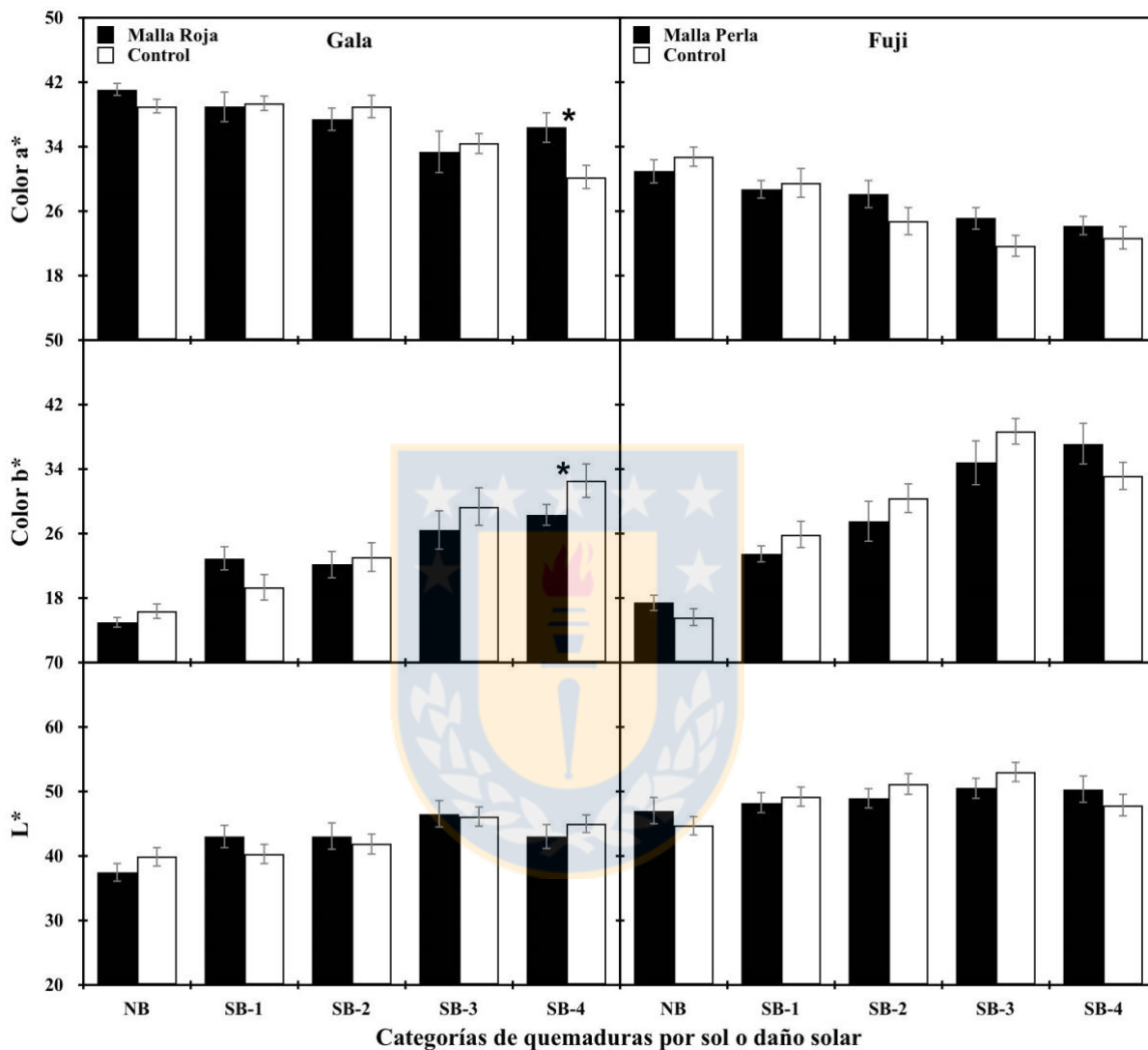


*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 18. Incidencia de quemadura de sol en frutos de manzanos ‘Gala’ y ‘Fuji’ cubiertas con malla roja, perla y sin malla (control), según categoría desde ausencia de daño por sol (NB) hasta daño por sol severo (SB-4).

Los datos obtenidos del análisis colorimétrico en los frutos no mostraron diferencias significativas de los parámetros L^* , a^* , b^* entre los tratamientos ($P < 0.05$) tanto en ‘Gala’ como en ‘Fuji’ (Figura 19). Solo en el cultivar Gala el valor de los parámetros a^* y b^* presentan diferencias ($P < 0.05$) en la categoría del daño por sol del tipo SB-4. En ‘Fuji’, en cambio, estas diferencias fueron menos marcadas que en ‘Gala’. No obstante, si se apreció una relación significativa entre los parámetros a^* y b^* con el nivel de daño por sol según la categoría. Al realizar un análisis de regresión lineal ($P < 0.05$) de las variables descritas anteriormente, podemos percibir que la variación en los valores de a^* para ‘Gala’ estaba inversamente relacionada con la variación en la escala de clasificación en la incidencia de daño por sol, revelando así una tendencia acreciente como a medida que aumenta la cantidad de frutos sin daño por sol (NB) ($R^2 = 0.44$; $P < 0.05$) (Figura 20A). Esta correlación también se encontró cuando se analizaron los datos de ‘Fuji’ ($R^2 = 0.60$; $P < 0.05$) (Figura 20B). Al realizar la correlación con los valores de b^* para ‘Gala’ estaba inversamente relacionada con la variación en la escala de clasificación en la incidencia de daño por sol, revelando así una tendencia decreciente como a medida que aumenta la cantidad de frutos sin daño por sol (NB) ($R^2 = 0.67$; $P <$

0.05) (Figura 20C). Esta correlación también se encontró cuando se analizaron los datos de 'Fuji' ($R^2 = 0.78$; $P < 0.05$) (Figura 20D).



*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 19. Parámetros de color (L^* , a^* y b^*) en frutos de manzanos 'Gala' y 'Fuji' cubiertas con malla roja, perla y sin malla (control), según categoría desde ausencia de daño por sol (NB) hasta daño por sol severo (SB-4).

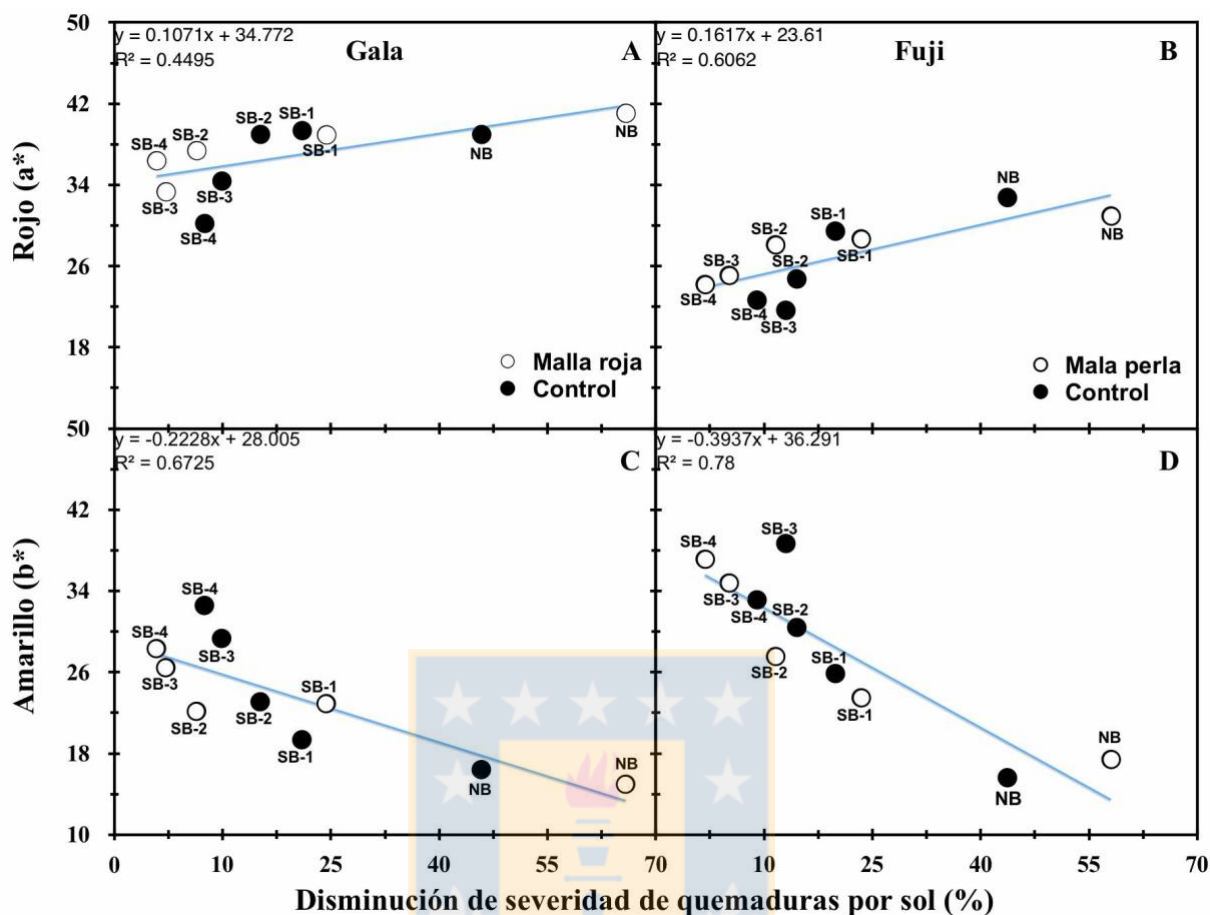


Figura 20. Relación entre parámetros de color (a^* y b^*) en frutos de manzanos ‘Gala’ (A y C) y ‘Fuji’ (B y D) cubiertas con malla roja, perla y sin malla (control), según categoría desde ausencia de daño por sol (NB) hasta daño por sol severo (SB-4).

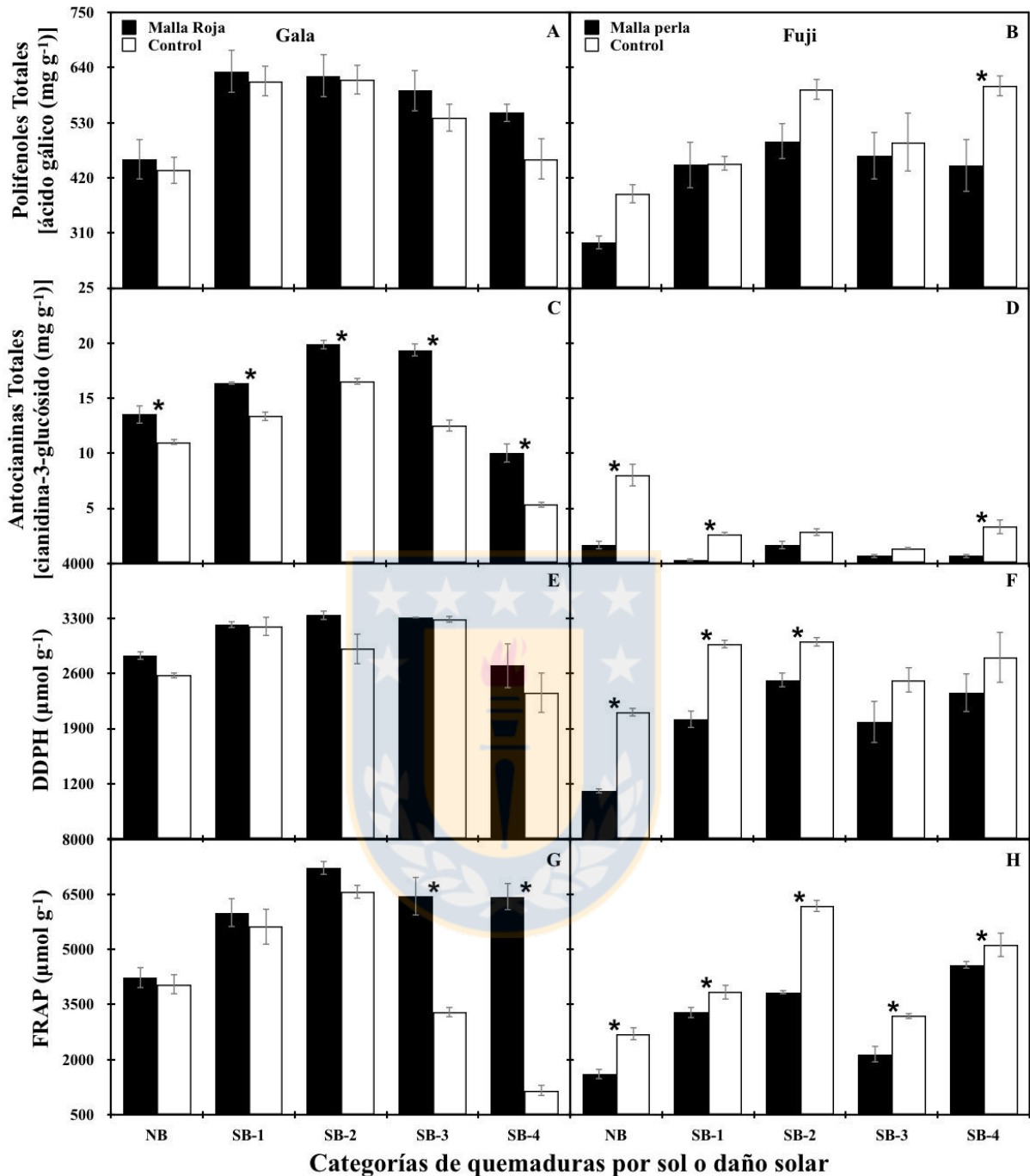
3.4.4 Compuestos fenólicos y actividad antioxidante

La cantidad de polifenoles totales ($\text{mg ácido gálico } 100\text{g}^{-1}$) no se vio afectado significativamente por el uso de malla roja en ‘Gala’ y para los distintos tipos de daño por sol (Figura 21A). En ‘Fuji’ se observó que para la fruta con daño por sol en la categoría del daño SB-4 la malla perla redujo significativamente y en 26 % la cantidad de polifenoles totales (Figura 21B).

En el caso del contenido de antocianinas totales ($\text{mg de cianidina-3-glucósido } 100\text{g}^{-1}$) este si se vio afectado significativamente por el tratamiento con malla para ambos cultivares. En el cultivar Gala, el uso de malla roja incrementó significativamente y en promedio en 27 % el contenido de antocianinas totales, tanto en frutos sanos como en todas las categorías de fruta con daño por sol (Figura 21C).

A diferencia de 'Gala' en el cultivar Fuji el uso de malla perla disminuyó el contenido de antocianinas totales en comparación al tratamiento sin malla (control). Esta reducción de antocianinas fue significativa para las categorías de fruta sin daño NB con 79 %, daño del tipo SB-1 con 87 % y daño del tipo SB-4 con 79 % (Figura 21D).

La capacidad antioxidante ($\mu\text{mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$) medida con el método DPPH no se vio significativamente alterada por efecto del uso de malla roja en el cultivar 'Gala'. En manzanas 'Fuji', en cambio, el uso de malla perla redujo la capacidad antioxidante DPPH de la fruta, siendo estas diferencias estadísticamente significativas en las categorías de fruta sana NB, daño por sol del tipo SB-1 y daño por sol del tipo SB-2, cuyos valores de reducción fueron de 47 %, 32 % y 16 %, respectivamente (Figura 21F). La capacidad antioxidante medida con el método FRAP ($\mu\text{mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$) en manzanas 'Gala' fue mayor bajo el tratamiento con malla roja, siendo esta diferencia significativa en la fruta de las categorías de daño por sol SB-3 y del tipo SB-4, con valores de 48 % y 82 % superior en la capacidad antioxidante y con relación al control sin malla (Figura 21G). En 'Fuji' se presentó lo contrario que en 'Gala'. En este cultivar la capacidad antioxidante por el método FRAP disminuyó por efecto del uso de malla perla, siendo significativa y en promedio 27 % inferior al tratamiento sin malla (control) en las cinco categorías de daño por sol (Figura 21H).



*: Significativo a $P < 0.05$.

Figura 21. Polifenoles totales (A y B), antocianinas totales (C y D) y capacidad antioxidante DPPH (E y F) y FRAP (G y H) en frutos de manzanos ‘Gala’ y ‘Fuji’ cubiertas con malla roja, perla y sin malla (control), según categoría desde ausencia de daño por sol (NB) hasta daño por sol severo (SB-4).

3.5 DISCUSIÓN

Nuestros resultados confirman que la protección artificial de la fruta del daño por sol con mallas se encuentra estrechamente ligado a reducción en la intensidad de luz solar y de la FST, a través de su efecto sombra (Dussi et al., 2005; Schrader, 2011; Umanzor et al., 2017). Además, demuestra que el color de malla afecta diferencialmente la composición de la luz solar transmitida, tal como fue indicado previamente por otros autores (Blanke, 2007; Bastías y Corelli-Grappadelli, 2012). La malla roja y perla redujeron con distinta intensidad la cantidad de PAR y con diferencias del 4 % (Figura 17). Estas diferencias son concordantes a las observadas en previos estudios en que la trasmisión de luz PAR varió en rangos de 4 – 9 % entre diferentes colores de malla (Blanke, 2007). Al analizar las características de transmisión de luz espectral de las mallas (Figura 15) se demostró que con el uso de malla roja (utilizada en el huerto ‘Gala’) se produjo una disminución de la transmisión de la radiación entre los 400 – 600 nm de longitud de onda, lo que no fue observado en la malla perla (utilizada en el huerto ‘Fuji’). Estas diferencias en la transmisión espectral por efecto del color de las mallas también ha sido reportado en estudios previos (Blanke, 2007; Bastías y Corelli-Grappadelli, 2012; Umanzor et al., 2017) y explicarían la menor intensidad de PAR encontrada en huertos cubiertos con malla roja (Figura 17).

La malla redujo la FST en promedio 4 °C que equivale en 10 % la disminución en ‘Gala’ y de 5 °C que equivale en 11 % la disminución en ‘Fuji’ (Figuras 17E y 17F), por lo que las diferencias en la FST podrían explicarse por diferencias en la PAR transmitida entre mallas como lo informaron Iglesias y Alegre (2006). Conviene destacar que ambas mallas (roja y perla) redujeron en 5 % la cantidad de radiación solar en el espectro infra-rojo (Figura 16), lo que también estaría explicando el efecto de las mallas en la reducción de la FST, pues este tipo de radiación también determina la temperatura que alcanza la fruta a pleno sol (Racsco y Schrader, 2012).

El efecto del componente de luz UV no debe descartarse, pues según nuestros resultados las mallas utilizadas reducen entre 25 % - 29 % la radiación UV en comparación con la condición sin malla (Figuras 17C y 17D). En esta investigación la malla roja utilizada en ‘Gala’ redujo en mayor proporción la UV en comparación a la malla perla empleada en ‘Fuji’. Estas diferencias en transmisión UV no pueden

explicarse por los cambios en la transmisión de radiación espectral (Figura 15), pues el rango en que se midió este tipo de luz comprendió solo el espectro UV-A (350 – 400 nm), y no en el rango UV-B (280 – 320 nm), que es más comúnmente asociado a la incidencia de daño por sol en manzanas (Racsko y Schrader, 2012).

Teniendo en cuenta el efecto en la reducción de la PAR, FST y la UV bajo malla, se presentó un menor daño por sol en la fruta, pero con distinto grado de efectividad dependiendo del tipo de cultivar. La cantidad de fruta con daños tipo SB-2, SB-3 y SB-4 fue 10% más alta en 'Fuji' bajo malla perla que en 'Gala' bajo malla roja (Figuras 14 y 18), lo que indica la mayor sensibilidad de este cultivar al daño por sol como se ha descrito anteriormente (Amarante et al., 2011). Sin embargo, no puede descartarse que el color de la malla pueda tener también influencia en su efecto sobre el daño por sol; la malla roja redujo en forma más efectiva la cantidad de luz PAR y UV respecto a la malla perla (Figuras 15 y 17). Esto indica que, además de una diferencia de FST entre 4 a 5 °C entre la epidermis de fruta expuesta a la condición con y sin malla, el uso de malla también ejerce un efecto en la reducción de daño por sol a través de cambios en los componentes de la luz solar PAR y UV. Estos antecedentes están en concordancia con estudios previos que demuestran que la cantidad de luz PAR y UV contribuyen sustancialmente a la evolución de daño por sol en la epidermis del fruto de manzana, debido a que los fotones en este espectro de luz tienen el potencial de inducir foto-inhibición o dañar las macromoléculas, incluyendo el ADN y para poner en peligro las células de la epidermis del fruto a procesos de fotooxidación (Zupan et al., 2014; Olivares-Soto y Bastías, 2018).

Si bien es cierto el efecto positivo de las mallas evaluadas en el control daño por sol pueden ser explicado por diferencias de transmisión de PAR, UV y de FST, los aspectos cuantitativos y bioquímicos que subyacen a tales diferencias no han sido comprendidos en su totalidad en manzanas. Racsko y Schrader (2012) mencionan que los cambios cuantitativos en el color de la piel de los frutos están directamente relacionados con la ocurrencia y gravedad de daño por sol. En ambos cultivares 'Gala' y 'Fuji' se mostró una disminución en el parámetro a^* (enrojecimiento) y un aumento en el parámetro b^* (amarillamiento) hacia el aumento en la incidencia y severidad del daño por sol, lo que fue estrechamente correlacionado al grado de severidad de daño

por sol en la fruta, pero sin observar diferencias en estos parámetros por efecto del uso de mallas (Figuras 19 y 20). Felicetti y Schrader (2008b) demostraron que el primer signo visible del daño por sol en la epidermis en las manzanas 'Fuji' es un color amarillento producto de una reducción en el contenido de pigmentos verdes (clorofila) y rojos (antocianinas), y del aumento en pigmentos amarillos (carotenoides). Dependiendo de los cultivares, la disminución de la acumulación de clorofilas y antocianinas en la piel dañada por el sol induce que pigmentos amarillos como carotenoides y glucósidos de quercetina se hagan más visibles en la fruta. Por otra parte, el aumento de los glucósidos de quercetina y carotenoides promueven una mayor decoloración en la piel de la manzana (Felicetti y Schrader, 2008b). En 'Gala' y en relación con el control (sin malla) la malla roja incrementó la cantidad de antocianinas en los frutos con mayor grado de severidad de daño por sol (SB-4), contrario a lo ocurrido con 'Fuji' en que la malla perla disminuyó la síntesis de este pigmento en frutos con el mismo grado de daño (Figura 21). Si se considera que el uso de malla roja redujo en forma más efectiva el daño por sol en 'Gala'; estos resultados indicarían que el aumento de antocianinas bajo esta malla y cultivar ofrece una mayor foto-protección a la manzana a dañarse por sol, como ha sido descrito anteriormente (Schrader et al., 2001). La diferencia en la respuesta entre los cultivares 'Gala' y 'Fuji' a la síntesis de antocianinas puede deberse a condiciones de luz bajo mallas. El daño por sol en la piel del fruto se ha correlacionado con la disminución de las concentraciones de antocianinas (Felicetti y Schrader, 2008a; 2009ab), por tanto, la disminución del daño por sol con el uso de malla roja explica en cierta medida su efecto sobre el incremento de antocianinas en 'Gala'. Por otra parte, la malla roja incrementó la proporción de luz roja en relación con las otras longitudes de onda en el espectro de luz PAR, especialmente el azul (Figura 15), lo que podría promover una mayor síntesis de antocianinas y como fue indicado en trabajos previos y en que se estudió este componente de la luz sobre la síntesis de antocianinas en manzanas (Arakawa et al., 1985; Arakawa, 1988). A diferencia de 'Gala' el cultivar 'Fuji' ha sido descrito como una variedad altamente exigente en luz para la inducción de síntesis de antocianinas en el fruto (Japokic et al., 2007), lo que explicaría la reducción de este pigmento bajo malla perla, la cual disminuyó tanto la disponibilidad de luz PAR como UV en el huerto (Figura

17). Finalmente, la FST también podría estar explicando estas diferencias, en donde se tienen reportes de una mayor acumulación de antocianinas en manzanas con FST de 20 °C, siendo óptima a baja temperatura (15 - 20 °C), mientras que las temperaturas más altas inhiben la síntesis de antocianinas y el desarrollo del color rojo (Arakawa, 1991; Arakawa et al., 2016). Nuestros resultados muestran que en ambos cultivares y con ambos tipos mallas se redujo significativamente la FST, por lo que este argumento estaría explicando solo los resultados obtenidos en 'Gala' bajo malla roja.

Se debe considerar también la diferencia de la susceptibilidad a daño por sol entre cultivares y que podría ser función de la composición bioquímica de pigmentos en la piel de la fruta (Wünsche et al., 2004b). En este sentido, esta investigación demuestra que, independiente de la malla, los frutos de 'Gala' presentan un mayor contenido de antocianinas y fenoles totales en relación a 'Fuji' (Figura 21), lo que puede ser determinante en las diferencias de susceptibilidad a daño por sol, considerando que estos compuestos tienen gran importancia por la neutralización de radicales libres y propiedades biológicas de foto-protección de la piel de la manzana al daño por exceso de radiación (Merzlyak et al., 2008). En 'Gala', no se encontraron diferencias en la cantidad de polifenoles totales al comparar la condición sin malla y con malla (Figura 21A). En 'Fuji' la fruta expuesta a la condición sin malla presentó niveles más altos en la concentración de polifenoles totales para la categoría del daño por sol de mayor severidad, SB-4 (Figura 21B). Estos resultados concuerdan con otros autores y quienes encontraron un aumento notable en la concentración de polifenoles en la piel de la manzana al aumentar el nivel de daño por quemadura por sol del tipo bronceado y en las escalas de daño desde SB-1 a SB-4 (Felicetti y Schrader, 2008a). Por otra parte, Yuri et al. (2000) encontraron una mayor actividad la enzima polifenol oxidasa en manzanas 'Granny Smith' con daño por sol, siendo un indicativo de la mayor cantidad de fenoles que se oxidan en manzanas con este daño. Los compuestos fenólicos son antioxidantes potentes, que eliminan directa o indirectamente las especies de oxígeno reactivo (ROS) y especies de radicales libres (Ricé-Evans et al., 1997), y complementan la función de hacer frente al daño por sol (Solovchenko y Merzlyak, 2008), además de potencial su color en los frutos (en el caso de las antocianinas) (Di Matteo et al., 2017). La menor concentración de estos compuestos

en manzanas 'Fuji' bajo malla perla se explica, al igual que las antocianinas, por la disminución de condiciones estresantes de radiación PAR y UV que se generan al usar esta malla y en este cultivar.

La capacidad antioxidante de la fruta medida por el método DPPH y FRAP también varió entre cultivares y tipos de mallas. En 'Gala' no se apreció diferencia significativa en la capacidad antioxidante DPPH entre los tratamientos con y sin malla (Figura 21G), mientras que la actividad antioxidante por el método FRAP se vio incrementada por el uso de malla en este cultivar y para los frutos con el grado de daño por sol del tipo SB-3 y SB-4 (Figura 21G). Contrariamente, en 'Fuji' el uso de malla redujo la capacidad antioxidante DPPH para la fruta sin daño por sol y con daño del tipo SB-1 y SB-2 (Figura 21H), mientras que en este cultivar la capacidad antioxidante FRAP se redujo significativamente por el uso de malla, tanto en fruta sana como en todas las categorías de daño por sol. Johnson et al. (1999) sugirieron que existe una estrecha relación entre el incremento de compuestos antioxidantes y el desarrollo de quemadura por sol en manzanas. En la piel de las manzanas creciendo a la sombra, y con posterior y repentina exposición al sol, se ha observado un incremento importante de enzimas que participan en el complejo antioxidante de la fruta (Ma y Cheng, 2003), lo que explicaría la mayor capacidad antioxidante de frutos de 'Fuji' que crecieron sin malla y totalmente expuestos al sol. En este mismo sentido, Hao y Huang (2004) encontraron una mayor actividad antioxidante en manzanas quemadas por el sol del tipo de daño foto-oxidativo y del tipo bronceado, y que explicarían también el incremento de la actividad antioxidante observada en frutos de 'Fuji' que crecieron sin malla y totalmente expuestos al sol. El hecho de que la piel de manzanas 'Gala' afectada por daño del tipo SB-3 y SB-4 presentara una mayor capacidad antioxidante FRAP podría explicarse por la mayor concentración de antocianinas (Figura 21C), teniendo en cuenta que cada compuesto fenólico (incluida las antocianinas) contribuye a la actividad antioxidante total de manera diferente, dependiendo del número de hidroxilaciones y metoxilaciones en sus anillos aromáticos (Rice-Evans et al., 1997). Además, no se descarta que otros compuestos distintos de los polifenoles podría estar contribuyendo a la capacidad antioxidante, tales como el ácido ascórbico (vitamina C) (Hernández-Herrero y Frutos, 2014) el que también se ha visto modificado en

manzanas cultivadas bajo mallas, incluso variando en su concentración dependiendo del color de la malla (Solomakhin y Blanke, 2010).

3.6 CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que la protección de daño por sol en manzanas a través de mallas estaría relacionada a cambios en la composición y capacidad de antioxidantes en la piel de la fruta, y cuya respuesta varía dependiendo del cultivar y tipo de malla empleado.

En 'Gala' el uso de malla roja promovería mecanismos antioxidantes de fotoprotección de la fruta al daño por sol, mientras que en 'Fuji' el uso de malla perla estaría inhibiendo estos mecanismos antioxidantes en la fruta, debido a la reducción en las condiciones de radiación solar estresante.

Adicionalmente, los resultados indican que las condiciones ambientales particulares que se generan en huertos cultivados bajo mallas afectan el valor nutricional (antocianinas y antioxidantes) de la manzana, cuyo impacto sobre gustos y preferencias del consumidor debería ser evaluado en futuros trabajos de investigación.

3.7 REFERENCIAS

- Abdel-Hameed, E.S. 2009. Total, phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. *Food Chemistry* 114: 1271 – 1277.
- Ainsworth, E.A., Gillespie, K. M. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols* 2: 875 – 877.
- Amarante, C. V. T., Steffens, C. A., y Argenta, L. C. 2011. Yield and fruit quality of 'Gala' and 'Fuji' apple trees protected by white anti-hail net. *Scientia Horticulturae* 129: 79 – 85.
- Arakawa, O. 1988. Photoregulation of anthocyanin synthesis in apple fruit under UV-B and Red light. *Plant Cell Physiology* 29: 1385 – 1389.

- Arakawa, O. 1991. Effect of temperature on anthocyanin accumulation in apple fruits as affected by cultivar, stage of fruit ripening, and bagging. *Journal Horticultural Science* 66: 763 – 768.
- Arakawa, O., Hori, Y., Ogata, R. 1985. Relative effectiveness and interaction of ultraviolet-B, red and blue light in anthocyanin synthesis of apple fruit. *Plant Physiology* 64: 323 – 327.
- Arakawa, O., Kikuya, S., Pungpomin, P., Zhang, S., Tanaka, N. 2016. Accumulation of anthocyanin in apples in response to blue light at 450nm: recommendations for producing quality fruit color under global warming. *Journal Horticultural Science* 81: 297 – 302.
- Bastías, R. M., Corelli-Grappadelli, L. 2012. Light quality management in fruit orchards: Physiological and technological aspects. *Chilean Journal of Agricultural Research* 72: 574 – 581.
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”; the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70 – 76.
- Blanke, M. M. 2007. Farbige Hagelnetze: Ihre Netzstruktur sowie Licht- und UV-Durchlässigkeit bestimmen die Ausfärbung der Apfelfrüchte. *Ewerbs-Obstbau* 49: 127 – 139.
- Blanke, M. M. 2009. The structure of coloured hair nets affects light transmission, light spectrum, phytochrome and apple fruit colouration. *Acta Horticulturae* 817: 177 – 184.
- Chen, L-S., Li, P., and Cheng, L. 2008. Effects of high temperature coupled with high light on the balance between photooxidation and photoprotection in the sun-exposed peel of apple. *Planta* 228: 745 – 756.
- Di Matteo, A., Russo, R., Graziani, G., Ritieni, A., Di Vaio, C. 2017. Characterization of autochthonous sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.) of southern Italy for fruit quality, bioactive compounds and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97: 2782 – 2794.

- Dussi, M. C., Giardina, G., Sosa, D., Gonzalez Junyent, R., Zecca, A., y Reeb, P. 2005. Shade nets effect on canopy light distribution and quality of fruit and spur leaf on apple cv. 'Fuji'. *Spanish Journal of Agricultural Research* 3: 253 – 260.
- Felicetti, D. A. y Schrader, L. E. 2008a. Changes in pigment concentrations associated with the degree of sunburn browning of 'Fuji' apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133: 27 – 34.
- Felicetti, D. A. y Schrader, L. E. 2008b. Photooxidative sunburn of apples: Characterization of a third type of apple sunburn. *International Journal of Fruit Science* 8(3): 160 – 172.
- Felicetti, D. A. y Schrader, L. E. 2009a. Changes in pigment concentrations associated with sunburn browning of five apple cultivars. I. Chlorophylls and carotenoids. *Plant Science* 176: 78 – 83.
- Felicetti, D. A. y Schrader, L. E. 2009b. Changes in pigment concentrations associated with sunburn browning of five apple cultivars. II. Phenolics. *Plant Science* 176: 84 – 89.
- Ferguson, I. B., Snelgar, W., Lay Yee, M., Watkins, C. B., and Bowen, J. H. 1998. Expression of heat shock protein genes in apple fruit in the field. *Austral. Journal of Plant Physiology* 25: 155 – 163.
- Gindaba, J. y Wand, S.J.E. 2005. Comparative effects of evaporative cooling, kaolin particle film, and shade net on sunburn and fruit quality in apples. *Horticulture Science* 40: 592 – 596.
- Gindaba, J. y Wand, S.J.E. 2008. Comparison of climate ameliorating measures to control sunburn on 'Fuji' apples. *Acta Horticulturae* 772: 59 – 64.
- Giusti, M. M., Wrolstad, R. E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal* 14:217 – 225.
- Hao, Y-Y. y Huang, W-D. 2004. Changes in antioxidative system and cell ultrastructure in the fruit peels of apple during sunburn development. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology Biol.* 30: 19 – 26.

- Hernández-Herrero, J. A., Frutos, M. J. 2014. Colour and antioxidant capacity stability in grape, strawberry and plum peel model juices at different pHs and temperatures. *Food Chemistry* 154: 199 – 204.
- Iglesias, I., and Alegre, S. 2006. The effect of anti-hail nets on fruit protection, radiation, temperature, quality and profitability of 'Mondial Gala' apples. *The Journal of Applied Horticulture* 8: 91 – 100.
- Japokic, J., Veberic, R., Stampar, F. 2007. The effect of reflective foil and hail nets on the lighting, color and anthocyanins of 'Fuji' apple. *Scientia Horticulturae* 115: 40 – 46.
- Johnson, J. R., Fahy, D., Gish, N., y Andrews, P. K. 1999. Influence of ascorbic acid sprays on apple sunburn. *Good Fruit Grower* 50: 81 – 83.
- Ma, F. y Cheng, L. 2003. The sun-exposed peel of apple fruit has higher xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and antioxidants of the ascorbate-glutathione pathway than the shaded peel. *Plant Science* 165: 819 – 827.
- Ma, F. y Cheng, L. 2004. Exposure of the shaded side of apple fruit to full sun leads to up-regulation of both the xanthophylls cycle and the ascorbate-glutathione cycle. *Plant Science* 166: 1479 – 1486.
- Merzlyak, M. N., Melo, T. B., y Naqvi, K. R. 2008. Effect of anthocyanins, carotenoids and flavonoids on chlorophyll fluorescence excitation spectra in apple fruit: signature analysis, assessment, modeling and relevance to photoprotection. *Journal Experimental Botany* 59: 349 – 359.
- Olivares-Soto, H., Bastías, R. M. 2018. Photosynthetic efficiency of apples under protected shade nets. *Chilean Journal of Agricultural Research* 78: 126 – 138.
- Racsko, J., and Schrader, L.E. 2012. Sunburn of apple fruit. Historical background, recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences* 31: 455 – 504.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Papanga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 2: 152 – 159.
- Schrader, L. E., Sun, J., Felicetti, D., Seo, J-H., Jedlow, L., y Zhang, J. 2003a. Stress-induced disorders: Effects on apple fruit quality. *Proc. Washington Tree Fruit Postharvest Information Network* 636: 545 – 550.

- Schrader, L. E., Zhang, J., y Duplaga, W. K. 2001. Two types of sunburn in apple caused by high fruit surface (peel) temperature. *Plant Health Progress*. 86: 376 – 389.
- Schrader, L.E. 2011. Scientific basis of a unique formulation for reducing sunburn of fruits. *Horticultural Science* 46: 6 – 11.
- Schrader, L.E., Kahn, C.B., and Elfving, D.C. 2009. Sunburn browning decreases at-harvest internal fruit quality of apples (*Malus domestica* Borkh.) *International Journal of Fruit Science* 9: 425 – 437.
- Solomakhin, A. y Blanke, M. M. 2010. Can coloured hailnets improve taste (sugar, sugar: acid ratio), consumer appeal (colouration) and nutritional value (anthocyanin, vitamin C) of apple fruit LWT- *Food Science and Technology* 43: 1277 – 1284.
- Solovchenko, A. E. y Merzlyak, M. N. 2008. Screening of visible and UV radiation as a photoprotective mechanism in plants. *Journal of Plant Physiology* 55: 719 – 737.
- Solovchenko, A. E. y Schmitz-Eiberger, M. 2003. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. *J Journal Experimental Botany* 54: 1977 – 1984.
- Umanzor, C., Bastías, R.M., Wilckens, R., and Quezada, C. 2017. Influence of using of Pearl and Red nets on micro-climate conditions, fruit sun damage and fruit color development in ‘Gala’ and ‘Fuji’ apple orchards. *Revista Brasileira de Fruticultura* 39: 930 – 943.
- Wand, S.J.E., Steyn, W.J., and Theron, K.I. 2008. Vulnerability and impact of climate change on pear production in South Africa. *Acta Horticulturae* 800: 263 – 271.
- Wünsche, J. N., Bowen, J., Ferguson, I., Woolf, A., y McGhie, T. 2004a. Sunburn on apples – Causes and control mechanisms. *Acta Horticulturae* 636: 631 – 636.
- Wünsche, J. N., Lombardini, L., Greer, D. H. 2004b. ‘Surround’ particle film application – Effect on whole canopy physiology of apple. *Acta Horticulturae* 636: 565 – 571.
- Yuri, J. A., Neira, A., Quilodran, A., Razmilic, I., Motomura, Y., Torres, C., Palomo, I. 2010. Sunburn on apples is associated with increases in phenolic compounds and antioxidant activity as a function of the cultivar and areas of the fruit. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 8: 920 – 925.

Yuri, J. A., Torres, C., Bastias, R., Naira, Y. A. 2000. Sunburn on apples. II. Inducing factors and biochemical responses. *Agrociencia* 16(1): 23 – 32.

Zupan, A., Mikulic-Petkovsek, M., Slatnar, A., Stampar, F., and Verberic, R. 2014. Individual phenolic response and peroxidase activity in peel of differently sun-exposed apple in the period favorable for sunburn occurrence. *Journal of Plant Physiology* 171: 1706 – 1712.



IV. CONCLUSION GENERAL

El uso de mallas afecta considerablemente las condiciones lumínicas de los huertos de manzanos, reduciendo la cantidad de PAR y UV disponible, así como también la transmisión espectral de la luz solar y con impacto sobre la temperatura del fruto y la incidencia de daño por sol en la fruta.

Las condiciones menos estresantes de radiación solar y temperatura bajo mallas incrementan significativamente la eficiencia fotoquímica del PS-II a nivel de la piel de la fruta, lo que demuestra que el primer mecanismo de la malla como medida preventiva de daño por sol se encuentra relacionado con la reducción de procesos de foto-inhibición de la actividad del PS-II.

La medición de fluorescencia de clorofila en la superficie del fruto es un buen método para detectar tempranamente procesos de foto-inhibición bajo condiciones de campo y que podría utilizarse potencialmente como herramienta no destructiva para monitorear las lesiones causadas por el sol cuando aún no se han desarrollado los síntomas, así como también para discriminar en forma más eficaz la efectividad de los métodos actuales para mitigar este problema, incluyendo el uso de mallas.

Existe una estrecha relación entre el incremento de compuestos antioxidantes y el desarrollo de quemadura por sol en manzanas como se presentó en este estudio. La piel de la fruta afectada por las quemaduras por sol tiene mayores concentraciones de antioxidantes en variedades muy susceptibles al daño como 'Fuji', pero a pesar de la mayor actividad de antioxidantes es incapaz de hacer frente al daño que se provoca por las altas temperaturas junto con la radiación solar PAR y UV.

El uso de mallas en manzano afecta diferencialmente tanto la composición como la capacidad antioxidante en las manzanas con distintos grados de golpe de sol, lo que es dependiente del cultivar o tipo de malla. Las condiciones extremas de radiación y temperatura que se generan fuera de la malla promueven en 'Fuji' una mayor acumulación de polifenoles y actividad antioxidante. No obstante, en cultivares como

‘Gala’ la mayor cantidad de antocianinas y actividad antioxidante se observa bajo malla, en donde las condiciones lumínicas particulares de la malla empleada podrían tener alguna influencia.

Las condiciones ambientales particulares que se generan en huertos cultivados bajo mallas afectan el valor nutricional (antocianinas y antioxidantes) de la manzana, cuyo impacto sobre gustos y preferencias del consumidor debería ser evaluado en futuros trabajos de investigación. Todo lo anterior si se considera que los polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante en frutas tienen una amplia gama de propiedades; aumenta la comerciabilidad de la fruta misma y la de sus sub-productos.

