

UNIVERSIDAD DE TALCA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS ESCUELA DE AGRONOMÍA

EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LA RADIACIÓN SOLAR SOBRE LA PIGMENTACIÓN, COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN FRUTOS DE MANZANO CVS. CRIPPS PINK Y ROSY GLOW

Memoria de título

Luciano Ignacio Tapia Vásquez

Talca, Chile 2020



CONSTANCIA

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



Talca, 2020

APROBACIÓN:

Profesor guía:

Ing. Agr. Dr. José Antonio Yuri Salomón Profesor Escuela de Agronomía

Centro de Pomáceas Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad de Talca

Profesor co-guía:

Ing. Agr. Dr. (c) Javier Sánchez Contreras Unidad del cerezo Centro de Pomáceas Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad de Talca

Fecha de presentación de la Defensa de Memoria: 03 de junio de 2020.

AGRADECIMIENTOS

Este escrito va dedicado en memoria de mi padrino Ramón Espinosa, quién junto a mi hermana Catalina Q.E.P.D. estarían orgullosos en este gran momento.

Quiero agradecer a mis padres, quienes con mucho esfuerzo me han permitido poder llegar a estas instancias, gracias por inculcarme la humildad y el esfuerzo, ante todo.

Agradecer también, a todos los amigos que me presentó la vida universitaria y que de una u otra forma me ayudaron a salir adelante.

A Don José Antonio Yuri y a todo el equipo del Centro de Pomáceas, quienes me ayudaron desde el primer momento.

¡Muchas gracias!

RESUMEN

Durante la temporada 2018/2019, se evaluó, mediante el uso de embolsado, los efectos de la inhibición de radiación solar sobre la pigmentación, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en frutos de manzano cvs. Cripps Pink y Rosy Glow. Las mediciones se realizaron a cosecha y se implementaron 3 tratamientos: T1: embolsado 36 días antes de cosecha; T2: embolsado 24 días antes de cosecha; y T0: frutos en condición normal.

Los resultados mostraron que la coloración de la piel de las manzanas se redujo significativamente producto del embolsado, al igual que la acumulación de compuestos fenólicos. Sin embargo, la inhibición de la radiación solar previa a cosecha afectó la coloración del cv. Cripps Pink, pero no la del cv. Rosy Glow. La concentración de fenoles totales fue mayor en frutos del cv. Rosy Glow creciendo bajo condiciones normales; en el caso de cv. Cripps Pink no hubo diferencias entre los tratamientos. La capacidad antioxidante fue mayor en aquellos frutos que se desarrollaron en condición normal y con embolsado 24 días antes de cosecha, para ambos cultivares.

Los parámetros de madurez mostraron que los sólidos solubles no se vieron afectados por los distintos tratamientos a los que se sometió la fruta; sin embargo, con respecto a la firmeza si se obtuvieron diferencias, siendo la fruta embolsada 36 y 24 días antes de cosecha la que presentó los mayores valores con respecto a los frutos en condición normal.

Palabras clave: Rosy Glow, Cripps Pink, pigmentación, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

During the 2018/2019 season, the effects of solar radiation inhibition on pigmentation, phenolic

compounds and antioxidant capacity in cvs apple fruits Cripps Pink and Rosy Glow were evaluated

using bagging. Measurements were made at harvest and 3 treatments were implemented: T1:

bagging 36 days before harvest; T2: bagging 24 days before harvest; and T0: fruits in normal

condition.

The results showed that the color of the skin of the apples was significantly reduced due to the

bagging, as well as the accumulation of phenolic compounds. However, inhibition of solar radiation

prior to harvest affected Cripps Pink cv. but not Rosy Glow cv. Total phenol concentration was

higher in fruits of Rosy Glow cv. growing under normal conditions; in the case of Cripps Pink cv.

there were no differences between treatments. The antioxidant capacity was higher in those fruits

that developed under normal conditions and with bagging 24 days before harvest, for both

cultivars.

Maturity parameters showed that soluble solids were not affected by the different treatments to

which the fruit was submitted; however, with respect to firmness, differences were obtained, being

the bagged fruit 36 and 24 days before harvest the one that presented the highest values with

respect to fruits in normal condition.

Keywords: Rosy Glow, Cripps Pink, pigmentation, phenolic compounds, antioxidant capacity.

6

ÍNDICE

1.		IN٦	ΓRΟΙ	Pá	ágina 9
	1.1	1	Hip	oótesis	11
	1.2	2	Ob	jetivo general	11
	1.3	3	Ob	jetivos específicos	11
2.		RE	VISI	ÓN BIBLIOGRAFICA	12
	2.′	1	Ge	neralidades del manzano	12
	2.2	2	Ма	nzana cv. Cripp´s Pink	12
	2.3	3	Ма	nzana cv. Rosy Glow	12
	2.4	4	Со	loración de la fruta	13
	2.	5	La	pigmentación en manzanas	13
		2.5	5.1	Efecto de la luz sobre los pigmentos	13
		2.5	5.2	Efecto de la Temperatura sobre los pigmentos	14
	2.6	6	Со	mpuestos fenólicos	14
	2.7	7	Inh	nibición de los pigmentos	14
		2.7	'.1	Embolsado	15
3.		MΑ	TER	RIALES Y MÉTODOS	16
	3.′	1 L	ocal	ización y material vegetal del ensayo	16
	3.2	2 T	oma	de muestras y diseño experimental	16
	3.3	3 E	valu	aciones realizadas	16
		3.3	3.1 ĺn	dices de madurez	16
		3.3	3.2 Aı	nálisis de pigmentos	17
		3.3	3.3 D	eterminación de fenoles totales	17
		3.3	8.4 C	apacidad antioxidante por metodología ORAC	18
	3.4	4 A	nális	sis estadístico	19
4.		RE	SUL	TADOS Y DISCUSIÓN	20
	4.′	1	Со	ncentración de pigmentos	20
		4.1	.1 C	oncentración de pigmentos en cara expuesta del fruto	20
		4.1	.2 C	oncentración de pigmentos en cara no expuesta del fruto	21
	4.2	2 C	omp	ouestos fenólicos totales y capacidad antioxidante	23
	4.3	3 Ír	ndice	es de madurez	25

4	4.4 Resumen Climático	. 28
5.	CONCLUSIONES	. 29
6.	BIBLIOGRAFIA	. 30

1. INTRODUCCIÓN

La producción y exportación de fruta fresca de clima templado es una actividad económica relevante en Chile. Esto es, en parte debido a las ventajas comparativas que posee nuestro país para el desarrollo de la actividad frutícola, siendo una de éstas el arribo de la fruta a los mercados del hemisferio norte en periodos de contra estación. Por otra parte, la variabilidad climática desde la Región de Atacama hasta la Región de Los Ríos ha permitido la producción de diversas especies y variedades. Por otra parte, las altas diferencias de temperatura entre el día y la noche favorecen la producción de frutales templados (Contreras y Escobar, 1995).

La fruticultura nacional alcanza una superficie de 294.000 hectáreas, divididas entre la Región de Atacama hasta la Región de los Lagos. La producción es cercana a los 5 millones de toneladas de fruta, de las cuales se exportan 2,6 millones como fruta fresca. De esta manera nuestro país genera más de 4.000 millones de dólares al año. Chile es el primer exportador frutícola del hemisferio sur, liderando las producciones de uva de mesa y arándanos (ODEPA, 2019).

Las exportaciones frutícolas han mostrado un crecimiento promedio anual de 10% en la última década (DIRECON, 2014).

Según la oficina de estudios y políticas agrarias (ODEPA), la manzana (*Malus x domestica* Borkh.) es una de las principales especies producidas en el país. La superficie plantada se concentra en la Región del Maule, con un total de 22.068 hectáreas para el año 2016, seguido por la Región de O'Higgins, con 7.734 hectáreas para el año 2018.

Con respecto al consumo de manzanas, se espera un aumento en la demanda por nuevos productos y variedades, con técnicas integrales de producción y con un predominio de la calidad sobre la cantidad (Cerda et al., 2003).

El color es uno de los principales atributos que prefiere el consumidor (Iglesias et al., 2018). El desarrollo de color rojo en variedades bicolores es una característica genética que también es afectado por condiciones ambientales y disponibilidad de asimilados. Exposición a radiación solar y alternancia de alta temperatura diurna y baja nocturna favorecen la síntesis y acumulación de antocianinas, pigmento responsable de la coloración roja de la manzana. Por ello, se han obtenido nuevos cultivares, como Rosy Glow, el cual es una mutación del cv. Cripps Pink, pero con mayor

intensidad en coloración. Ello le permite el desarrollo de color hasta en aquellas partes sombreadas de la copa del árbol y en áreas geográficas en donde el clima es una limitante para el desarrollo de una buena coloración (Pinto y Fernández, 2011).

Durante el crecimiento de una manzana existen dos periodos de máxima producción de antocianinas. El primer evento ocurre durante la división celular y es muy intenso, tendiendo a desaparecer al llegar a diciembre. El segundo evento de máxima producción de antocianinas ocurre durante la maduración de la fruta. Diversos manejos se pueden aplicar en esta etapa para aumentar el color rojo. Es extensivo el uso de mulch reflectante sobre el suelo. Así también, se utilizan bolsas de papel, que permiten manejar la exposición de radiación solar y dar a la fruta una coloración especial (Zhang et al., 2014).

Según lo expuesto, en el presente estudio se busca determinar el efecto de la inhibición de la radiación solar, a través del embolsado de la fruta, sobre la pigmentación de dos cultivares de manzanas, cv. Cripps Pink y cv. Rosy Glow, con diferente expresión genética de color.

A continuación, se plantea la hipótesis y objetivos del presente trabajo:

1.1 Hipótesis

La inhibición de la radiación solar incidente en frutos de los cvs. Cripps Pink y Rosy Glow, reducirán la síntesis y acumulación de pigmentos, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la piel.

1.2 Objetivo general

Determinar, mediante el embolsado de la fruta, el efecto de la ausencia de radiación solar sobre la pigmentación, fenoles totales y capacidad antioxidante durante la maduración de manzanas cvs. Cripps Pink y Rosy Glow.

1.3 Objetivos específicos

- Cuantificar el contenido de pigmentos en manzanas de los cvs. Cripps Pink y Rosy Glow sometidos a la inhibición de la radiación solar.
- II. Cuantificar el contenido de fenoles totales en la piel de los frutos de manzanos cvs.Cripps Pink y Rosy Glow sometidos a la inhibición de la radiación solar.
- III. Cuantificar la actividad antioxidante en los frutos de manzano cvs. Cripps Pink y Rosy Glow sometidos a la inhibición de la radiación solar.
- IV. Relacionar la privación de luz y el contenido de compuestos fenólicos en la piel, con el estado de madurez de manzanas cvs. Cripps Pink y Rosy Glow.

2. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

2.1 Generalidades del manzano

El manzano (*Malus x Domestica* Borkh.) es una especie perteneciente a la familia Rosaceae, la cual presenta un pomo globoso, con pedúnculo corto y un total de 5 a 10 semillas de color pardo. Esta fruta dulce representa una de las especies de mayor difusión mundial debido a su facilidad de adaptación a distintos tipos de climas y suelos, alto valor alimenticio y de excelente calidad (Pacheco, 2009).

Según el Centro de Comercio Internacional (CCI), Chile alcanzó el segundo lugar como mayor exportador mundial de manzanas para el año 2010, puesto por el cual se está constantemente disputando con Italia y Estados Unidos. Con respecto al volumen de las exportaciones de manzanas en nuestro país, ha habido un incremento de un 92,7% entre los años 2001-2010, con lo que también se está manteniendo a chile como el principal proveedor de manzanas a Estados Unidos.

2.2 Manzana cv. Cripp's Pink

Cripp's Pink es un cultivar proveniente entre el cruzamiento de Lady Williams y Golden Delicious, con el cual lo que se busca es una mejora en la firmeza, mejor vida postcosecha y de baja susceptibilidad al bitter pit, buena calidad organoléptica y baja incidencia de escaldado (Cripps et al., 1993).

El fruto es de un color rosado brillante por sobre un fondo de color verde que se tiende a tornar amarillo a medida que alcanza la madurez. Cerca del 30-60% de la superficie de la fruta es verdeamarilla y el 40-70% es rosado-rojo homogéneo (Calvo et al., 2008).

2.3 Manzana cv. Rosy Glow

Rosy Glow es un cultivar que deriva de una mutación del cultivar Cripp´s Pink el cual expresa una mayor intensidad en coloración, permitiendo así desarrollo de color en aquellos lugares del árbol en donde hay poca luminosidad y además en aquellas zonas productivas en donde el clima es un factor limitante para el buen desarrollo de color en la fruta. Rosy Glow es una variedad 100% derivada de la variedad Cripp´s Pink por lo que se puede comercializar como una variedad Pink Lady, siempre y cuando cumpla con los estándares exigidos (Pinto y Fernández, 2011).

2.4 Coloración de la fruta

El desarrollo de color en la fruta es un factor súper favorable para su comercialización, siendo la coloración de la piel una serie de resultados que se obtienen por una mezcla de pigmentos. Por lo general, mientras mayor sea el color rojo de la fruta, mayor será el grado de empaque que tendrá esta fruta, y con esto también será mayor el rendimiento financiero que obtendrá el productor (Curry, 1997).

Con respecto al color de fondo de las manzanas, este se ve reflejado por la presencia de carotenoides y cloroplastos, las cuales son moléculas que se encuentran asociadas a los sistemas de las membranas celulares. Para el caso de color de cubrimiento, este se observa por la presencia de las antocianinas, siendo el principal pigmento rojo, las cuales se encuentran concentradas en las vacuolas, predominando la cianidina-3-glucósido en las manzanas (Yuri, 2006).

2.5 La pigmentación en manzanas

La capacidad de acumular antocianina y los cambios de color, son funciones que se impulsan en las etapas de desarrollo de la fruta y muchas veces estos efectos coinciden con la maduración de estos mismos frutos (Macheix et al., 1990).

Con respecto al color rojo de las manzanas se mide de acuerdo al porcentaje de coloración que presente el fruto en su superficie o piel, el cual está determinado por las antocianinas ubicadas en las vacuolas de las células de la epidermis, a la vez influyen varios otros factores en la coloración, siendo uno muy importante la oscilación térmica existente entre el día y la noche en aquel mes previo a la cosecha, lo cual se ve reflejado en la expresión del pigmento rojo en los frutos (Hernández et al., 2010).

2.5.1 Efecto de la luz sobre los pigmentos

La luz es un estimulador para la síntesis de antocianinas, ya que activa una enzima llamada Fenilalanina-Amonio-Liasa (FAL) (Yuri, 2006). Si aumentamos la luz o radiación solar hacia la fruta, habrá una mayor síntesis de compuestos fenólicos en aquella cara que se expuso por mayor tiempo a la luz (Palomo, 2010).

Un factor importante de considerar es la radiación biológicamente activa la cual consiste en el espectro de aproximadamente 300 a 800 nanómetros, la cual se subdivide en azul (400-495 nm), verde (495-590 nm) y roja (590-710 nm), seguido a continuación de la radiación infrarroja (Zoratti, et al., 2014)

2.5.2 Efecto de la Temperatura sobre los pigmentos

Para el desarrollo de un buen color de la fruta, las temperaturas que debieran mantener las pieles de las manzanas varían entre los 20-25 °C. Con noches de 2-5 °C seguido de días calurosos ayudan al desarrollo de la coloración de la fruta (Yuri, 2006).

Saure, (1990) indica que la influencia de la temperatura en la coloración de los frutos también depende mucho del cultivar, habiendo algunos con mayor capacidad de coloración que otros.

2.6 Compuestos fenólicos

Una de las características más importantes y beneficiosas de la manzana, es su capacidad antioxidante, la que se representa principalmente por la presencia de fenoles y flavonoides.

Para hacer referencia a los fenoles en manzanas, estos presentan grupos dentro de los cuales se encuentran los ácidos hidrocinámicos, flavonoles, flavanoles, dihidrochalconas y antocianinas. Los flavonoles poseen un papel de fotoprotección y muchas veces se dice que actúan como agente protector de la luz ultravioleta y como captador de radicales (Zoratti, et al., 2014). Y para el caso de los flavonoides, estos son sintetizados por dos aminoácidos, la fenilalanina y tirosina, dando origen a los ácidos cinámico y p-hidroxinámico (Palomo, 2010).

2.7 Inhibición de los pigmentos

Tratamientos de embolsado de frutas han demostrado una inhibición en la acumulación de antocianinas ya que en la piel de la manzana la luz del sol es el factor ambiental más importante para inducir la biosíntesis de flavonoides. Frutas con la cascara expuesta al sol tienen mayores niveles de antocianinas que los que se cultivan en condiciones de sombra (Zoratti, et al., 2014).

2.7.1 Embolsado

El embolsado de la fruta es una práctica que se usa en la mayoría de los lugares en el mundo y permite mejoras en el color de cubrimiento de la fruta.

El proceso de embolsado consiste en la utilización de un envoltorio de papel, el cual cubre el fruto durante su desarrollo. Este al ser retirado de la fruta debería aumentar la cantidad de antocianinas y la actividad enzimática tanto en peras como manzanas. El proceso de embolsado es una herramienta útil para la realización de investigaciones con respecto a la acumulación de antocianinas en los frutos de manzana (Wang et al., 2013), sin embargo, en este estudio se llevará a cabo el uso de embolsado únicamente para inhibir la radiación solar hacia el fruto.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización y material vegetal del ensayo

Este ensayo se desarrolló en la temporada 2018-2019 con manzanas cultivares Cripps Pink y Rosy Glow, producidas por Frutícola el Aromo, Fundo el Llano, ubicado en la localidad de San Clemente (35º31`14" S; 71º26`54"0; 224 m.s.n.m), provincia de Talca, Región del Maule. Se recolectó fruta de árboles del cultivar Cripps Pink con sistema de conducción tipo solaxe, plantado con distancias de 4 metros entre hilera y 1,8 metros sobre hilera en el año 2010, y de árboles Rosy Glow, con sistema de conducción tipo seto o muro, plantado con distancias de 3,8 metros entre hilera y 0,75 metros sobre hilera en el año 2011.

3.2 Toma de muestras y diseño experimental

Se embolsaron 30 frutos de cada cultivar en dos momentos: 36 y 24 días antes de cosecha (DAC) estimada. De esta manera, el ensayo contó con 3 tratamientos, cada uno con 5 repeticiones de 3-4 frutos.

Los tratamientos fueron: Tratamiento Control (T0): correspondió a manzanas no embolsadas; Tratamiento 1 (T1): embolsado 36 días antes de cosecha; Tratamiento 2 (T2): embolsado 24 días antes de cosecha.

En la cosecha comercial, se recolectaron los frutos de todos los tratamientos, los cuales se llevaron hasta el Centro de Pomáceas de la Universidad de Talca, donde se le realizaron los análisis requeridos.

3.3 Evaluaciones realizadas

3.3.1 Índices de madurez

Los índices de madurez que se evaluaron fueron: firmeza del fruto, con presionómetro de pedestal FTA (Fruit Texture Analyzer) con un vástago de 10 mm; peso, registrado con una balanza analítica; color de cubrimiento (porcentaje e intensidad) y color de fondo, los cuales se midieron con rangos y tablas para cada caso; sólidos solubles, evaluados con refractómetro digital ATAGO (PLAS-BX/ACID5, Japan).

3.3.2 Análisis de pigmentos

Se cuantificó la presencia de pigmentos (antocianinas, clorofila y carotenoides) de ambos lados del fruto (expuesto y no expuesto).

Para determinar las antocianinas se utilizó el método de Fuleki y Francis (1968). En primera instancia se extrajeron discos de piel de la fruta con la utilización de un sacabocados, los cuales fueron trozados con un bisturí para obtener pequeños fragmentos de la muestra y luego ser depositados en tubos Eppendorf. Después de realizado este proceso, se aplicaron 500 µL de solución de HCL (1,5 N): Etanol técnico al 96%, luego se agitaron las muestras y se dejaron durante 24 horas a 4 °C. Transcurridas 24 horas, las muestras se agitaron y el líquido sobrenadante de los tubos se depositó a otro tubo Eppendorf. A continuación, nuevamente se aplicó Etanol al 96% a los recipientes que recientemente habían sido extraídos y se repitió el mismo proceso de extracción.

Para el caso de la clorofila y carotenoides, éstos se evaluaron mediante el método desarrollado por Lichtenthaler (1987), en donde se extrajeron discos de piel con la utilización de un sacabocados, los cuales fueron trozados para así obtener fragmentos pequeños y ser depositados en tubos Eppendorf. Una vez que las pieles ya estaban en los tubos, se aplicó 500 µL de solución de acetona al 80%, luego se agitaron las muestras y se dejaron por 24 horas a 4°C. Después de transcurridas las 24 horas, las muestras se agitaron y se extrajo el líquido sobrenadante, el cual fue depositado en tubos Eppendorf. Una vez realizado el intercambio de líquido en los tubos, se aplicó nuevamente acetona al 80% a los tubos recientemente extraídos y se repitió el proceso.

Las determinaciones de los compuestos se realizaron con un espectrofotómetro, modelo Spectroquant Pharo 300, Merck, mediante su absorbancia. Para la medición de antocianinas se debió calibrar el aparato en longitudes de onda de 530 nm y para el caso de las clorofilas a 470, 647 y 663 nm, respectivamente.

3.3.3 Determinación de fenoles totales

Para la determinación y cuantificación de fenoles totales se utilizó el método descrito por Coseteng y Lee (1987), con la utilización del reactivo Folin-Ciocalteu.

Se realizaron extracciones de piel a los frutos con un cuchillo cortador, las cuales se depositaron en un mortero y se molieron en conjunto con la aplicación de nitrógeno líquido. Una vez realizado este proceso se extrajeron las muestras a baño regulado a 100 °C por 10 minutos, luego se filtraron y aforaron con solución de etanol al 80% hasta los 10 ml, para así luego disponer la solución en 3 tubos Eppendorf por cada repetición y ser llevados para su almacenaje en frío hasta su determinación.

Al momento de las mediciones se debió realizar una curva patrón estándar de ácido clorogénico (representativa). Con respecto a la ecuación de la recta de la curva estándar se cuantificó la oxidación de fenoles, midiendo su absorbancia a 640 nm con un espectrofotómetro Spectroquant Pharo, Merck.

A cada uno de los tubos de ensayo se les agregó 50 μ l de extracto, 450 μ l de Etanol técnico 50%, 2500 μ L de agua destilada y 500 μ L de Folin-Ciocalteu. Luego las muestras se agitaron y se dejaron incubar por 5 minutos. Después se le agregó 500 μ L de carbonato de sodio 10% (Na₂CO₃) para luego dejar incubar las muestras por 15 minutos. Todas las muestras se realizaron con duplicados.

3.3.4 Capacidad antioxidante por metodología ORAC

Se realizó la cuantificación de antioxidantes basada en la inhibición del radical peróxido oxidativo, mediante el método de Prior (2003) y Huang et al. (2002).

Se utilizaron los reactivos Trolox (ácido 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxilico), AAPH (2,2-Azobis (2 amidino-propano dihydrochloride)), fluoresceína sódica (FL) y tampón fosfato 75 mM de pH 7,4.

En pocillos se depositaron 25 μL de Trolox y tampón 7,4 entre concentraciones de 6,25 y 100 μM, la cual corresponde a la curva estándar. Para el caso de la preparación del radical se utilizó 0,1626 g de AAPH, disueltos en 4 mL de tampón fosfato 75 mM de pH 7,4, mientras que en el caso de compuesto fluorescente se utilizó 10 μL de fluoresceína sódica y 10 mL de tampón a pH 7,4.

La cuantificación obtenida de las mediciones se realizó con el uso de un lector de microplacas para fluorescencia Biotek Synergy HT.

3.4 Análisis estadístico

El diseño utilizado en este estudio fue completamente al azar (DCA) en los dos cultivares de manzanas, Cripps Pink y Rosy Glow. Se debe tomar en consideración que los árboles se encontraban en las mismas condiciones de clima y suelo.

El análisis estadístico se realizó con el programa Statgraphics Centurion XVI, versión 16.2.04. Se efectuaron análisis de varianza simple para identificar las diferencias que podrían haber ocurrido dentro de los distintos tratamientos mediante el test T-Student (p≤ 0,05). Cuando se observaron diferencias significativas entre los tratamientos se realizó separación de medias a través del test de Tukey HSD.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Concentración de pigmentos

4.1.1 Concentración de pigmentos en cara expuesta del fruto

La cuantificación de pigmentos en manzanos cv. Rosy Glow sobre la cara expuesta, presentó diferencias significativas solo en algunos pigmentos (Cuadro 4.1). Para el caso de las antocianinas no se encontraron diferencias significativas entre T0 y T2. Sin embargo, ambos son estadísticamente distintos con T1, siendo este tratamiento el que presentó la menor concentración de antocianinas. Con respecto a la cuantificación de las clorofilas (clorofila A, clorofila B y clorofilas totales) no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. En tanto, para la concentración de carotenoides si se encontraron diferencias significativas en T1 con respecto a T0 y T2, siendo T1 el que presentó la mayor concentración de este pigmento.

Cuadro 4.1 Análisis de varianza para concentración de pigmentos (mg/100 g PF) en <u>cara expuesta</u> del fruto en manzanos <u>cv. Rosy Glow</u> embolsado a 36 días antes de cosecha (DAC; T1), 24 DAC (T2) y sin embolsado (T0) evaluados a cosecha. Frutícola El Aromo, Fundo el Llano, comuna San Clemente, Región del Maule, Chile. Temporada 2018-2019.

Tratamiento	Antocianinas ^z	Clorofila	Clorofila	Clorofila	Carotenoides	
		Α	В	total		
T0	7,8 a	0,762	0,495	1,3	0,408 b	
T1	2,0 b	1,1	0,627	1,7	0,704 a	
T2	7,2 a	0,867	0,599	1,5	0,433 b	
Significancia	**	n.s.	n.s.	n.s.	*	
Valor-p	0,0002	0,2351	0,3638	0,2604	0,0106	

Promedios en una columna seguidos por una misma letra, no difieren estadísticamente, según Test de Tukey HSD. n.s.= no significativo, *= significativo (p≤0,05); **= altamente significativo (p≤0,01)

La cuantificación de pigmentos en manzanos cv. Cripps Pink sobre la cara expuesta, presentó diferencias altamente significativas solo en la concentración de antocianinas (Cuadro 4.2). T1 y T2 no presentaron diferencias significativas entre ellos, pero si con respecto a T0. La fruta de este último mostró la mayor concentración de antocianinas. Para el caso de clorofila A, clorofila B, clorofila total y carotenoides no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

^Z=Transformación de datos con SQTR.

Cuadro 4.2 Análisis de varianza para concentración de pigmentos (mg/100 g PF) en <u>cara expuesta</u> del fruto en manzanos <u>cv. Cripps Pink</u> embolsado a 36 días antes de cosecha (DAC; T1), 24 DAC (T2) y sin embolsado (T0) evaluados a cosecha. Frutícola "El Aromo", Fundo el Llano, comuna San Clemente, Región del Maule, Chile. Temporada 2018-2019.

Tratamiento	Antocianinas	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila total	Carotenoides
ТО	6,6 a	0,651	0,530	1,2	0,428
T 1	1,6 b	0,424	0,366	0,789	0,365
T2	2,2 b	0,815	0,404	1,2	0,428
Significancia	**	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Valor-p	0,0000	0,0935	0,2106	0,1867	0,3835

Promedios en una columna seguidos por una misma letra, no difieren estadísticamente, según Test de Tukey HSD. n.s.= no significativo, *= significativo (p≤0,05); **= altamente significativo (p≤0,01).

4.1.2 Concentración de pigmentos en cara no expuesta del fruto

La cuantificación de pigmentos en manzanos cv. Rosy Glow sobre la cara no expuesta, presentó diferencias significativas solo en algunos pigmentos (Cuadro 4.3). Para el caso de las antocianinas se observaron diferencias altamente significativas, siendo T0 el cual presentó la mayor concentración del pigmento rojo con respecto a T1 y T2, que presentaron menores concentraciones. Con respecto a la concentración de clorofilas, solo se obtuvieron diferencias significativas en la clorofila A, entre T1 y T0. En igual forma fue el caso de los carotenoides, con diferencias significativas entre T1 y T0, este último con menor contenido de pigmento.

Cuadro 4.3 Análisis de varianza para concentración de pigmentos (mg/100 g PF) en <u>cara no expuesta</u> del fruto en manzanos <u>cv. Rosy Glow</u> embolsado a 36 días antes de cosecha (DAC; T1), 24 DAC (T2) y sin embolsado (T0) evaluados a cosecha. Frutícola "El Aromo", Fundo el Llano, comuna San Clemente, Región del Maule, Chile. Temporada 2018-2019.

Tratamiento	Antocianinas	Clorofila	Clorofila	Clorofila	Carotenoides
		Α	В	total	
T0	8,5 a	0,657	0,406 b	1,1	0,306 b
T1	2,2 b	0,968	0,642 a	1,6	0,572 a
T2	2,6 b	0,801	0,556 ab	1,4	0,419 ab
Significancia	**	n.s.	*	n.s.	*
Valor-p	0,000	0,2778	0,0290	0,1485	0,0090

Promedios en una columna seguidos por una misma letra, no difieren estadísticamente, según Test de Tukey HSD. n.s.= no significativo, *= significativo (p≤0,05); **= altamente significativo (p≤0,01).

La cuantificación de pigmentos en manzanos cv. Cripps Pink sobre la cara no expuesta, presentó diferencias significativas en algunos pigmentos (Cuadro 4.4). Para la concentración de antocianinas se encontró diferencias altamente significativas, siendo T0 el que presentó la mayor concentración con respecto a T1 y T2. Para el caso de las clorofilas, se encontraron diferencias significativas en la concentración de clorofila A y clorofilas totales, siendo T2 el que presentó la mayor concentración junto con T0 para ambos casos. Para la clorofila B no se encontraron diferencias significativas, al igual que con la concentración de carotenoides.

Cuadro 4.4 Análisis de varianza para concentración de pigmentos (mg/100 g PF) en <u>cara no expuesta</u> del fruto en manzanos <u>cv. Cripps Pink</u> embolsado a 36 días antes de cosecha (DAC; T1), 24 DAC (T2) y sin embolsado (T0) evaluados a cosecha. Frutícola "El Aromo", Fundo el Llano, comuna San Clemente, Región del Maule, Chile. Temporada 2018-2019.

Tratamiento	Antocianinas ^z	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila total	Carotenoides
T0	1,4 a	0,354 ab	0,326	0,680 ab	0,197
T1	0,803 b	0,190 b	0,399	0,590 b	0,238
T2	0,592 b	0,473 a	0,434	0,908 a	0,279
Significancia	**	*	n.s.	*	n.s.
Valor-p	0,0011	0,0196	0,2982	0,0316	0,0768

Promedios en una columna seguidos por una misma letra, no difieren estadísticamente, según Test de Tukey HSD. n.s.= no significativo, *= significativo (p≤0,05); **= altamente significativo (p≤0,01)

En las manzanas, la obtención del color rojo en la cosecha está determinada por la acumulación de antocianinas durante el pico de maduración, asociada a la síntesis del compuesto, es por esto que la acumulación de antocianinas se determina en respuesta de la luz y las bajas temperaturas en que se exponga el fruto (Steyn et al, 2005). Otros estudios, realizados por Feng et al. (2014), también indican que la exposición de los frutos de manzano a la luz solar promueve la síntesis de antocianinas y flavonoles debido a que regula la expresión de genes claves para la realización de la biosíntesis. A la vez Lancaster (1992) señala que la síntesis de antocianinas depende de la luz que recibe la fruta, llevando a observar diferencias en el contenido del pigmento rojo entre los lados de la fruta y las posiciones que adquiera cada una dentro de la copa del árbol.

Según Pinto y Fernández (2011) el cultivar Rosy Glow es una mutación del cultivar Cripps Pink con una mayor capacidad de coloración de la fruta en aquellas partes más sombreadas del dosel e incluso en zonas donde el clima es una limitante para obtener una buena coloración. Las

^Z= Transformación de datos con ACOS.

mediciones en la cara expuesta del fruto lo demuestran. En cv. Cripps Pink, se obtuvo valores significativamente mayores de concentración de antocianinas para los tratamientos sin inhibición de luz (T0), y para el caso de cv. Rosy Glow no hubo diferencias en concentración de antocianinas en fruta expuesta a la luz (T0) y fruta con inhibición de luz 24 DAC (T2). Rosy Glow incluso presentó alta concentración de antocianinas en aquella parte del fruto que no está directamente expuesta a la luz.

Estudios realizados por Ju et al. (1995) indican que la suspensión de la luz, llevada a cabo mediante embolsado, inhibe la normal actividad de la fenilalanina-amonio liasa (PAL) y con ello la síntesis de antocianinas. La PAL cataliza reacciones para la producción de precursores de la síntesis de antocianinas, y en aquel caso donde existieran suficientes precursores, la acumulación de antocianinas podría ocurrir independiente de la presencia de la enzima. Ello podría haber ocurrido en la piel de manzanas Rosy Glow embolsadas 24 días antes de cosecha (T2).

El 100% de cubrimiento de las manzanas Rosy Glow sin bolsa (Cuadro 4.7), concuerda con la alta concentración de antocianinas en el lado no expuesto de la fruta.

Con respecto a las concentraciones de clorofilas, Zhao et al. (2011) señalan que aquella fruta excluida de la luz solar presenta mayores concentraciones de clorofila A y B respectivamente, y esta concentración va aumentando a medida que la fruta se acerca a cosecha cuando la síntesis de antocianinas se activa. Este proceso se explica debido a que las antocianinas, las cuales se ubican en la vacuola, protegen al aparato fotosintético del exceso de luz provocando reducciones en los niveles de concentración de radiación solar que llega al cloroplasto, provocando aumentos de clorofila (Steyn et al., 2009). Para el caso del presente estudio no se replica lo señalado anteriormente debido a que solo se expresaron diferencias entre los tratamientos en aquellas caras no expuestas a la luz, siendo en cv. Rosy Glow donde se obtuvieron mayores concentraciones de clorofila B en aquella fruta embolsada 24 DAC (T2) y en el cv. Cripps Pink se obtuvieron mayores concentraciones de clorofila A y clorofilas totales, también en T2.

4.2 Compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante

La cuantificación de fenoles totales en manzanos cv. Rosy Glow presentó diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 4.5). El tratamiento T0 expresó una mayor concentración de fenoles totales, T1 y T2 no presentaron diferencias significativas entre sí y

mostraron concentraciones menores. Con respecto a la capacidad antioxidante (ORAC) no se encontraron diferencias significativas entre T0 y T2, pero ambos difieren estadísticamente respecto a T1, siendo T1 el que presentó la menor capacidad antioxidante.

Cuadro 4.5 Análisis de varianza para concentración de fenoles totales (mg EAC/100 g PF) y capacidad antioxidante ((ORAC) µmoles ET /100 g PF) en manzanos <u>cv. Rosy Glow</u> embolsado a 36 días antes de cosecha (DAC; T1), 24 DAC (T2) y sin embolsado (T0) evaluados a cosecha. Frutícola "El Aromo", Fundo el Llano, comuna San Clemente, Región del Maule, Chile. Temporada 2018-2019.

Tratamiento	Fenoles totales	ORAC
T0	212 a	10.068 a
T1	179 b	7648 b
T2	179 b	9526 a
Significancia	*	**
Valor-p	0,0219	0,0001

EAC= Equivalentes de Ácido Clorogénico

Promedios en una columna seguidos por una misma letra, no difieren estadísticamente, según Test de Tukey HSD. n.s.= no significativo, *= significativo ($p \le 0.05$); **= altamente significativo ($p \le 0.01$).

La cuantificación de fenoles totales en manzanos cv. Cripps Pink no entregó diferencias significativas entre los distintos tratamientos (Cuadro 4.6). Con respecto a la capacidad antioxidante (ORAC) si se encontraron diferencias altamente significativas entre los distintos tratamientos, siendo T0 y T2 los que presentaron la mayor capacidad antioxidante y T1 presentó la menor expresión de ORAC.

Cuadro 4.6 Análisis de varianza para concentración de fenoles totales (mg EAC/100 g PF) y capacidad antioxidante ((ORAC) µmoles ET /100 g PF) en manzanos <u>cv. Cripps Pink</u> embolsado a 36 días antes de cosecha (DAC; T1), 24 DAC (T2) y sin embolsado (T0) evaluados a cosecha. Frutícola "El Aromo", Fundo el Llano, comuna San Clemente, Región del Maule, Chile. Temporada 2018-2019.

Tratamiento	Fenoles totales	ORAC
T0	186	8.008 a
T1	182	6.474 b
T2	178	8.545 a
Significancia	n.s.	**
Valor-p	0,5904	0,0000

EAC= Equivalentes de Ácido Clorogénico

Promedios en una columna seguidos por una misma letra, no difieren estadísticamente, según Test de Tukey HSD. n.s.= no significativo, *= significativo (p≤0,05); **= altamente significativo (p≤0,01).

Existen estudios en donde se evaluó el efecto de la posición de los frutos de manzanas sobre el dosel, encontrando diferencias en las concentraciones de fenoles totales dentro del árbol, siendo mayor su contenido en las pieles de aquellos frutos ubicados en las zonas del borde y superior (Jakopic et al., 2009). Por lo que se puede estimar que los frutos con más exposición a la radiación solar inducirían el desarrollo de una mayor cantidad de compuestos fenólicos. Esto ocurrió en el cv. Rosy Glow, en donde el tratamiento que se dejó completamente expuesto al sol (T0), entregó las mayores concentraciones de compuestos fenólicos en comparación con los demás tratamientos (T1 y T2) a los cuales se les inhibió la radiación solar mediante el embolsado 36 y 24 DAC respectivamente. Sin embargo, en el cv. Cripps Pink no ocurrió lo mismo, todos los tratamientos tuvieron igual resultado, incluso con aquella fruta que se dejó expuesta al sol hasta la cosecha. Según Yuri et al. (2014) los compuestos fenólicos de los frutos podrían ser transportados hacia ellos a través de las hojas cercanas, por lo que podría ser un factor de importancia con lo que se pudo evidenciar en el cv. Cripps Pink.

Al mismo tiempo Feng et al, (2014), mostraron que las manzanas al ser embolsadas antes de cosecha, la maduración y coloración se ven retrasadas, mientras que las concentraciones de compuestos fenólicos se ven disminuidas con respecto a los tratamientos sin embolsado, lo cual pudimos obtener en el caso del cultivar Rosy Glow, con una mayor concentración de compuestos fenólicos en frutos sin embolsado (T0) en comparación con frutos embolsados e inhibidos de la luz 36 DAC (T1) y 24 DAC (T2).

Yuri et al. (2014) evidenciaron que la piel de los frutos de manzanas expuestas al sol presenta una mayor cantidad de polifenoles y antioxidantes que aquellos frutos que no están expuestos a la luz. Incluso aquella fruta que sufre leves daños producto del golpe de sol presenta el doble de concentración de fenoles y antioxidantes en la piel en comparación con aquella fruta sin daños. Esto concuerda con aquellos frutos del cv. Rosy Glow que estuvieron sin tratamiento de inhibición de luz (T0), ya que fueron los que mayor capacidad antioxidante entregaron. Similar patrón que se observó en cv. Cripps Pink, ya que se obtuvieron resultados similares para aquellos frutos con embolsado 24 DAC (T2) y aquellos sin embolsar (T0).

4.3 Índices de madurez

Según los análisis estadísticos para los índices de madurez en manzanos cultivar Rosy Glow (Cuadro 4.7), se encontraron diferencias significativas en los siguientes casos: para el factor peso,

el cual presentó diferencias altamente significativas, siendo T1 el que presentó un menor peso con respecto a T0 y T2; en igual sentido, el diámetro ecuatorial del fruto; color de cubrimiento, en este caso se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, siendo T0 el que expresó mayor porcentaje de cubrimiento en los frutos, seguido de T2 y luego T1, el cual expresó el menor porcentaje de color de cubrimiento; similares resultados se obtuvieron para la intensidad de color; firmeza de pulpa, para este factor se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, siendo T0 el que mostró la menor firmeza de frutos en comparación de T1 y T2, los cuales no presentaron diferencias significativas. Finalmente, la acumulación de sólidos solubles no presentó diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 4.7 Análisis de varianza para índices de madurez en manzanos <u>cv. Rosy Glow</u> embolsados a 36 días antes de cosecha (DAC; T1), 24 DAC (T2) y sin embolsado (T0) evaluados a cosecha. Frutícola "El Aromo", Fundo el Llano, comuna San Clemente, Región del Maule, Chile. Temporada 2018-2019.

Tratamiento	Peso (g)	Diámetro (mm) ^z	Color de cubrimiento (%) ^N	Intensidad de color ^N (0-3)	Firmeza (lbs)	Sólidos Solubles (°Brix)
ТО	190 a	73,6 a	100 a	3 a	23,2 b	12,5
T1	157 b	69,9 b	44 c	1 c	24,9 a	11,7
T2	177 a	71,5 ab	75 b	1,9 b	25,6 a	12,4
Significancia	**	*	**	**	*	n.s.
Valor-p	0,0000	0,0107	0,0000	0,0000	0,0257	0,1957

Promedios en una columna seguidos por una misma letra, no difieren estadísticamente, según Test de Tukey HSD. n.s.= no significativo, *= significativo (p≤0,05); **= altamente significativo (p≤0,01)

Para el caso de análisis de índices de madurez en manzanos cultivar Cripps Pink (Cuadro 4.8), se obtuvieron los siguientes resultados: para el factor peso, diámetro y sólidos solubles no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Si nos referimos al color de cubrimiento, si se encontraron diferencias altamente significativas, siendo T0 el que presentó un mayor porcentaje de cubrimiento en los frutos, seguido de T2 y finalmente T1, el cual presentó un menor porcentaje de color de cubrimiento; de la misma forma se evidenció los resultados para la intensidad de color. En el factor firmeza, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, siendo T1 el que presentó mayor cantidad de libras, al igual que T2, ya que no difieren estadísticamente.

z = transformación de datos con tan. N= no paramétrico.

Cuadro 4.8 Análisis de varianza para índices de madurez en manzanos <u>cv. Cripps Pink</u> embolsado a 36 días antes de cosecha (DCA; T1), 24 DAC (T2) y sin embolsado (T0). Frutícola "El Aromo", Fundo el Llano, comuna San Clemente, Región del Maule, temporada 2018-2019.

Tratamiento	Peso (g)	Diámetro (mm)	Color de cubrimiento (%) ^N	Intensidad de color ^N (0-3)	Firmeza (lbs)	Sólidos Solubles (°Brix)
T0	166	72,8	77 a	3 a	20,7 b	11,9
T1	173	70,6	13 c	0,7 c	22,7 a	12,1
T2	184	71,4	31 b	1 b	22,3 ab	12,2
Significancia	n.s.	n.s.	**	**	*	n.s.
Valor-p	0,0919	0,1355	0,0000	0,0000	0,0491	0,7469

Promedios en una columna seguidos por una misma letra, no difieren estadísticamente, según Test de Tukey HSD. n.s.= no significativo, *= significativo (p≤0,05); **= altamente significativo (p≤0,01) N= no paramétrico.

Según Li et al. (2013), la piel de manzanas "Jonamac" presentó concentraciones de azúcares más bajas en aquella cara de la fruta que se expone directamente al sol, lo cual no se ve reflejado en este estudio, ya que no hubo diferencias significativas ente los tratamientos, tanto en el cultivar Rosy Glow como Cripps Pink, con respecto a las concentraciones de sólidos solubles en las pieles de los frutos.

Zhang et al. (2010), señalan que probablemente las diferencias en la concentración de azúcares de algunos frutos pueden estar de la mano con la actividad de algunas enzimas, las cuales son claves para su metabolismo en respuesta a diferentes condiciones ambientales. Siendo uno de ellos, el retraso de la maduración de la fruta al estar en ausencia de luz, en este caso mediante el uso de embolsado.

Para el caso de firmeza, Wei et al. (2010), señalan que el ablandamiento de los frutos durante su proceso de maduración está relacionado con la actividad de varias enzimas que forman parte de la pared celular. Poligalacturonasa y Celulasa estarían directamente relacionadas con la degradación de la pared celular, y su actividad aumenta durante el proceso de maduración. A la vez también podrían influir contenidos nutricionales como lo es la concentración de calcio en los frutos (Hernández et al., 2010). En este estudio se coincide con lo anteriormente señalado, ya que los frutos que estuvieron en condiciones normales (T0) presentaron menores valores de firmeza en libras, en comparación con los tratamientos de inhibición de luz 36 DAC (T1) y 24 DAC (T2).

Según algunos datos recopilados por el Centro de Pomáceas, existen un par de requisitos de madurez para las manzanas del grupo Pink. En este caso los cultivares Cripps Pink y Rosy Glow, los cuales se comercializan a través de la marca comercial "Pink Lady", deben presentar una firmeza de 16 a 18 libras de presión y valores mayores a 13° Brix a cosecha. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio no se encontraron en los rangos óptimos de madurez antes mencionados, en comparación con el rango estimativo a cosecha, teniendo valores de firmeza superiores en ambos cultivares y valores de sólidos solubles un tanto inferiores, por lo que una explicación a estas variaciones podría ser la falta de madurez de consumo de la fruta en el árbol al momento de ser cosechada.

Para la empresa Andes New Variety Association (A.N.A.), el cultivar Rosy Glow desarrolla un mejor color, permitiendo así al productor una cosecha en el mejor momento, con el color y firmeza apropiada. Ello mejora la capacidad de guarda y se disminuyen las pérdidas de fruta según calidad, muchas veces por sobre madurez, esperando una mejor coloración de la fruta en el árbol como ocurre en el caso del cultivar Cripps Pink.

4.4 Resumen Climático

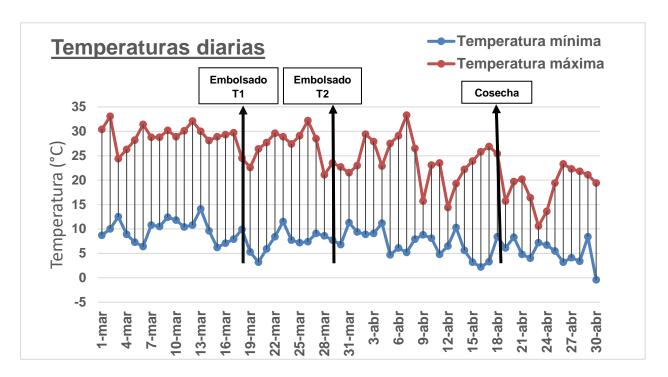


Figura 4.1 Resumen de temperaturas máximas y mínimas registradas desde el 01 de marzo de 2019 al 30 de abril de 2019, huerto San Carlos Agropacal, San Clemente, Región del Maule.

5. CONCLUSIONES

La inhibición de la radiación solar durante la etapa final de la maduración de las manzanas redujo significativamente la coloración de la piel, así como la acumulación de compuestos fenólicos.

La concentración de fenoles totales fue mayor en frutos del cv. Rosy Glow que estuvieron en condiciones normales (T0); para el caso del cv. Cripps Pink no se obtuvieron diferencias entre los tratamientos.

La capacidad antioxidante sí se estimularía en buena medida con la presencia de radiación solar, debido a que las mayores concentraciones ORAC se obtuvieron en aquellos frutos que se encontraron en condición normal (T0) y en embolsado 24 DAC (T2).

La inhibición de la luz en frutos sometidos a embolsado 36 y 24 días antes de cosecha (T1 y T2), no redujo la firmeza de pulpa de los frutos, obteniéndose incluso mayores valores con respecto a aquellos expuestos (T0).

6. BIBLIOGRAFIA

Bi, X., Zhang J., Chen, C., Zhang, D., Li,P., and Ma, F. 2014. Anthocyanin contributes more to hydrogen peroxide scavenging tan other phenolics in Apple peel. Food Chemistry 152: 205-209.

Calvo, G., Candan, A. P., Gomila, T., and Villarreal, P. 2008. Investigación regional sobre el comportamiento de la variedad en cosecha y poscosecha. Estación experimental agropecuaria Alto Valle, Centro Regional Patagonia Norte, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Rio Negro, Argentina. 69 p.

Centro de información de Recursos Naturales (DIRECON). 2014. Direcon y el apoyo al sector frutícola de chile, octubre, 2014. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En Línea] Recuperado en:https://www.direcon.gob.cl/2014/10/direcon-y-el-apoyo-al-sector-fruticola-de-chile. Consultado el 18 de abril del 2019.

Cerda, A., Lobos, G., Kufferath, E., y Sánchez, F. 2003. Elasticidades de demanda por manzanas chilenas en el mercado de la unión europea: una estimación econométrica. Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Empresariales, Talca. Recuperado en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072004000400008#mckenna. Consultado el 30 de abril del 2019.

CIREN-ODEPA. 2002. El escenario internacional, Tomo I. Recuperado en: https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2003/02/Tomol.pdf. Consultado el 20 de abril del 2019.

Contreras, G., y Escobar, L. 1995. Un sector exportador maduro: la fruta fresca. Recuperado en: http://cieplan.cl/media/publicaciones/archivos/31/Capitulo_5.pdf>. p137-138. Consultado el 20 de abril del 2019.

Coseteng, M., and Lee, C. 1987. Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browing. Journal Food Science 52: 986-989.

Cripps, J. E. L., Richards, L. A., and Mairata A. M., 1993. "Pink Lady" Apple. Departament of Agriculture, Baron-Hay Court, South Perth 6151. Western, Australia. HortScience 28:1057 p.

Curry, E. A., 1997. Temperatures for optimum anthocyanin accumulation in apple tissue. Tree Fruit Research Laboratory, Wenatchee, USA. Hort. Sci. 72: 723-729.

FAO, 2011. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura. Actualidad agropecuaria de América Latina y el Caribe. Recuperado en: http://www.fao.org/inaction/agronoticias/detail/es/c/508696/. Consultado el 16 de mayo del 2019.

Feng, F., Li, M., Ma, F., Cheng, L., 2014. The effects of bagging and debagging on external fruit quality, metabolites, and the expresión of anthocyanin biosynthetic genes in "Jonagold" apple (*Malus domestica* Borkh.). Departament of Horticulture, Cornell University, Ithaca, USA. Hort. Sci 165 123-131.

Fuleki, T., and Francis, F. J. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. Journal of Food Sciencie 33: 72-77. González, M. 2016. Efecto del embolsado de manzanas cv. Fuji Raku Raku en el perfil fenólico y la capacidad antioxidante del fruto. Memoria para optar al Título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Universidad de Talca. Talca, Chile. 54p.

Hernández, O., Fuentes, M., Sepúlveda, A., Torres, C., and Yuri, J. A. 2010. Análisis de postcosecha temporada 2009/2010. Boletín técnico centro de pomáceas. Volumen 10, numero 6. 10 p.

Huang, D., Ou, B., Hampsch-Wodill, M., Flanagan, J. A., and Deemer, E. K. 2002. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated beta-cyclodextrin as the solubility enhancer. Journal of Agricultural and Food Cheministry 50: 1815-1821.

Jakopic, J., Stampar, F., and Veberic, R. 2009. The influence of exposure to light on the phenolic contento f "Fuji" Apple. Scientia Horticulturae 123: 234-239.

Ju, Z.G., Yuan, Y. B., Liou, C. L., and Xin, S. H. 1995. Relationships among phenylalanine ammonia-lyase activity, simple phenol concentrations and anthocyanin accumulation in apple. Sciente Horticulture 61: 215-226

Lancaster, J. E., 1992. Regulation of skin color in apples. Crit. Rev. Plant science 10: 487-502.

Li, P. M., Ma, F. W., Cheng, L. L., 2013. Primary and secondary metabolism in the sun-exposed peel and the shaded pee lof apple fruit. Physiol. Plant 148, 9-24.

Lichtenthaler, H. K. 1987. Cholorophylls and carotenoids: Pigments of biomembranes. Methods in enzymology 148 350-382.

Macheix, J.J., Fleuriet, A., and Billot, J. 1990. Fruit phenolics. CRC Press, Inc. Boca Raton Florida. USA. 23-39 pp.

Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). 2018. Boletín frutícola, avance 2018. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En Línea] Recuperado en: https://www.odepa.gob.cl/rubros/frutas-frescas. Consultado el 18 de abril del 2019.

Pacheco, L. 2009. "Determinación de nutrientes en manzanas de variedades Fuji Royal, Granny Smith y Fuji en frutos libres y afectados por Bitter Pit". Memoria para optar al título de ingeniero en alimentos. Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas. Universidad de chile. Santiago, Chile. 53 p.

Palomo, I., Yuri, J.A., Moore-Carrasco, R., Quilodrán, Á., Neira, A., 2010. El consumo de manzanas contribuye a prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cáncer: antecedentes epidemiológicos y mecanismos de acción. Rev. Chil. Nutr. 37, Nº3, 379 p.

Pinto, L., y Fernández, L. 2011. Nuevos cultivares de pomáceas. Boletín Técnico, Volumen 11, Número 1. Centro de Pomáceas. Universidad de Talca. Talca, Chile. 4p. Recuperado en: http://pomaceas.utalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletin_N11_1.pdf. Consultado el 30 de abril del 2019.

Prior, R. L., Hoang, H., Gu, L., Wu, X., Bacchiocca, M., Howard, L., Hampsh-Woodill, M., Huang, D., Ou, B., and Jacob, R. 2003. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC)) of plasma and other biological and food simples. Journal of Agricultural and Food Cheministry 51: 3273-3279.

Saure, M. C. 1990. External control of anthocyanin formation in apple. Scientia Horticulturae 42 181-218.

Steyn, W. J., Wand, S. J. E., Holcroft, D. M., and Jacobs, G., 2005. Red colour development and los in pears. Departament of Horticultural Science, University of Stellenbosch, South Africa. Hort. 671: 79-85.

Steyn, W. J., Wand, S. J., Jacobs, G., Rosecrance, R., and Roberts, S., 2009. Evidence for a photoprotective function of low-temperature-induced anthocyanin accumulation in apple and pear peel. Departament of Horticultural Science, University of Stellenbosh, South Africa. Hort. 136: 461-472.

Treutter, D. 2001. Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. Plant Growth Regulation 34: 71-89.

Wang, L., Zhang, X., Liu, Y., Shi, X., Wang, Y., Zhang, C., and Zhao, Z. 2013. The effect of fruit bagging on the color, phenolic compounds and expression of the anthocyanin biosynthetic and regulatory genes on the Granny Smith apples. European Food Research and Technology 237:875-885.

Yuri, J. A., Neira, A., Fuentes, M., and Sáez, B. 2014. La manzana como fuente de antioxidantes. Boletín técnico Pomáceas. Volumen 14, N°5. 7p.

Yuri, J.A. 2006. Desarrollo de color en manzanas. Boletín Técnico. Volumen 6, Número 1. Centro de Pomáceas. Universidad de Talca. Talca, Chile. 4p. Recuperado en: http://pomaceas.utalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletin_N06_1.pdf. Consultado el 01 de mayo del 2019.

Yuri, J.A., Neira, A., Maldonado, F., Quilodrán, A., Simeone, D., Razmilic, I., and Palomo, I. 2014. Total phenol and quercetin content and antioxidant activity in apples in response to termal, light stress and to organic management. Journal of Applied Botany and Food Quality 87: 131-138.

Zhang, Y. Z., Li, P. M., Cheng, L. L., 2010. Developmental changes of carbohydrates, organic acids, amino acids, and phenolic compounds in "Honeycrips" apple fresh. Food chem. 123, 1013-1018.

Zhao, H., Wang, Y., Xu, X.F., Li, T.Z., Kong, J., Zhang, X.Z., Han, Z.H., Liu, H., 2011. Relationship of pigments and sugars in fruit peels of "Red Fuji" apples at various debagging times. Acta Horticulture 903: 923-928.

Zoratti, L., Karppinen, K., Luengo, A., Haggman, H., and Jaakola, L. 2014. Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. Frontiers in Plant Science 5(534): 1-16 p.