



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

**CARACTERIZACIÓN ESPACIAL DE LA INCIDENCIA DE
BITTER PIT EN MANZANAS, EN FUNCIÓN DE ÍNDICES
NO DESTRUCTIVOS DE MADUREZ Y SU POSICIÓN EN LA
PLANTA**

MEMORIA DE TÍTULO

ANTONIETA LORETO MARSANO TAGLE

TALCA, CHILE

2021

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, 2021

APROBACIÓN

Profesor Guía


Claudia Moggia Luchinni, Ing. Agrónomo., M. Sc., Dra.
Profesor Escuela de Agronomía
Facultado de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca

Profesor Informante


Sebastián Romero Bravo, Ing. Agrónomo., Mg, Dr.
Profesor Departamento de Ciencias Agrarias
Universidad Católica del Maule

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a la profesora Claudia Moggia por ser mi Profesor Guía, por su paciencia, compromiso y dedicación en la forma que realiza su trabajo y por permitirme realizar con ella mi memoria de pregrado. También a todos los profesores que conforman la facultad de agronomía de la Universidad de Talca por su excelencia académica. Agradezco a mi familia por siempre darme apoyo y a mis compañeros más cercanos que hicieron mi etapa universitaria inolvidable, en especial a Daniela, Valentina y Esperanza.

RESUMEN

El bitter pit (BP) es uno de los principales desórdenes fisiológicos que se desarrolla durante el almacenamiento de manzanas, afectando a la industria frutícola a nivel mundial. En Chile, se estima que los daños y pérdidas afectan, entre el 5% y 30% de la producción. Los productores realizan muestreos de fruta en precosecha para predecir su incidencia, sin embargo, existe escasa información de las características de la fruta en la planta y la distribución espacial del desorden, que permitan optimizar las estrategias de muestreo en huerto. En este estudio se realizó un primer ensayo para el cv. Granny Smith (localidad de San Clemente), el que recibió 10 aplicaciones de calcio (Ca) foliar y condiciones de raleo definido por el huerto, como único tratamiento (control). Adicionalmente, un segundo ensayo consideró al cv. Brookfield, con dos tratamientos: T1, control del huerto (10 aplicaciones de Ca foliar y raleo) y T2 sin aplicaciones de Ca y sin raleo; Este ensayo, fue desarrollado en dos huerto localizados en Río Claro y San Clemente. Para ambos cultivares, al momento de la cosecha comercial, se recolectó toda la fruta de tres plantas (repeticiones) para cada tratamiento y se midió color de fondo, color de cubrimiento, peso y diámetro. La fruta fue clasificada según su procedencia de las ramas principales del árbol, dividiendo imaginariamente cada planta en tres niveles (superior, medio e inferior). Luego toda la fruta se almacenó durante 4 meses (0°C, 85% HR), y a la salida de almacenaje se expuso a 20°C por 7 días. En ese momento se analizó incidencia y severidad de BP. Como resultado se observó que, independiente del cultivar, entre 75% y 100% del BP, ocurrió en los frutos provenientes de las ramas del nivel superior de las plantas. De forma consistente no hubo presencia de BP en frutos de las ramas inferiores. Para el cv. Granny Smith los frutos del nivel superior presentaron, además, mayor peso y diámetro. Para el cv. Brookfield los frutos del nivel superior de T1 se caracterizaron por un mayor porcentaje de color, respecto de los que no fueron tratados.

Palabras clave: Bitter pit, desorden fisiológico, color de fondo y color de cubrimiento.

Bitter pit (BP) is one of the main physiological disorders that develops during apple storage, affecting the fruit industry worldwide. In Chile, it is estimated that damages and losses, oscillates between 5% and 30% of the whole production. Producers carry out pre-harvest fruit samples to predict the incidence of this disorder, however, there is little information on the characteristics of the fruit in the plant and the spatial distribution of the disorder, that allows to be used for sampling strategies in the orchard. A first trial was carried out for cv. Granny Smith (San Clemente locality), which received 10 applications of foliar calcium (Ca) and fruit thinning defined by the orchard, as the only treatment. In addition, a second trial considered cv. Brookfield, with two treatments: T1, control of the orchard (10 applications of Ca foliar and thinning) and T2 without applications of Ca and without thinning; This trial was developed in two orchards located in Río Claro and San Clemente. For both cultivars, at the time of commercial harvest, all the fruit of three plants (repetitions) was collected for each treatment and background color, cover color, weight and diameter were measured. The fruit was classified according to its origin from the main branches of the tree, dividing each plant into three imaginary levels (upper, middle and lower). Then, all the fruit was stored for 4 months (0 ° C, 85% RH), and once finished the storage period, the fruit was exposed to 20 ° C for 7 days. At that time, the incidence and severity of BP was analyzed. As a result, it was observed, that independent of the cultivar, between 75% and 100% of the BP occurred in the fruits from the branches of the upper level of the plants. Consistently there was no presence of BP in fruits of the lower branches. For the cv. Granny Smith, the fruits of the upper level, got greater weight and diameter. For the cv. Brookfield the fruits of the upper level of T1 were characterized by a higher percentage of color, compared to those that were not treated.

Key words: Bitter bone, physiological disorder, background color and covering color.

ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. INTRODUCCIÓN.....	7
Hipótesis.....	10
Objetivo general	10
Objetivos específicos	10
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1. Composición del fruto y maduración.....	11
2.2. Desórdenes fisiológicos	12
2.3. Bitter pit.....	13
2.4. Distribución de calcio en la fruta	15
2.5. El transporte de calcio en la planta	15
2.6. Interacciones con otros nutrientes	16
2.7. Aplicaciones foliares de calcio	17
2.8. Manejo de carga frutal.....	18
2.9. Susceptibilidad según patrón y variedad	19
2.10. Bitter pit según distribución de frutos en la canopia	20
3. MATERIALES Y METODOS.....	21
3.1 Características de los huertos	21
3.2 Diseño experimental y tratamientos	21
3.3 Evaluaciones en cosecha	23
3.4 Evaluaciones en post-almacenaje.....	23
3.5 Análisis estadístico	24
7. BIBLIOGRAFÍA.....	39

ÍNDICE DE CUADROS

		Pag
Cuadro 1.	Características no destructivas en frutos del cv. Granny Smith a cosecha (chroma, diámetro, peso y número de frutos por árbol) según su posición en altura dentro de la planta.	27
Cuadro 2	Incidencia (%) y severidad de bitter pit, después de 5 meses de almacenaje refrigerado (0°C, 88% HR); en frutos del cv. Granny Smith, según su posición en altura dentro de la planta	28 29
Cuadro 3.	Características no destructivas en frutos de cv. Brookfield a cosecha (Chroma, diámetro, peso y numero de frutos por árbol) según su posición en altura dentro de la planta y, tratamiento de Ca y raleos. Fruta proveniente del huerto AMS.	
Cuadro 4.	Incidencia (%) y severidad de bitter pit, después de 5 meses de almacenaje refrigerado (0°C, 88% HR); en frutos del cv. Brookfield, según su posición en altura dentro de la planta, y tratamiento de Ca y raleo.	30
Cuadro 5.	Características no destructivas en frutos de cv. Brookfield a cosecha (Chroma, diámetro, peso y numero de frutos por árbol) según su posición en altura dentro de la planta, y tratamiento de Ca y raleo. Fruta proveniente del Huerto CP.	32
Cuadro 6	Incidencia (%) y severidad de bitter pit, después de 5 meses de almacenaje refrigerado (0°C, 88% HR); en frutos del cv. Brookfield, según su posición en altura dentro de la planta, y tratamiento de Ca y raleo. Fruta proveniente del huerto CP.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pag
Figura 1.	Esquema de división imaginaria de los árboles para la identificación de los frutos, según altura de la rama.	24
Figura 2.	Valor porcentual de bitter pit en manzanas provenientes de ramas del nivel superior, medio e inferior de la planta, para tratamientos de Ca y raleo, para cv. Brookfield en huerto AMS, y esquema visual de división espacial en la planta.	31
Figura 3.	Valor porcentual de bitter pit en manzanas provenientes de ramas del nivel superior, medio e inferior de la planta, para tratamientos de Ca y raleo, para cv. Brookfield en huerto CP.	34

1. INTRODUCCIÓN

El manzano (*Malus domestica* Borkh.) es una especie de zonas climáticas frías y templadas (Ferree y Warrington, 2003). Es uno de los primeros frutales cultivados por el ser humano y, es uno de los tipos de fruta de mayor difusión en todo el mundo, ya que posee gran facilidad de adaptación a diferentes zonas climáticas y tipos de suelos; además destaca por su gran valor nutricional, calidad y diversidad de productos que pueden ser obtenidos en la industria procesadora de alimentos (Leiva, 2017). La producción mundial de manzana se ha incrementado en los últimos años, pasando desde 71.500 millones de toneladas en 2012-2013 hasta más de 77.000 millones en 2016-2017. China produce el 56% de la producción mundial, en tanto Estados Unidos y Europa juegan un rol relevante, con 6% y 16% de la producción, respectivamente. En el hemisferio sur los principales países productores de manzanas son; Chile con 29% de la producción en dicha zona, luego Brasil con 22%, le sigue Sudáfrica con 19%, Nueva Zelanda con 12% y Argentina con 11% (Echenique, 2017). Según la investigación de Grau (2015), dos tercios de las exportaciones mundiales de manzanas son controlados por seis países principalmente: Chile, China, Italia, Estados Unidos, Francia y Polonia. Conociendo lo anterior, Chile es el principal exportador de manzanas del hemisferio sur en contra estación, hecho que constituye una gran relevancia económica para la industria de la manzana.

En Chile, la superficie comercial plantada de manzano de variedades rojas al año 2016, registra 28.866 hectáreas, siendo las regiones más destacadas Biobío (1400 hectáreas), La Araucanía (2.638 hectáreas), O'Higgins (5.955 hectáreas) y Maule (18.653 hectáreas). Por otro lado, la superficie comercial plantada de manzano de variedades verdes al año 2016 es de un total de 6.645 hectáreas, donde las regiones con mayor superficie planta son Maule (3.275 hectáreas), y O'Higgins (2.955 hectáreas) (ODEPA, 2016). En términos de volumen producido en Chile, Royal Gala representa un 38%, seguidas por Granny Smith (19%), Fuji (15%) y Pink Lady (10%) (Quiroz, 2017). Las exportaciones de manzanas de nuestro país desde enero a octubre del 2019 fueron de 42.015 toneladas hacia Taiwán, 17.979 hacia Rusia, 27.220 hacia Reino Unido, 72.080 toneladas hacia Colombia, 39.637 toneladas hacia China, 78.662 toneladas hacia EE. UU, 42.478 toneladas hacia India, 37.210 toneladas hacia Perú y 84.242 toneladas a otros países. El total de exportaciones durante ese periodo alcanzó un valor de USD 611.241.291 FOB, incluyendo las demás exportaciones a países como Ecuador, Arabia Saudita, El salvador, Alemania, Canadá, Guatemala, Holanda, México, Francia y Brasil (ODEPA, 2019).

Junto con la apertura a mercados extranjeros que ha experimentado Chile en las últimas décadas, y el largo tiempo de almacenamiento al cual se someten las manzanas, llegar con una buena calidad de fruta a los países destino, es crucial para ser considerados y cotizados por países europeos, o Asia y Oriente (Correa, 2014).

Durante el periodo de postcosecha de manzanas, se pueden incrementar o expresar desórdenes fisiológicos tales como, escaldado superficial, pardeamiento interno, escaldadura por sol y, bitter pit, entre otros, siendo los factores que afectan su desarrollo condicionados durante el crecimiento del fruto, la cosecha o la postcosecha. Dentro de las alteraciones fisiológicas más frecuentes, destacan los asociados a desbalances nutricionales, en donde bitter pit y lenticelosis, son los que más afectan la calidad y al descenso del precio de venta de la fruta (pérdidas por descarte, salida de frío re-embalaje o reclamos en destino). El bitter pit es un desorden que se caracteriza por lesiones circulares de color pardas de tipo corchosas (1 a 4 mm de diámetro). Numerosos estudios lo han logrado relacionar con la deficiencia de Ca en las fases de división y elongación celular del fruto, mientras éste se desarrolla en la planta (Román, 2014). Usualmente el daño se ubica en la zona calicinal de fruto, (zona más distante, lo cual dificulta la llegada de Ca), pudiendo o no afectar a la piel de este. El desarrollo de este desorden comienza al interior del fruto mucho antes de la cosecha, el cual sigue su curso en la etapa de almacenamiento haciéndose notar solo después de un periodo de 3 a 4 meses de guarda. En la actualidad, se utilizan periódicamente aplicaciones foliares de Ca para aumentar la disponibilidad de este elemento durante todo el desarrollo de los frutos. Las aplicaciones de Ca varían de 10 a 14 en la temporada (según la susceptibilidad del huerto y la variedad). Para monitorear el nivel de Ca disponible en manzanas, se puede utilizar la predicción en base al análisis mineralógico de la fruta en un determinado estado de desarrollo (60 días después de plena flor), ya que se ha demostrado que la cantidad de Ca acumulada hasta ese momento disminuirá en un 50% al momento de cosecha (Hoying et al., 2004). Sin embargo, este método de predicción no ha sido del todo satisfactorio, ya que los análisis demoran mucho tiempo en estar disponibles (10-15 días), además de ser destructivo y presentar gran variabilidad en los resultados, pues se utilizan muestras compuestas de 10 a 20 frutos. Adicionalmente, existe escasa información de la distribución del desorden fisiológico dentro de la planta (Ferguson y Triggs, 1990), lo cual dificulta aún más la determinación del tamaño muestral y la proporción de frutos que deben ser colectados desde cada posición en específico para lograr un análisis certero.

En consecuencia, desarrollar metodologías que permitan determinar el riesgo que presentarían diferentes cosechas de fruta al desarrollo de BP, sería de gran utilidad para la industria productora de manzanas, ya que permitiría optimizar las condiciones y tiempos de guarda, en función de dicha susceptibilidad, contribuyendo a disminuir la incidencia del desorden, durante el almacenamiento y también una vez llegado al destino final. Lo anterior es muy importante considerando los elevados costos operacionales de re-embalaje en destino, junto con la falta de seguridad para los compradores frente al producto (Torres y Hernández, 2014).

El presente trabajo se enmarca en un proyecto FONDEF que busca desarrollar un método no destructivo de predicción de BP basado en una tecnología no destructiva por Fluorescencia de Rayos X; la cual ofrecería una respuesta rápida, y permitiría su aplicación a frutos individuales. Para ello, es fundamental conocer las características de la fruta en la planta, en cuanto a su distribución espacial dentro de la canopia, ya que esto permitirá mejorar las estrategias de muestreo para la predicción del bitter pit.

Hipótesis

Los frutos con mayor predisposición a bitter pit en una planta de manzano son aquellos que crecen en las posiciones más extremas de la canopia, dificultando la llegada del calcio (elemento poco móvil). Esta predisposición disminuiría con aplicaciones foliares de Ca y un raleo adecuado de los frutos.

Objetivo general

Conocer las características de la fruta en la planta, en cuanto a su distribución espacial dentro de la canopia, con el fin de mejorar las estrategias de muestreo de fruta potencialmente susceptible a bitter pit

Objetivos específicos

Caracterizar el peso, calibre y desarrollo de BP post-almacenaje en frutos de manzanos cv. Granny Smith en función de su posición espacial (altura) dentro de la planta, bajo condiciones de manejo comercial de huerto.

Caracterizar el peso, calibre, color y desarrollo de BP post-almacenaje en frutos de manzanos cv. Granny Smith en función de su posición espacial (altura) dentro de la planta, bajo dos manejos comerciales de raleo y aplicaciones foliares de Ca.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Composición del fruto y maduración

La composición química de las manzanas varía dependiendo del cultivar, localización, clima, madurez, y prácticas agronómicas. Los carbohidratos son el principal compuesto de este fruto, tales como, almidones, azúcares, pectina, celulosa y hemicelulosa. Las manzanas inmaduras contienen alrededor de 3-4% de almidón, y una vez alcanzada la madurez, el almidón es transformado mayormente en fructosa. Las manzanas maduras y frescas contienen cerca del 15% de carbohidratos, de los cuales la mayoría son azúcares, tales como, fructosa (5-7%), sacarosa (3-5%) y glucosa (1-2%) (Lee et al., 1970). El contenido vitamínico en manzanas cambia dependiendo si se consume con o sin su piel, la vitamina C es una de las más abundantes en este caso, su contenido promedio es cercano a 5mg/100 g de manzana. También es una buena fuente de componentes fenólicos. El total de componentes fenólicos extraíbles del fruto fluctúa entre 110 y 357 mg/ 100 g de manzana fresca, dentro de los cuales, las antocianinas es el más común y se encuentra en la piel del fruto (otorga la coloración rojiza dependiendo de la variedad), posee una alta actividad antioxidante, lo cual es benéfico para el consumo humano. La pulpa contiene otros compuestos interesantes para la salud como catequinas, procianidinas, floridzina, floretina y ácido clorogénico (Wolfe y Liu, 2016).

La maduración de la manzana es el conjunto de procesos que acontecen desde las últimas etapas de crecimiento y desarrollo hasta las primeras etapas de la senescencia, que resultan en su calidad estética o alimentaria característica y se manifiestan por cambios en la composición, color, textura y demás propiedades organolépticas (Seymour, 1993).

El fruto comienza a desarrollarse después de la polinización y la fertilización (O'Neill, 1997) a través de la división celular, fenómeno que se presenta en las primeras etapas del desarrollo (Dos Santos et al., 2015). Después de este periodo, las vacuolas comienzan a formarse, causando el crecimiento y expansión de la célula, en esta etapa el fruto aumenta su tamaño y se alarga, luego sigue la fase de maduración, donde el número de células se mantiene relativamente constante, observándose un aumento en el tamaño de estas (Dos Santos et al., 2015). En las etapas finales del crecimiento y el desarrollo, ocurre el proceso de maduración en dos fases: la madurez fisiológica, cuando el fruto alcanza su máximo tamaño y el mayor vigor de las semillas; y segundo, la madurez de consumo, aquí los

cambios del fruto incluyen 1) cambio de color debido a la alteración en el contenido de clorofilas, carotenoides y la acumulación de flavonoides; 2) el cambio de textura por la alteración del turgor celular y de la estructura de la pared celular; 3) la modificación en la concentración de azúcares, ácidos orgánicos y compuestos volátiles que afectan la calidad nutricional, el sabor y el aroma del fruto; y 4) aumento en la susceptibilidad al ataque de patógenos asociados a la pérdida de integridad de la pared celular (Giovannoni, 2004; Seymour et al., 2013; Dos Santos et al., 2015). El etileno es el responsable del ablandamiento y maduración en manzanas, además de otros frutos climatéricos (Knee, 1989). Aun no se sabe, ciertamente si el etileno es el principal responsable del comienzo de la maduración de los frutos, o si solo lo acelera, pero sí está demostrado que al inhibir la producción de etileno por la fruta el proceso de maduración ocurre lentamente, retrasando el ablandamiento en manzanas y mejorando la textura luego de varios días de almacenamiento (Johnson y Colgan, 2003).

Una vez las frutas han adquirido la madurez de consumo necesario, se deben comercializar rápidamente y manipularlas con cuidado para minimizar el daño por golpe o mal manejo (Kader, 2002).

2.2. Desórdenes fisiológicos

El fruto del manzano es susceptible a diferentes desórdenes fisiológicos que pueden afectar la piel, córtex, y la zona media del fruto. Como resultado, estos desórdenes producen significantes pérdidas económicas para los agricultores y comercializadores. El desorden expresado depende del tipo de patrón, así como también, del tipo de variedad; siendo los más comunes los que se relacionan con deficiencias nutricionales. La fecha de maduración también es un factor relevante, así también, como el nivel de maduración de la fruta, usualmente en relación con el incremento de la producción de etileno y la asociación con la respiración climatérica, inciden en el desarrollo de desórdenes fisiológicos (Watkins, 2004).

2.3. Bitter pit

El bitter pit es un desorden fisiológico directamente relacionado con el contenido de los nutrientes minerales en el fruto, en especial el calcio (Ca). La susceptibilidad de la fruta al bitter pit posee tres componentes; genético (patrón y variedad), climático y manejo del huerto.

Bitter pit aparece en cultivares tales como “Golden delicious”, “Goldspur” y “Champion” (Takac, 1994), así como en otros cultivares. El cultivar Golden delicious ha mostrado más incidencia a este desorden en comparación con “Red Delicious” (Khan et al., 2006), también cv. “Catarina” es más susceptible que “Fuji” (Miqueloto et al., 2011). Volz et al., (2006) estudio la variabilidad y sensibilidad genética de diferentes variedades, y concluyo que la aparición de bitter pit esté ligado al tipo de cultivar, el manejo y el ambiente en el cual se encuentra el fruto. La susceptibilidad varietal fue explicada por Miqueloto et al., (2014), quien descubrió que arboles de diferentes cultivares pierden la funcionalidad del xilema en diferentes etapas de desarrollo del fruto, ya que los iones de calcio son transportados principalmente por el xilema (Saure, 2005).

En cuanto al clima, veranos muy calurosos y secos están más asociados a una mayor incidencia de desórdenes fisiológicos, en comparación con veranos frescos. Los agricultores deben tomar en consideración los patrones y cambios climáticos de los últimos años al momento de planificar las aplicaciones de calcio foliar, ya que los niveles de bitter pit están asociados a un aumento de la temperatura, fenómeno que ha ocurrido en las últimas décadas. Por otro lado, cualquier practica que favorezca en exceso el crecimiento de los frutos, favorecerá la aparición de bitter pit ya que serán más sensibles al déficit de calcio. Para controlar el bitter pit se recomienda evitar las podas excesivas, moderar el vigor del árbol y evitar aplicaciones fuertes de nitrógeno para evitar que se desarrolle demasiado follaje, ya que compite por el calcio con los frutos. El raleo debe ser preciso y adecuado para obtener un gran número de frutos de tamaño medio y asegurar una buena floración para el año siguiente (Val y Blanco, 2000). En adición, la disponibilidad de calcio en el suelo y niveles de calcio en la fruta, son afectados por prácticas de manejo tendientes a regular el vigor de la planta y el balance entre fruta/material vegetativo. Los iones de calcio no se mueven fácilmente en el suelo, por lo tanto, es de gran importancia ajustar los niveles de calcio y de pH en el suelo para aumentar su movilidad y disponibilidad para las raíces de la planta (Bramlage y Weis, 2004). El bitter pit está asociado directamente con niveles bajos de calcio en el fruto (Ferguson y Watkins, 1989). Las lesiones provocadas en el fruto pueden

variar en forma y color, son irregulares, con bordes facetados. Con el transcurso del tiempo, las lesiones pequeñas pueden unirse, formando lesiones más grandes. El bitter pit puede aparecer a menudo durante la maduración del fruto, como también en el primer mes de almacenamiento refrigerado, o mientras es trasladado en la cadena de empaque (Shoffe et al. 2016).

Si bien la deficiencia de Ca es considerada generalmente la causa directa de bitter pit, el proceso biológico de este desorden exacto no es conocido. Los iones de calcio (Ca^{+2}) son componentes estructurales en la membrana celular, también en paredes celulares, y ayudan a regular el agua intracelular, así como también cumplir un rol en la señalización hormonal (Freitas y Mitcham, 2012). Ya que el calcio cumple un rol estructural dentro de la célula, cuando su concentración es baja en la pared celular, la permeabilidad aumenta dando paso a partículas indeseadas hacia el interior de la célula, lo cual puede producir su deterioro y muerte, manifestándose en lesiones negras o cafés asociadas al bitter pit (Ho y White, 2005).

La incidencia de desórdenes relacionados con el calcio se ha relacionado a una rápida expansión celular, cuando la demanda de calcio por el fruto excede el suministro, esto es debido a que la asimilación y transporte de este elemento es muy lento, en comparación con el desarrollo acelerado de los frutos (Saure, 2005). Además, existe competencia entre las hojas y el fruto por el Ca asimilado por el árbol (White y Broadley 2003). La concentración de Ca disponible en la planta es regulada restringida y concisamente, los iones se mueven entre las células (apoplasto), dentro de las células (simplasto), desde las raíces hacia las hojas y fruta, mediante el xilema. El flujo de transpiración sirve como una especie de “motor” que moviliza los iones de calcio hacia los puntos de crecimiento y hacia la fruta. El exceso de calcio en la planta es almacenado dentro de las vacuolas. La cantidad de calcio almacenado en las vacuolas puede alcanzar hasta el 40% del total del calcio en la planta (Bangerth, 1979). El transporte de calcio no ocurre a través del floema, por ende, el calcio no puede moverse desde el tejido foliar a la fruta en durante su crecimiento. Debido a la baja tasa de transpiración del fruto en las últimas fases de desarrollo (en comparación con el tejido foliar) la mayor parte del agua en el xilema que también transporta calcio y otros nutrientes minerales se dirige hacia las hojas (Falchi et al., 2017). Mientras la fruta incrementa su tamaño durante el desarrollo de la fase de expansión celular, el tejido xilemático comienza a perder su efectividad transportadora hacia la fruta (Lazar et al, 2001).

2.4. Distribución de calcio en la fruta

El contenido de calcio y agua en el fruto depende de las vías por las cuales se moviliza, además, de las interacciones de las paredes celulares con los iones de Ca, del transporte de agua y de la tasa de transpiración del fruto. El factor principal que afecta la distribución de calcio en la parte aérea de la planta es; la cantidad de agua en el xilema (sabiendo que Ca^{+2} es prácticamente inmóvil en el floema); la competición por los sitios activos en el xilema y membranas, entre iones (incluyendo el ion H^{+} , por ende, el pH es un factor relevante), la formación de complejos moleculares insolubles y finalmente, la vía de transporte de iones y agua (Franceschi y Nakata, 2005). La concentración de calcio en diferentes compartimientos celulares puede impactar en el transporte de agua a través de la membrana, por ejemplo, incrementos del ion Ca^{+2} , disminuye el transporte de agua a través de las acuaporinas (Allewaert et al., 2006; Verdoucq et al., 2008), esto afecta el flujo de agua en el apoplasto y en el simplasto, y la cantidad de calcio entregado en diferentes zonas del fruto (Gilliham et al., 2011).

2.5. El transporte de calcio en la planta

Se puede evidenciar la relación entre el transporte de agua y calcio al estudiar los órganos sumideros, que poseen una tasa de transpiración relativamente baja, tal como los frutos. Una vez establecida la fruta, su tasa transpiratoria está en los niveles más altos, pero una vez llegando a la fase final de crecimiento comienza a descender, manteniéndose en este rango durante toda la maduración, mientras que la transpiración en las hojas se mantiene en niveles altos y estables a lo largo del desarrollo (Montanaro et al., 2014). En las primeras etapas de desarrollo la mayor parte del calcio es entregado a la fruta por el xilema (Montanaro et al., 2012). En la mayoría de las especies la entrega de agua, azúcar y nutrientes básicos durante las etapas tardías de la maduración del fruto ocurre mayoritariamente mediante el floema (Drazeta et al., 2004; Choat et al., 2009). Como el calcio posee baja movilidad a través del floema, la acumulación de este micronutriente en los órganos sumideros aéreos, como el fruto, es dependiente de la entrega por el xilema (Rogiers et al., 2000). La baja movilidad de calcio en el floema puede llevar a deficiencias localizadas en la fruta.

Existe relación entre la acumulación de calcio, transpiración de la fruta y condiciones ambientales. El floema y xilema contribuyen a la nutrición e hidratación de la fruta durante las todas las fases de desarrollo, pero sus funcionamientos son alterados por las condiciones ambientales. En condiciones de déficit de presión de vapor en la atmosfera, la acumulación de calcio se asocia a la transpiración (transporte xilemático), suministrando agua a la fruta, y por consecuencia Ca; en condiciones de bajo déficit de presión de vapor en la atmosfera, baja la tasa transpiratoria, produciendo que se reduzca el transporte de agua y Ca a través del xilema, predominando solo el suministro de nutrientes a través del floema (por consecuencia reduciendo el movimiento de calcio ya que este elemento solo es transportado por el xilema) (Montanaro et al., 2015). La acumulación de calcio ha mostrado ser dependiente del flujo de savia del xilema, influenciado por la transpiración y la tasa de crecimiento de la fruta (de Freitas et al., 2014).

2.6. Interacciones con otros nutrientes

Para estimular el crecimiento en árboles jóvenes, los agricultores generalmente realizan aplicaciones de nitrógeno y otros elementos a lo largo de toda la temporada, con el fin de fertilizar el suelo y suplir los requerimientos nutricionales de las plantas, en consecuencia, al momento de la cosecha, la fruta puede contener gran concentración de nitrógeno, lo cual puede llegar a ser muy perjudicial, ya que los frutos con mucho contenido de nitrógeno tienden a ser más blandos, susceptibles a la caída prematura y a desordenes fisiológicos como el bitter pit.

Adicionalmente, altos niveles de nitrógeno empeoran los efectos de las deficiencias de otros elementos, el exceso de nitrógeno incrementa el tamaño del fruto, disminuyendo el contenido de calcio, provocando desbalance entre ambos nutrientes y afectando a las paredes celulares (William y Weis, 2016). A la vez, el tejido foliar compite con el fruto por el calcio de manera más efectiva, por ende, un programa que busque maximizar la llegada de calcio a la fruta debe involucrar prácticas que controlen esta competición. El balance entre hojas y fruto es dependiente del vigor de la planta y de la densidad frutal, es importante mantener un apropiado balance evitando el exceso de aplicaciones nitrogenadas principalmente (Watkins, Schupp y Rosenberger, 2004).

La interacción del Ca con otros elementos como el potasio y magnesio están asociados a la inducción de Bitter pit (de Freitas y Mitcham, 2012). El potasio está fuertemente involucrado en la expansión celular, crecimiento de la planta y los frutos, además es mucho

más abundante y fácil de transportar a la fruta en comparación con el calcio. El incremento de potasio produce rápido crecimiento de las células del fruto, afectando la estructura de la célula (de Freitas et al., 2010). Tanto el potasio como el magnesio son conocidos por competir con el calcio por los sitios activos en la membrana plasmática (do Amarante et al., 2013). El calcio localizado en la membrana plasmática retrasa los fosfolípidos y otros compuestos catabólicos, lo cual preserva la integridad de la membrana, limitando los cambios senescentes en la membrana. Debido a las similitudes entre el calcio y el magnesio, cuando las concentraciones de estos compuestos son muy altas, pueden dejar incompetente al calcio en sitios activos dentro de la membrana para procesos como activación de enzimas y cumplir con la fosforilación de las membranas celulares sin realizar el mismo rol estructural del calcio, acelerando el catabolismo y la senescencia del fruto (White y Broadley, 2003).

2.7. Aplicaciones foliares de calcio

Las aplicaciones foliares de calcio se usan comúnmente para controlar desórdenes fisiológicos relacionados con este elemento. El aumento de la frecuencia y la cantidad de calcio aplicado directamente en el fruto está asociado a un incremento de los niveles de calcio en este, sin embargo, la eficiencia de absorción en diferentes estados fisiológicos del fruto esta poco estudiada (Kalesits et al., 2017).

Los niveles de nutrientes en la hoja varían a lo largo de toda la temporada y también varían entre las hojas del mismo árbol. El muestreo mineralógico de las hojas se debe realizar cuando los niveles de la mayoría de los nutrientes estén relativamente estables, esto ocurre cuando finaliza el crecimiento de los brotes. En el caso del calcio, el contenido en las hojas es adecuado cuando se encuentra en un rango dentro del 2-3%. Niveles bajos de calcio foliar es frecuentemente, pero no siempre, asociado con bajos niveles de este compuesto en el suelo y a un pH ácido (Hoying et al., 2004).

Como recomendación general, se sugiere la aplicación de calcio en la etapa de precosecha, si los niveles de calcio son bajos en la etapa de crecimiento, ya que una aplicación más temprana del compuesto implica riesgo por daño salino en el tejido foliar joven. Luego se pueden aplicar grandes concentraciones en el tejido foliar maduro (Stiles y Reid, 1991), comenzando 7 a 10 después de caída de pétalos, con aplicaciones de cloruro

de calcio (78% CaCl₂) cubriendo el follaje, con 14 días de intervalo, hasta semanas previas a la cosecha. Las aplicaciones foliares poseen beneficios a altas concentraciones, la distribución del producto es homogénea, son fáciles de manejar y producen una respuesta rápida a los compuestos aplicados por parte de la planta (Khayyat et al., 2007). Las aplicaciones foliares de calcio en algunos ejemplares de manzana de diferentes variedades durante las temporadas de 2010 y 2011 fueron estudiadas (Asgharzade et al., 2012) en Egipto. Los resultados obtenidos mostraron, en todas las mediciones, rendimientos altos, firmeza en la fruta, altos niveles de sólidos solubles. El uso de cloruro de calcio tiene un efecto positivo en el incremento porcentual de calcio en las hojas.

Las inmersiones de calcio en postcosecha también son usadas para incrementar los niveles de Ca en frutos ya cosechados, y pueden reducir la incidencia de desórdenes en guarda, pero debieran ser usadas como último recurso. Las aplicaciones en postcosecha no controlarían el desarrollo de bitter pit si las condiciones de crecimiento, maduración, o enfriamiento después de la cosecha no han sido adecuadas y predispusieron al fruto a padecer bitter pit (Watkins et al., 2004).

2.8. Manejo de carga frutal

La carga frutal es un parámetro cuantitativo usado en la fruticultura, es definido generalmente como cantidad de frutos/ árbol (Jones et al., 1992). La carga frutal es el factor más importante que incide en el tamaño de los frutos (Forshey, 1976). El tamaño de las manzanas siempre ha sido un factor crítico determinante en su valor comercial. El raleo temprano de frutos en desarrollo produce frutos de mayor tamaño al momento de la cosecha (Preston y Quinlan, 1968). El raleo consiste en la remoción parcial de flores o frutos en los estados iniciales de desarrollo en árboles demasiado cargados, puede realizarse manualmente o con aplicaciones químicas (Razeto, 1992); es una práctica normal, necesaria y de suma importancia en huertos destinados a producción de manzana de calidad, ya que bajo óptimas condiciones el árbol cuajará un gran número de frutos que no serán de un tamaño y calidad comercial (Cooper, 1980). Además, dado que la inducción floral se produce muy temprano, el raleo debe ser realizado dentro de los 40 días siguientes a plena floración, para que la floración del año siguiente sea estimulada (Westwood, 1982). De acuerdo con lo anterior, Razeto (1984) planteó que el raleo debe efectuarse lo antes posible para obtener los beneficios de aumento de tamaño y control del añerismo, además

de un aumento de la productividad de los árboles, ya que es posible dejar mayor cantidad de fruta que alcanzará un tamaño adecuado (Camus, 1993).

La carga frutal final debe estar determinada por el vigor y la condición general de la planta. El área foliar por fruto afecta el número de brotes florales de la siguiente temporada (Harley y Moon, 1957). Reducir el número de frutos por árbol, inevitablemente incrementará el área foliar por fruto, resultando en un incremento en la disponibilidad de asimilados para los frutos restantes en desarrollo (Palmer et al., 1991). Las cargas frutales menores tienden a producir frutos con más susceptibilidad a desordenes de almacenamiento tales como bitter pit, en comparación con cargas frutales mayores (Ferguson y Watkins, 1989). Una carga frutal de 120-130 kg de fruta por árbol es considerada pesada y una carga de 80-90 kg de fruta por árbol es considerada liviana. Los frutos más grandes son más susceptibles a bitter pit, ya que estos tienden a tener menores concentraciones de Ca (Ferguson y Triggs, 1990).

2.9. Susceptibilidad según patrón y variedad

El genotipo del patrón influye en las interacciones entre nutrientes y los parámetros relacionados con el almacenamiento, incluido el bitter pit y el contenido de Ca en el fruto. Frutos sobre patrones como el M26 pueden madurar más temprano (Sharples, 1972; Fallahi et al, 1985) y aumentar la incidencia de bitter pit. El patrón ejerce una influencia selectiva sobre la translocación de los elementos como el Ca y por tanto repercute sobre el desarrollo posterior del bitter pit (Monge et al., 1995). Este desorden fisiológico tiene un componente genético en gran medida; sin embargo, el ambiente y las prácticas culturales a las que se somete el huerto son, también, determinantes en la expresión del bitter pit, ya que se ha demostrado que un mismo cultivar ha desarrollado diferentes niveles de bitter pit en distintos lugares geográficos, condiciones climáticas y manejos agrícolas (Ferguson y Watkins, 1989). Se han hecho varias clasificaciones de las variedades de manzano según su susceptibilidad, pero cada una tiene un comportamiento diferente según el clima, condiciones de cultivo o patrón sobre el que se injerta. Variedades como Gala o Granny Smith son consideradas dentro de las más susceptibles, una de las moderadamente susceptibles es, por ejemplo, Reineta Blanca (Iglesias et al., 2000). Cultivares tales como Braeburn, Golden, Jazz, Honeycrisp, Kanzi y Envy pueden incluso presentar los síntomas antes de la cosecha (Román, 2014). Aparte de los diferentes tratamientos químicos, no existe un único método eficiente que controle totalmente los síntomas de bitter

pit en cultivares de importancia económica tales como Honeycrisp, Granny Smith y Catarina, los cuales son susceptibles a este desorden (Miqueloto et al., 2014).

2.10. Bitter pit según distribución de frutos en la canopia

La calidad de fruta puede variar dentro de diferentes huertos o cuarteles, y también dentro de un mismo huerto, por otro lado, aun no se ha estudiado en profundidad, la variación de la fruta dentro de un mismo árbol según su distribución en la canopia (Zhang et al., 2006). El cambio en la calidad de la fruta en un mismo árbol se ha logrado asociar a la intercepción de luz solar (Robinson et al., 1983). Se ha demostrado, en duraznos, que la fruta desarrollada más al interior de la planta ha sido más susceptible a desarrollar desordenes fisiológicos (Lurie y Crisosto, 2005). En el cultivo extensivo y de alta densidad de manzanas, se han desarrollado huertos con gran uniformidad en la intercepción de la luz solar junto con patrones enanizantes, lo cual permite una mayor uniformidad en la calidad final de la fruta (Palmer et al., 2002), por otro lado, en huertos con patrones de mayor altura y vigor, se produce mucha variabilidad en la calidad de fruta y en el desarrollo de desórdenes fisiológicos dentro de una misma planta.

La distribución y acumulación de calcio en la planta está relacionado con la tasa de transpiración, en sectores con mayor tasa transpiratoria habrá más acumulación de calcio, en comparación con sectores que posean baja tasa transpiratoria (Hill, 1980). En 1971, Jackson y Sharples reportaron bajos niveles de calcio en la parte más alta de la canopia en plantas de mayor longitud y plantadas en huertos de baja densidad. Sin embargo, un estudio realizado por Kalcsits, et al., 2019, encontró bajos niveles de calcio y potasio en la parte más baja de la canopia, además de mayor incidencia de bitter pit al interior de la canopia, este estudio se realizó en huertos de alta densidad, con plantas de tamaño compacto.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Características de los huertos

Los ensayos experimentales se llevaron a cabo durante la temporada 2018/19, en el huerto comercial Encinos, propiedad de la empresa Casas Patronales ubicado en la comuna de San Clemente, Región del Maule, Chile, (35°30'52.3"S; 71°26'42.8"W), y en un huerto comercial de la empresa Agrícola Santa María (AMS) situado en el km 2,5 de la ruta k-245, Río Claro, Región del Maule, Chile (35°15'39" S; 71°14'32" O). Ambos huertos corresponden al distrito agroclimático 6-7-4, el cual presenta un clima cálido supra termal con régimen de humedad semi árido, posee un promedio de 227 días consecutivos libres de heladas y al año se registran un promedio de 16 heladas, presenta un período de temperaturas favorables para la actividad vegetativa, el cual dura 9 meses (Santibáñez, 2017). El suelo es de origen aluvial perteneciente a la serie San Clemente, con características de posición plano a levemente inclinado, de buen drenaje, color pardo oscuro de textura franca arcillo limosa (CORFO, 1964).

En el huerto de San Clemente se usaron plantas de manzano (*Malus domestica*), variedad Granny Smith y Brookfield, ambos sobre patrón MM9 plantadas en el año 2011 con un marco de plantación de 3,5 x 1,2 m, la orientación de plantación es noroeste a suroeste. En el huerto Río Claro, se utilizaron plantas del cultivar Brookfield sobre patrón MM9, plantadas en el año 2007 con un marco de plantación de 4,0 x 1,5 m, en orientación noroeste a sudeste.

3.2 Diseño experimental y tratamientos

a. Ensayo 1: Cv. Granny Smith

En este cv. se analizaron 3 plantas bajo el manejo comercial de huerto que fue sometido a un raleo químico en caída de pétalos y un posterior ajuste manual para adecuar la carga frutal final, consistente en un fruto por cada centro frutal (dardo) que fue seleccionado para contener la fruta. Adicionalmente, a partir de caída de pétalos se realizaron de forma periódica 14 aplicaciones de Ca foliar.

b. Ensayo 2: Cv. Brookfield

Para el cv. Brookfield, realizado en las localidades de San Clemente y Río Claro, se evaluaron dos tratamientos en función de los manejos de raleo y aplicación de Calcio de la siguiente forma:

-Tratamiento 1 (control): Aplicación de Ca foliar (10 aplicaciones) y raleo (químico y ajuste manual) bajo manejo del huerto.

-Tratamiento 2: Sin aplicación foliar de Ca y sin raleo.

Para ambos cultivares, al momento del “peak” de cosecha comercial del huerto se recolectó toda la fruta de tres árboles (repeticiones) por cada una de las combinaciones Ca/raleo para el cv. Brookfield y de la condición del huerto para el cv. Granny Smith. La procedencia de la fruta fue identificada considerando altura, dividiendo imaginariamente la planta, en sentido horizontal, en superior, media e inferior. Se obtuvo de esta forma tres zonas de localización de la fruta, de acuerdo con la altura de inserción al tronco, de la rama que la sostiene (Figura 1). Toda la fruta fue medida a cosecha, para luego ser almacenada bajo condiciones de refrigeración (0°C, 85 % HR), durante 4 meses. A salida de almacenaje, la fruta fue expuesta por 7 días a temperatura ambiente (20°C), para favorecer la manifestación de los síntomas de bitter pit.

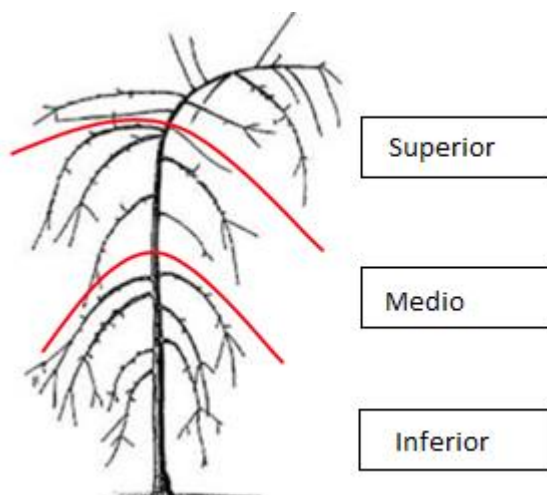


Figura 1. Esquema de división imaginaria de los árboles para la identificación de los frutos, según altura de la rama.

3.3 Evaluaciones en cosecha

Al momento de cosecha, la fruta fue recolectada, identificando todos los frutos de cada uno de los 3 niveles dentro de cada árbol. A estos frutos se les evaluó color, peso y diámetro.

a. Color de cubrimiento (cv. Brookfield)

Para realizar la evaluación de color visual se toma la manzana de ambos polos y se observa el 50 % de la cara expuesta (mayor intensidad de color) y el 50 % de la cara no expuesta (menor intensidad de color) obteniendo un valor promedio por fruto. El resultado se expresó en porcentaje de color de cubrimiento en una escala de 0%, 25%, 50%, 75% y 100%.

b. Color con colorímetro (color de fondo, cv. Brookfield y Granny Smith)

Para medir el color de fondo de la fruta se utilizó un colorímetro (Konica Minolta INC, CM-700d, Osaka, Japón), midiendo en la cara más expuesta del fruto, entregando así lecturas de luminosidad L (blanco-negro), a^* (rojo-verde) y b^* (amarillo-azul) basado en el método de la Comisión Internationale de l'Eclairage (CIE) usando estándar de calibración D65 (McGuire, 1992). Para el cv. Granny Smith se analizaron separadamente los valores de a^* y b^* , en tanto para el cv. Brookfield se calculó el Chroma de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$C = \sqrt{a^2 + b^2}$$

c. Peso del fruto

Para realizar la evaluación de peso, se ocupó una balanza electrónica (Hanna Instruments Inc, LT5001E, USA) obteniendo el pesaje individual de cada fruto, el resultado se expresó en gramos (g).

d. Diámetro ecuatorial del fruto

Para realizar la evaluación de diámetro ecuatorial se utilizó un pie de metro digital (Truper, E5002009, Taiwán) midiendo la parte de mayor diámetro del fruto, expresándolo en milímetros (mm).

3.4 Evaluaciones en post-almacenaje

Después de almacenaje más 7 días a 20°C, cada fruto fue evaluado en cuanto a la incidencia y severidad de bitter pit de forma visual, primero externamente y después se procedió a quitar la piel de los frutos para identificar lesiones internas.

-% Incidencia en cada altura para cada una de las repeticiones, en cada uno de los tratamientos:

$$\left\{ \frac{\text{Número de frutos con bitter pit por altura}}{\text{Total de frutos por altura}} \right\} \times 100$$

-Severidad: Número promedio de manchas por frutos en aquellos que presentaron bitter pit

3.5 Análisis estadístico

Con el fin de establecer diferencias en las características de los frutos, para el cv. Granny Smith se consideró un diseño completamente al azar (DCA) con 3 tratamientos dados por la posición de la fruta en la planta (superior, media y inferior). Para el cv. Brookfield, se consideró un DCA en arreglo factorial de 3 (altura) x 2 (tratamientos de Ca/raleo). Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y posterior separación de medias por test LSD ($p \leq 0,05$). Los análisis estadísticos se realizaron usando el software Statgraphics Centurion XVI.

4. RESULTADOS

a) Cv. Granny Smith, huerto Casas Patronales.

Para el cv. Granny Smith, (Cuadro 1) se observó que los frutos a cosecha se diferenciaron estadísticamente en cuanto a color, siendo los valores de aquellos provenientes de las ramas del nivel superior y medio, más alto para b^* , en comparación con el nivel inferior. Los valores de a^* fueron mayores en el nivel inferior (valores positivos) y disminuyeron hacia la parte superior de la planta (valores negativos), lo que podría significar algún grado de rubor en la fruta del nivel inferior, sin embargo, esta tonalidad no era perceptible a simple vista. Destacan los elevados coeficientes de variación para estas características (<30%), lo que indicaría una alta variabilidad en la coloración de las manzanas provenientes de cada nivel de la planta.

Con relación al diámetro y peso inicial de los frutos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de la planta, sin embargo, se observa una tendencia a mayores promedios, para ambas variables, en la zona superior de la planta. Se observó diferencia estadística entre los 3 niveles en cuanto al N° de frutos/planta, siendo el nivel superior aquel con más frutos (313), el nivel medio e inferior son similares estadísticamente (67 y 17 frutos/planta respectivamente). De esta forma, la distribución de los frutos dentro del árbol indica que el 78,7% se produjo en el nivel superior, en tanto en los niveles medio e inferior se encontraba el 16,9 y 4,2%, respectivamente. A diferencia de las mediciones de color, se registraron valores relativamente bajos del coeficiente de variación para estas variables (<10%).

Cuadro 1. Características no destructivas en frutos del cv. Granny Smith a cosecha (chroma, diámetro, peso y número de frutos por árbol) según su posición en altura dentro de la planta.

Nivel dentro de la planta	$a^{*(z)}$	$b^{*(z)}$	Diámetro (mm)	Peso (g)	N° de frutos/planta ^(z)
Superior	-13,65 a	54,22 a	69,36	140,40	313,3 b
Medio	-12,08 a	55,46 a	68,50	135,53	67,3 a
Inferior	3,12 b	33,20 b	64,96	119,26	17,0 a
Coef. Var. (%)	37,2	42,11	3,59	9,48	1,31
Significancia ^(y) (p-valor)	0,00	0,00	0,14	0,17	0,001

^(z): Análisis en base a Kruskal Wallis; promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente, según valores rankeados.

^(y): Promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente, según test LSD.

^(x): $p > 0,05$ = no significativo; $p \leq 0,05$ = significativo.

Los valores promedio obtenidos para el desorden fisiológico de bitter pit no mostraron diferencias estadísticas entre los niveles de la planta, ya que el valor p obtenido fue 0,10 (Cuadro 2). Sin embargo, el desorden solo se desarrolló en los frutos de las ramas superiores del árbol, con un promedio de 3,33 manchas por manzana. Se obtuvo un elevado coeficiente de variación, lo cual indica una alta variabilidad de los datos dentro de cada nivel de la planta, esto se atribuye a la necesidad de este ensayo de asignar cada planta como una repetición.

Cuadro 2. Incidencia (%) y severidad de bitter pit, después de 5 meses de almacenaje refrigerado (0°C, 88% HR); en frutos del cv. Granny Smith, según su posición en altura dentro de la planta.

Bitter pit		
Nivel dentro de la planta	Incidencia ^(z) (%)	Severidad ^(y) (Manchas / fruto)
Superior	1,43	3,33
Medio	0,0	0,0
Inferior	0,0	0,0
Coef. Var. (%)	223,6	--
Significancia ^(x) (p-valor)	0,10	s/a

^(z): Análisis en base a Kruskal Wallis; promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente, según valores rankeados.

^(y): Promedios estimados en base a los frutos que representaron bitter pit.

^(x): $p > 0,05$ = no significativo; $p \leq 0,05$ = significativo; s/a = sin análisis.

b) Cv. Brookfield, huerto Agrícola Santa María.

Para el cv. Brookfield donde se realizaron tratamientos diferenciados del manejo Ca/raleo, se observó diferencia estadística en los promedios de Chroma y % color para el factor tratamiento, siendo aquel con aplicación foliar y raleo el que obtuvo los mayores valores en ambas variables (Cuadro 3). Esto indica que los frutos provenientes del manejo comercial del huerto presentaban una coloración rojiza más intensa además de un mayor cubrimiento de este color. Con relación al tamaño de los frutos, se obtuvieron diferencias significativas entre los niveles de la planta, siendo los valores de aquellos de las ramas del nivel medio los de mayor diámetro; para peso el mayor valor se obtuvo en las ramas superiores y medias. La distribución de los frutos dentro del árbol indica que el 37,1% se

produjo en el nivel superior, en tanto en los niveles medio e inferior se encontraba el 42,6 y 20,2%, respectivamente.

A excepción del número de frutos por planta, se obtuvieron valores relativamente bajos en el coeficiente de variación (<10%) para cada una de las variables, lo cual indica una baja variabilidad dentro de los datos en cada nivel del árbol.

Cuadro 3. Características no destructivas en frutos de cv. Brookfield a cosecha (Chroma, diámetro, peso y número de frutos por árbol) según su posición en altura dentro de la planta y, tratamiento de Ca y raleos. Fruta proveniente del huerto AMS.

	Chroma ^(z)	Diámetro ^(z) (cm)	Peso ^(y) (g)	Color ^(z) (%)	Nº de frutos/planta
Nivel dentro de la planta					
Superior	33,12	66,9 a	143,3 ab	75,1	43,2
Medio	31,91	67,3 b	145,7 b	68,9	49,5
Inferior	31,83	66,6 a	142,6 a	66,5	23,5
Significancia ^(x) (p-valor)	0,28	0,00	0,01	0,12	0,38
Tratamiento					
Ca + raleo	34,31 b	67,06	144,07	86,84 b	33,8
S/Ca y S/raleo	30,27 a	66,9	143,7	53,3 a	45,6
Significancia ^(x) (p-valor)	0,00	0,25	0,59	0,00	0,15
Nivel x Tratamiento					
Significancia ^(x) (p-valor)	0,96	0,51	0,50	0,16	0,39
Coef. Var. (%)	4,65	0,42	1,05	9,80	58,32

^(z): Promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente, según test LSD

^(y): Análisis en base a Kruskal Wallis; promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente, según valores rankeados

^(x): $p > 0,05$ = no significativo; $p \leq 0,05$ = significativo.

Los promedios obtenidos para la incidencia de BP resultaron en diferencias estadísticas solo para los niveles de la planta, logrando diferenciarse los valores de los frutos

provenientes de las ramas del nivel superior sólo de aquellos del nivel inferior, donde no hubo presencia de BP.

En cuanto a severidad el mayor valor también se observó en el nivel superior de la planta con un promedio de 10,2 manchas por manzana, respecto del nivel medio, con un promedio de 4,83 manchas por manzana. El elevado coeficiente de variación encontrado para bitter pit, indica una mayor variabilidad dentro de los datos de cada nivel de la planta, esto debido al bajo número de repeticiones del ensayo, al tener que considerar cada planta como una réplica. Esto además incide en que solo el nivel inferior y superior se diferenciaron en cuanto al desarrollo de BP.

Cuadro 4. Incidencia (%) y severidad de bitter pit, después de 5 meses de almacenaje refrigerado (0°C, 88% HR); en frutos del cv. Brookfield, según su posición en altura dentro de la planta, y tratamiento de Ca y raleo.

	Bitter Pit	
	Incidencia % ^(z)	Severidad ^(y) (Manchas/ frutos)
Nivel dentro de la planta		
Superior	2,43 a	10,2
Medio	0,49 ab	4,83
Inferior	0,00 b	0,0
Significancia ^(x) (p-valor)	0,03	s/a
Tratamiento		
Ca foliar + raleo	0,91	6,55
S/Ca y S/raleo	1,03	3,46
Significancia ^(x) (p-valor)	0,86	s/a
Nivel x Tratamiento		
Significancia ^(x) (p-valor)	0,40	
Coef. Var. (%)	151,16	

^(z): Análisis en base a Krukall Wallis; promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente, según valores rankeados.

^(y): Promedios estimados en base a los frutos que presentaron bitter pit.

^(x): p > 0,05= no significativo; p ≤ 0,05= significativo; s/a= sin análisis.

A pesar de no existir interacción entre los factores, en la Figura 2 se presenta la distribución de BP en cada uno de los tratamientos, observándose claramente la disminución del desorden en función de la posición de la fruta en la planta y el efecto positivo

sobre el control del desorden producto del manejo del huerto en cuanto a raleo y aplicación de Ca, en el nivel superior de la planta.

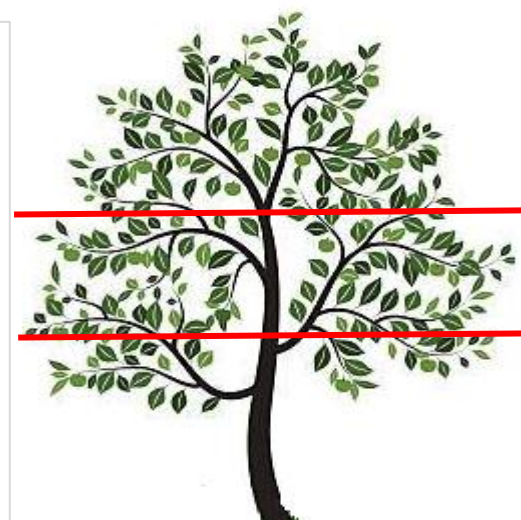
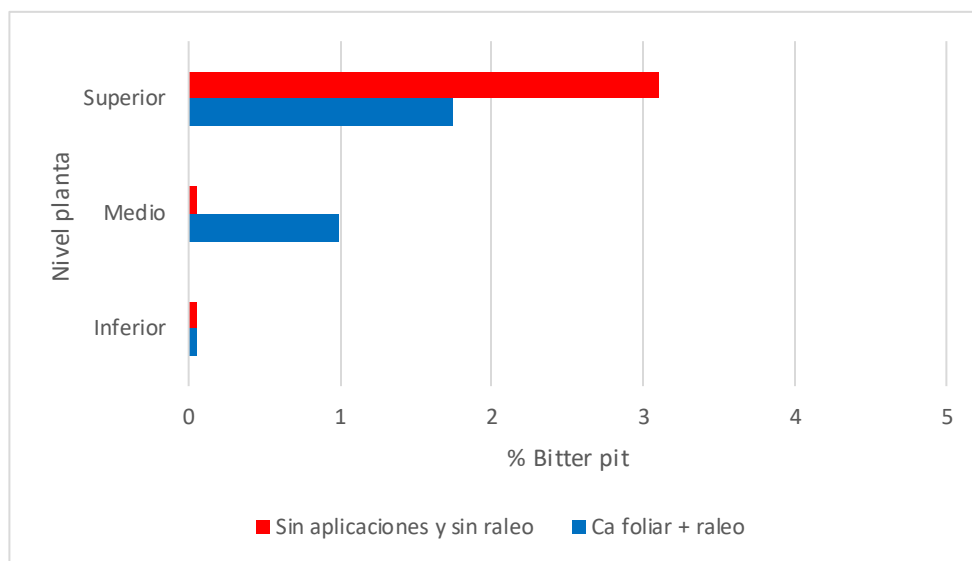


Figura 2. Valor porcentual de bitter pit en manzanas provenientes de ramas del nivel superior, medio e inferior de la planta, para tratamientos de Ca y raleo, para cv. Brookfield en huerto AMS, y esquema visual de división espacial en la planta.

c) Cv. Brookfield, huerto CP.

Para el cv. Brookfield del huerto CP no se observó diferencia estadística entre los valores promedio obtenidos para el factor tratamiento en ninguna de las variables evaluadas (Cuadro 5). Con relación al factor Nivel de la fruta en la planta, tampoco hubo diferencia en cuanto a diámetro, chroma y peso; sin embargo, se observó una tendencia a mayores valores para peso, en los frutos provenientes de las ramas del nivel superior. Se encontraron diferencias estadísticas para % color entre los 3 niveles de la planta, siendo aquellos provenientes de las ramas del nivel superior los que registraron el mayor porcentaje de cubrimiento (>70%).

En cuanto a la distribución de los frutos en la planta también se encontraron diferencias estadísticas entre los 3 niveles, la mayor cantidad se obtuvo en el nivel medio (196,5 frutos por planta, equivalente al 47,02% del total), seguido por el nivel inferior (117,2 frutos y 28,0% del total) y finalmente la menor cantidad se obtuvo en el nivel superior con 104,2

frutos por planta, correspondiente al 24,9% del total. Nuevamente, a excepción del número de frutos/planta, se obtuvieron valores en el coeficiente de variación relativamente bajos (<25%).

Cuadro 5. Características no destructivas en frutos de cv. Brookfield a cosecha (Chroma, diámetro, peso y número de frutos por árbol) según su posición en altura dentro de la planta, y tratamiento de Ca y raleo. Fruta proveniente del Huerto CP.

	Chroma	Diámetro (mm)	Peso (g)	% Color ^(z)	Nº de frutos/planta ^(z)
Nivel dentro de la planta					
(z): Superior	32,16	69,55	151,1	73,57 a	104,2 c
Medio	31,96	68,57	124,6	58,63 b	196,5 a
Inferior	32,13	68,86	127,4	57,43 b	117,2 b
Significancia ^(x) (p-valor)	0,92	0,40	0,46	0,02	0,05
Tratamiento					
Ca + raleo	32,21	68,72	132,68	66,87	132,7
S/Ca y s/raleo	31,95	69,26	135,95	59,54	142,9
Significancia ^(x) (p-valor)	0,57	0,38	0,86	0,12	0,86
Nivel x Tratamiento					
Significancia ^(x) (p-valor)	0,43	0,68	0,19	0,88	0,24
Coef. Var. (%)	2,92	1,83	29,35	14,9	45,58

Promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente, según test LSD.

^(x): p>0,05= no significativo; p ≤ 0,05= significativo.

Los valores promedio obtenidos para bitter pit % no resultaron en diferencia estadística entre los niveles de la planta (Cuadro 6), si bien solo hubo presencia del desorden en frutos de las zonas media y superior de los árboles. Esto se atribuye al alto coeficiente de variación obtenido para esta variable. En cuanto a los tratamientos, si hubo diferencia estadística entre ambos, la mayor incidencia se encontró cuando hubo ausencia de aplicaciones de Ca y no se efectuó raleo.

Cuadro 6. Incidencia (%) y severidad de bitter pit, después de 5 meses de almacenaje refrigerado (0°C, 88% HR); en frutos del cv. Brookfield, según su posición en altura dentro de la planta, y tratamiento de Ca y raleo. Fruta proveniente del huerto CP.

Bitter pit		
	Incidencia ^(z) %	Severidad ^(y) (Manchas/fruto)
Nivel dentro de la planta		
Superior	1,18	1,5
Medio	0,37	1,7
Inferior	0,00	0
Significancia ^(x) (p-valor)	0,36	s/a
Tratamiento		
Ca foliar + raleo	0,00 a	0
Sin aplicaciones y sin raleo	1,03 b	1,58
Significancia ^(x) (p-valor)	0,14	s/a
Nivel x Tratamiento		
Significancia ^(x) (p-valor)	0,36	s/a
Coef. Var. (%)	275,9	

^(z): Análisis en base a Krukall Wallis; promedios en una columna seguidos por la misma letra no difieren estadísticamente, según valores rankeados

^(y): Promedios estimados en base a los frutos que presentaron bitter pit

^(x): $p > 0,05$ = no significativo; $p \leq 0,05$ = significativo.

A pesar de no existir interacción entre los factores, en la Figura 3 se presenta la distribución de BP en cada uno de los tratamientos, observándose claramente, al igual que para el huerto AMS, la disminución del desorden en función de la posición de la fruta en la planta y el efecto positivo sobre el control total del desorden producto del manejo del huerto en cuanto a raleo y aplicación de Ca.

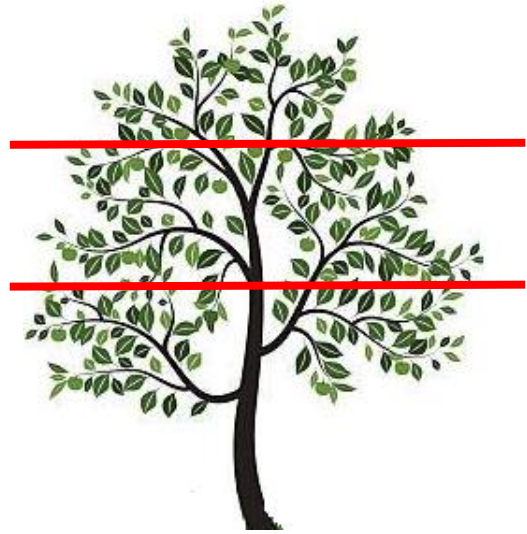
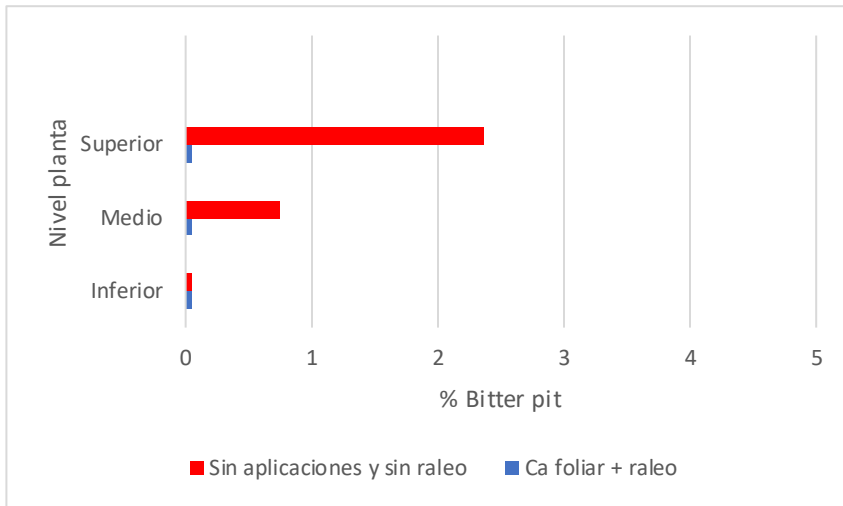


Figura 3. Valor porcentual de bitter pit en manzanas provenientes de ramas del nivel superior, medio e inferior de la planta, para tratamientos de Ca y raleo, para cv. Brookfield en huerto CP.

5. DISCUSIÓN

Muchos factores que inciden en la aparición de bitter pit han sido estudiados empíricamente, ya que la presencia de este desorden se traduce en pérdidas económicas relevantes para los cultivadores. En este ensayo, una de las variables estudiadas fue el tamaño de los frutos. Al respecto, Faust y Shear (1986) documentaron que la incidencia de bitter pit aumentaba en frutos de mayor diámetro, debido a que pueden presentar deficiencia de Ca (la causa más directa de este desorden), ya que el movimiento de este elemento es muy lento, tanto en la planta como en el suelo, comparado con el rápido desarrollo de las manzanas. Por otro lado, la incidencia de altas temperaturas durante la fase de división y expansión celular puede producir frutos de mayor calibre, debido a que se acelera el proceso, y en esta etapa se determina el número final de células del fruto (Stanley et al., 2000; Atkinson et al., 2001). En este sentido, el fruto es un órgano que se desarrolla rápidamente y por eso la demanda de Ca no alcanza a ser suplantada en la fase de expansión celular (Cardona, 2002). En el caso de este estudio, dentro de los resultados para cv. Granny Smith, se registró que las manzanas más grandes (mayor diámetro) y de mayor masa (g) provenían de las ramas del nivel superior del árbol, coincidiendo con la aparición del 100% del BP en esta zona de las plantas. En el ensayo de cv. Brookfield, huerto CP, se registraron valores similares entre los frutos de los 3 niveles en la planta, pero con una masa mayor en aquellos provenientes de las ramas del nivel superior del árbol, lo que también explicaría la mayor aparición de bitter pit (76%) en los frutos de este nivel. La excepción fue, el cv. Brookfield del huerto AMS donde se registraron valores similares en cuanto al diámetro y peso de los frutos entre los 3 niveles de la planta, no obstante, el bitter pit también prevaleció en las ramas del nivel superior, equivalente a 83% de todo el bitter pit registrado en este ensayo.

Otra variable considerada en este estudio fue el colorido o croma (del inglés chroma), el cual hace referencia a que el color de fondo del fruto percibido sea más o menos cromático (sensación visual de pálido- intenso) (Montesinos, 2003). El color de fondo (chroma) en manzanas está determinado por las clorofilas y carotenoides. Las variables a^* y b^* corresponden a las coordenadas en plano cartesiano del diagrama cromático, si $a^* > 0$ las tonalidades oscilarán dentro del rojo y si $a^* < 0$, corresponderá a las tonalidades verdes. Si las coordenadas de $b^* > 0$, corresponde a las tonalidades amarillas, y si $b^* < 0$ las tonalidades corresponderán al azul

En el caso del cv. Granny Smith, donde se evaluaron los valores a^* y b^* , se obtuvieron promedios similares entre el nivel superior y medio de la planta, para ambas mediciones

(-13,65 y -12,08 en coordenada a^* ; 54,22 y 55,46 en coordenada b , respectivamente), otorgando a los frutos ubicados en estas zonas el color verde característico del cv. Con relación al nivel inferior del árbol, se encontró que algunos ejemplares habrían desarrollado tonalidades rojizas (rubor) y amarillas ya que se obtuvo un valor medio de a^* igual a 3,12 (muy bajo para esta variedad) y b^* igual a 33,20. Se puede inferir que, en estos frutos, hubo desarrollo de antocianinas (responsable de la coloración rojiza en manzanas); influirían sobre este fenómeno las prácticas de manejo, poda, riego y carga frutal de las plantas; además de factores ambientales que influyen en el rubor del cv. Granny Smith, como el efecto de la temperatura y la incidencia de luz solar (los rayos UV estimulan la producción de antocianinas). No obstante, la diferencia en tonalidad de los frutos no era perceptible a simple vista. Para el cv. Brookfield, en ambos huertos, las manzanas presentaron un Chroma similar entre los niveles superior, medio e inferior del árbol, lo cual nos puede indicar un manejo más equilibrado (poda, fertilización y riego) en el huerto. En particular en el huerto AMS hubo diferencia estadística entre los promedio de croma de los dos tratamientos; así el grupo de plantas con aplicaciones de Ca y raleo, desarrollaron un color de fondo más intenso en comparación con el grupo que no recibió Ca foliar ni raleo. Lo mismo ocurrió para el color de cubrimiento (expresado en porcentaje) donde los árboles que recibieron Ca foliar + raleo desarrollaron mayor coloración (86,8%) en comparación con aquellos árboles que no lo recibieron (53,5%). Esto puede ser explicado por la relación hoja/fruto de la planta, una planta bien equilibrada tendrá una adecuada interceptación solar para desarrollar la coloración de los frutos, ya que la radiación solar y la disponibilidad de azúcares estimulan la síntesis de antocianinas, para obtener el color rojizo uniforme deseado, es decir, la luz del sol no solamente debe ser interceptada, sino que, además, bien distribuida dentro del árbol (Corelli- Grappadelli y Morandi, 2012)

Dentro del huerto CP si hubo diferencias entre los tres niveles del árbol, logrando las manzanas la zona superior, desarrollar más color en comparación con el nivel medio e inferior, lo cual podría indicar una mayor exposición solar en aquellos frutos, por consecuencia, mayor síntesis de antocianinas (responsables de la mayor coloración) (Corelli-Grappadelli, 2003).

Como ya se mencionó el bitter pit se manifestó mayoritariamente en el nivel superior de la planta, probablemente por el mayor desarrollo de las manzanas por los factores

explicados inicialmente. Si bien en el cv. Granny Smith, el valor p no fue significativo (0,10) es relevante indicar que el desorden solo se desarrolló en el nivel superior del árbol, así como también, dentro del huerto CP para cv. Brookfield el valor tampoco fue significativo, pero nuevamente solo se observó bitter pit en el nivel superior (1,18%) y medio de la planta (0,37%), además de presencia de bitter pit solo en aquel grupo de plantas donde no se aplicó calcio foliar ni raleo. Para el mismo cultivar, dentro del huerto AMS, sí hubo diferencia estadística en función de la procedencia de la fruta (p -valor $<0,05$), con incidencia de 2,43% en el nivel superior y 0,49% en el nivel medio.

Para el cv. Brookfield, en ambos huertos, hubo menor incidencia de bitter pit cuando se aplicó Ca foliar y raleo en las plantas (aunque no se evidenció diferencia estadística significativa), esto puede ser clave en el manejo del bitter pit, ya que se ha demostrado que las aplicaciones foliares permiten aumentar la concentración de Ca en los frutos, por lo cual se recomienda dentro de la producción de manzanas (así como también en otros tipos de frutos) para evitar la deficiencia de este elemento o para mejorar su calidad (Schlegel y Schönherr, 2002; Lötze et al., 2008; Fernández et al., 2009).

Conociendo los resultados de este ensayo, se puede coleccionar, que el bitter pit efectivamente se manifiesta en mayor medida en los frutos provenientes de las ramas de la parte superior de la planta. Esto se puede respaldar, en gran medida, por la dinámica del Ca dentro de la planta; ya que la asimilación de Ca por las raíces y su distribución se incrementa junto con la tasa transpiratoria de la planta, y a su vez, el transporte de Ca disminuye si la tasa transpiratoria de la planta se reduce, con esto, se perjudica el desarrollo de brotes, frutos y hojas (ya que son órganos con gran demanda de calcio) (Armstrong y Kirkby, 1979). De esta forma, se ven afectados, en especial, aquellos brotes, frutos y hojas que se encuentran en la parte superior de la canopia, ya que el calcio debe recorrer más distancia para llegar a esta zona. La transpiración debe ser suficientemente alta para lograr movilizar el calcio y otros elementos hasta la porción superior del árbol.

Otro factor que influye en la translocación de Ca es la madurez de las plantas, este nutriente tiende a acumularse en los órganos más senescentes por lo cual, los órganos de mayor actividad metabólica (frutos, hojas en desarrollo, flores y meristemas) serán afectados en primer lugar si existe déficit de este nutriente (Chiu y Bould, 1977).

En adición, aquellos órganos que transpiran más, como el tejido foliar, podrán acumular más calcio que aquellos órganos que transpiran menos, como los frutos, por ello, es común encontrar mayores concentraciones de Ca en las hojas que en los frutos al realizar un

análisis mineralógico (Marschner, 1985). Las hojas y frutos reciben agua y Ca por el xilema mayoritariamente, este proceso está relacionado con la presión osmótica del suelo y también por las condiciones ambientales que producen altas tasas transpiratoria, por ende, el suministro de agua y calcio, a frutos y hojas puede restringirse eventualmente (Ende et al., 1975).

La mayor porción de Ca llega a los frutos, principalmente en las primeras etapas de desarrollo, en donde el xilema es encargado de proveer nutrientes y agua, con el paso del tiempo y con el desarrollo del fruto, los conductos del floema participan cada vez más en el transporte de nutrientes (Clover, 1991), por el hecho de que en las últimas etapas del crecimiento de los frutos la contribución del xilema disminuye debido a la pérdida de su funcionalidad, por consecuencia también, pérdidas del potencial hídrico dentro del conducto xilemático (disminuyendo, en conjunto, el transporte de Ca) (Ho et al. 1993; Drazeta et al., 2004; Bondada et al., 2005). También es relevante considerar que la cantidad de Ca en el floema es muy baja y su transporte muy lento y no responde rápidamente a señales hormonales o al exceso de transpiración (Goor y Wieresma, 1974), lo cual es un factor adicional que explica la deficiencia de Ca.

Un aspecto relevante de este estudio radica en que se obtuvieron elevados coeficientes de variación para la incidencia de bitter pit (223,6% para Granny Smith, 151,1% y 275,9% para Brookfield en los huerto de AMS y CP respectivamente).

Este índice señala el grado de precisión con el que se comparan los tratamientos, es decir, la variabilidad de un grupo de datos con respecto a la media. En este caso, para cuantificar efectivamente la incidencia de BP por árbol, se consideró cada planta como una repetición (3); futuros ensayos debieran considerar un mayor número de réplicas con el fin de disminuir esta variabilidad y potenciar la significancia estadística en función de la procedencia de la fruta dentro de la planta.

La heterogeneidad con que se manifiesta el bitter pit dentro de las plantaciones y durante la conservación de la fruta, plantea la necesidad de formular una estrategia para lograr predecir la incidencia y severidad de este desorden, para que así los agricultores puedan tomar decisiones pertinentes de manejo. El BP es un desorden que se origina dentro del huerto, se asocia a la relación follaje/fruto y cómo se mueve el Ca entre los órganos; por un lado, altas temperaturas y estrés hídrico pueden desencadenar este desorden (Watkins, 2003), por eso, el monitoreo de la temperatura, humedad relativa, índice de estrés podrían ayudar a calcular el riesgo de la aparición de BP. En adición, Val et al., (1999), investigaron la dinámica de los nutrientes en la planta durante todas las etapas fenológicas del manzano,

concluyendo que el riesgo de desarrollar BP aumentaba cuando a los 100 días después de plena flor (DDPF) el valor foliar de la relación K/Ca es menor a 2 y en el fruto mayor a 25. Con el pasar del tiempo el análisis de fruto se ha priorizado frente al análisis foliar, se considera bajo riesgo de BP cuando la concentración de Ca en el fruto es mayor a 5-6 mg/100 g de peso fresco (Lotze et al., 2008). En base a los resultados de este estudio sería beneficioso realizar análisis mineralógicos en frutos que provengan de las ramas superiores de la canopia de los árboles para poder realizar una predicción certera en cuanto a la incidencia. Si se encuentra gran predisposición al BP se podrían realizar estrategias de cosecha asincrónicamente dentro de la planta, obteniendo manzanas anticipadamente en la temporada proveniente del nivel superior del árbol, que podría destinarse al comercio local para venderse de forma rápida.

6. CONCLUSIONES

Para el cv. Granny Smith, en general, se observó que la mayoría de las variables medidas obtuvieron valores diferenciados según su posición en altura dentro de la canopia. Los frutos del nivel superior presentaron mayor peso y diámetro y consecuentemente, el 100% del bitter pit se manifestó en frutos provenientes de este nivel del árbol con una incidencia del 1,4%.

Para el cv. Brookfield, de ambos huertos, hubo efecto tanto de la posición de los frutos en la planta como del tratamiento recibido:

- Los frutos del nivel superior y con aplicaciones de calcio foliar + raleo, se caracterizaron por un mayor porcentaje de color, respecto de los que no fueron tratados.

- En el huerto AMS, el 83% del bitter pit, se desarrolló en frutos de la parte superior de la planta (2,4% de incidencia); en tanto el 17% se manifestó en frutos de la zona media (0,5%), teniendo mayor severidad en la parte superior.

- En el huerto CP el 76% del bitter pit se desarrolló en la parte superior del árbol (1,2%), pero con menor severidad que en el huerto AMS; el 24% restante ocurrió en la zona media (0,4% de incidencia). Además, en este huerto todos los frutos que desarrollaron bitter pit, correspondían a plantas a las que no se les aplicó calcio foliar ni raleo.

7. BIBLIOGRAFÍA

Alleva, K., Niemietz, C., Maurel, C., Parisi, M., Tyerman, S., Amodeo, G. 2006. Plasma membrane of *Beta vulgaris* storage root shows high water channel activity regulated by cytoplasmic pH and a dual range of calcium concentrations. *Journal of Experimental Botany*, 57: 609–621.

Armstrong, M.J., Kirkby, E.A. 1979. The influence of humidity on mineral composition of tomato plants with special reference to calcium distribution. *Plant and Soil*, 52: 427-435.

Asgharzade, A., Babaeian, M. 2012. Foliar application of calcium borate and micronutrients effects on some characters of apple fruits in Shirvan region. *Annals of Biological Research*, 3: 527-533.

Atkinson, C.J., Taylor, L., Kingswell, G. 2001. The importance of temperature differences, directly after anthesis, in determining growth and cellular development of *Malus* fruits. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 76: 721-731.

Bangerth, F. 1979. Calcium-related physiological disorders of plants. *Annual Review of Phytopathology*, 17: 97–122.

Bondada, B.R., Matthews, M.A. 2005. Functional xylem in the post-veraison grape berry. *Journal of experimental Botany*, 56:2949–2957.

Bramlage W., Wies, A. 2004. Postharvest fruit quality and storage life in relation to mineral nutrients. *New York Fruit Quarterly*, 12: 11-12.

Camus, C.J. 1993. Evaluación de la relación número de frutos/cm² de tronco para determinar intensidad de raleo de durazneros cv. Angelus. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile. 49 p.

Cardona, C.E. 2002. Efecto de la aplicación foliar de Ca sobre la incidencia de la pudrición apical y la calidad de los frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Trabajo de maestría. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 87 p.

Chavarria, G., Pessoa, H. 2012. *Plant Water Relations: Absorption, Transport and Control Mechanisms*. *Advances in Selected Plant Physiology Aspects*, Dr. Giuseppe Montanaro Ed., ISBN: 978-953.

Chiu, T.E., Bould, C. 1977. Sand-culture studies on the calcium nutrition of young apple trees with particular reference to bitter pit. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 52: 19-28.

Choat, B., Gambetta, G., Shackel, K., Matthews, M. 2009. Vascular function in grape berries across development and its relevance to apparent hydraulic isolation. *Plant Physiology*, 151: 1677–1687.

Clover, A. 1991. A new theory on calcium transport. *Grower*, 1: 8-11.

Cooper, T. 1980. Raleo en manzanos. *Revista Frutícola*, 1: 31-33.

- Corelli-Grappadelli, L. 2003. Light relations. En: Apples: Botany, production and uses, 9: 195-216. Eds. D.C. Ferree y I.J. Warrington. CABI publishing, Cambridge, USA.
- Corelli-Grappadelli, L., Morandi, B. 2012. The ecophysiology of carbon in fruit trees: A driver of productivity, a tool to face climate change, a producer of innovation that can become tomorrow's growing paradigm. *AgroLife Scientific Journal*, 1: 39-47.
- Correa, M. 2014. Pomaceas, Boletín Técnico, Vol 14. Universidad de Talca, Talca, Chile. 6 p. Recuperado en: http://pomaceas.otalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletin_N14_1.pdf, Consultado 28 de junio de 2020.
- De Freitas, S., do Amarante, C., Labavitch, M., Mitcham, E. 2010. Cellular approach to understand bitter pit development in apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 57: 6–13.
- De Freitas, S., Mcelrone, A., Shackel, K., Mitcham, E. 2014. Calcium partition in gandal location and blossom-end rot development in tomato plants in response to whole-plant and fruit-specific abscisic acid treatments. *Journal of Experimental Botany*: 65, 235–247.
- De Freitas, S., Mitcham, E. 2012. Factors involved in fruit calcium deficiency disorders. *Revue Horticole*, 40: 107–146.
- Do Amarante, C., Miqueloto, A., de Freitas, S., Steffens, C., Silveira, J., Correa, T. 2013. Fruit sampling methods to quantify calcium and magnesium contents to predict bitter pit development in 'Fuji'apple: A multivariate approach. *Scientia Horticulturae*, 157: 19– 23.
- Dos Santos, R., Arge, L., Costa, S., Machado, N., de MelloFarias, P., Rombaldi, C., de Oliveira, A. 2015. Genetic regulation and the impact of omics in fruit ripening. *Plant Omics*, 8: 78-88.
- Drazeta, L., Lang, A., Hall, A., Volz, R., Jameson, P. 2004. Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. *Annals of Botany*, 93: 275–282.
- Echenique, M. 2017. Manzana, un mercado de alta competitividad y complejidad, Boletín técnico, RedAgricola, Las Condes, Santiago, Chile. 1. Recuperado en : <https://www.redagricola.com/cl/unmercado-de-alta-competitividad-y-complejidad/>, Consultado: 01 de julio de 2020.
- Ende van der, J., Koornneef, P., Sonneveld, C. 1975. Osmotic pressure of the soil solution. Determination and effects on some glass-house crops. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 23: 181-190.
- Falchi, R., D'Agostin, A., Mattiello, L., Coronica, F., Spinelli, G., and G. Vizzotto. 2017. ABA regulation of calcium-related genes and bitter pit in apple. *Postharvest Biology and Technology*, 132: 1–6.
- Fallahi, E., Richardson, D., Westwood, M., Chaplin, M. 1985. Relationships among mineral nutrition, ethylene and post-harvest physiology in apples on six rootstocks. *Science Horticultural*, 25: 163-175.
- Faust, M., Shear, C.B., Smith, C.B. 1968. Investigations of corking disorders of apples, chemical composition of affected tissues. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 92:82-88.

Ferguson, I., Triggs, C. 1990. Sampling factors affecting the use of mineral analysis of apple fruit for the prediction of bitter pit. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 18: 147-152.

Ferguson, I., Watkins, C. 1989. Bitter pit in apple fruit. *Hortic*, 11: 289-355.

Ferguson, I.B, Watkins, C.B. 1989. Bitter pit in apple fruit. *Royal Horticultural Society*, 11: 289–355

Fernández, V., Díaz, A., Blanco, Á., Val, J. 2009. Surface application of calcium-containing gels to improve quality of late maturing peach cultivars. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 89: 2323-2330.

Ferree D.C., Warrington, I.J. 2003. Apples: botany, production and uses. CAB International Cambridge, Massachusetts, EE. UU. 660 p.

Forshey, C. 1976. Factors affecting the chemical thinning of apples. *New York's Food and Life Sciences Bulletin*, 64: 1-14.

Franceschi, V., Nakata, P. 2005. Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annual Review Plant of plant biology*, 56: 41–71.

Freitas, S., Mitcham, E. 2012. Factors involved in fruit calcium deficiency disorders. *Hortic*, 40: 107–146.

Gilliam, M., Athman, A., Tyerman, S.D., Conn, J. 2011. Cell-specific compartmentation of mineral nutrients is an essential mechanism for optimal plant productivity—another role for TPC1? *Plant Signaling and Behavior*, 6: 1656–1661.

Giovannoni, J. 2004. Genetic regulation of fruit development and ripening. *The Plant Cell*, 6: 170-180.

Goor van, B.J., Wieresma, D. 1974. Redistribution of potassium, calcium, magnesium and manganese in the plant. *Plant Physiology*, 31: 163-168.

Grau, P. 2015. La importancia de la industria de la manzana chilena en el mercado internacional, *Boletín técnico*, N° 1; Instituto de investigaciones agropecuaria, Santiago, Chile. 5 p. Recuperado en: https://www.inia.cl/wp-content/uploads/2015/01/Art-t%C3%A9cnico_Importancia-mercado-manzanas.pdf, Consultado: 28 de junio de 2020.

Harley, H., Moon, R., 1957. Effects of the additive tween 20 and relatively low temperatures on apple thinning by naphthalene acetic acid sprays. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 69: 21-27.

Hill, J. 1980. The remobilization of nutrients from leaves. *Journal of plant nutrition*, 4: 407–444.

Ho, L., White, P. 2005. A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. *Annals of Botany*, 95: 571–581

Ho, L.C., Belda, R., Brown, M., Andrews, J., Adams, P. 1993. Uptake and transport of calcium and the possible causes of blossom-end rot in tomato. *Journal of Experimental Botany*, 44:509–518.

Hoying, S., Fargione, M., Kevin, L. 2004. Diagnosing apple tree nutritional status: leaf análisis interpretation and deficiency symptoms. *New York Fruit Quarterly*, 12: 16-19.

Iglesias, I., Carbó, J., Bonany, J., Dalmau, R., Guanter, G., Montserrat, R., Moreno, A., Pagés, J. 2000. Manzano. Las variedades de más interés. *Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries*, 33: 240.

Instituto de investigación de recursos naturales CORFO, 1964. SUELOS, descripciones proyecto aerofotogramétrico, Publicación N°2; Chile. 291 p. Recuperado en: plataformacaldera.cl/biblioteca/589/articles-66458_documento.pdf. Consultado el: 16 de abril de 2021.

Jackson, J.E., Sharples, R.O. 1971. The influence of shade and within-tree position on apple fruit size, colour and storage quality. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 3: 277-287.

Johnson, D., Colgan, R. 2003. Low ethylene controlled atmosphere induces adverse effects on the quality of 'Cox's Orange Pippin' apples treated with aminoethoxyvinylglycine during fruit development. *Postharvest Biology and Technology*, 27: 59-68.

Jones, K., Bound, S., Koen, T., Oakford, M. 1992. Effect of timing of hand thinning on the cropping potential of 'Red Fuji' apple trees. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 32: 417-420.

Kader, A. 2002. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. N° 3. Division of Agriculture and Natural Resources, Universidad de California. California, Estados Unidos. 535 p.

Kalcsits, L., Matthei, J., Giordani, L., Reid, M., y Mullin, K. 2019. Fruit canopy positioning affects fruit calcium and potassium concentrations, disorder incidence and fruit quality for "Honeycrisp" apple. *Canadian Journal of Plant Science*, 99: 761-771

Kalesits, L., van del Heijden, G., Reid, M., Mullin, K. 2017. Calcium absorption during fruit development in "Honeycrisp" apple measured using ⁴⁴Ca as a stable isotope tracer. *Hortscience*, 52: 1804-1809.

Khan, F.A., Rather, A.H., Qazi, N.A., Bhat, M.Y., Darzi, M.S., Beigh, M.A., Imtiyaz, A. 2006. Effect of modified atmosphere packaging on maintenance of quality in apple. *Journal of Horticultural Science*, 1: 135-137.

Khayyat, M., Tafazoli, E., Eshghi, S., Rajaei, S. 2007. Effect of nitrogen, boron, potassium and zinc sprays on yield and fruit quality of date palm. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 2: 289-296.

Knee, M., Hatfield, S. 1981. Benefits of ethylene removal during apple storage. *Annals Applied Biology*, 98: 157-165.

Lazar, D., Lang, A., Morgan, L., Volz, R., Jameson, P. 2001. Bitter pit and vascular function in apples. *Acta Horti*, 564: 387-392.

Lee, C., Shallenberger, R., Vittum, M. 1970. Free sugars in fruits and vegetables. *New York's Food and Life Sciences Bulletin*, 1: 1-12.

Leiva, C. 2017. Cartilla hortofrutícola manzano, Boletín técnico N° 1; CIREN, Biobío, Chile. p 2. Recuperado en:

<http://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/123456789/26475/Car_hort_Manzana2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Consultado: 04 de julio de 2020.

Lotze, E., Joubert, J., Theron, K.I. 2008. Evaluating pre-harvest foliar calcium applications to increase fruit calcium and reduce bitter pit in 'Golden Delicious' apples. *Scientia Horticulturae*, 116, 299-304.

Lötze, E., Joubert, J., Therson, K. 2008. Evaluating pre-harvest foliar calcium applications to increase fruit calcium and reduce bitter pit in 'Golden Delicious' apples. *Scientia Horticulturae*, 116: 299-304.

Lurie, S., Crisosto, C.H. 2005. Chilling injury in peach and nectarine. *Postharvest Biology and Technology*, 3: 195–208.

Marschner, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. 2da Edicion. Academic Press, San Diego, Londres. 7-73, 285-299.

Miqueloto A., Amarante C.V., Steffens, C.A., Santos, A.D., Mitcham, E. 2014. Relationship between xylem functionality, calcium content and the incidence of bitter pit in apple fruit. *Scientia Horticulturae*, 165: 319-323.

Miqueloto, A., Amarante, C.V., Steffens, C.A, Santos, A.D., Miqueloto, T., Silveira, J.P. 2011. Physiological, physicochemical and mineral attributes associated with the occurrence of bitter pit in apples. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 7: 689-696.

Miqueloto, A., Do Amarante, C.V, Steffens C.A, Dos Santos, A, Mitcham, E. 2014. Relationship between xylem functionality, calcium content and the incidence of bitter pit in apple fruit. *Scientia Horticulturae*, 165: 319–323

Monge, E., Val, J., Sanz, M., Blanco, A., Montañés, L. 1995. El calcio nutriente para las plantas: Bitter pit en manzano. *Anuales de la Estación Experimental de Aula Dei*, 21: 189-201.

Montanaro, G., Dichio, B., Lang, A., Mininni, A. N., and Xiloyannis, C. 2015. Fruit calcium accumulation coupled and uncoupled from its transpiration in kiwifruit. *Journal of Plant Physiology*, 181: 67–74.

Montesinos Azorín, R. 2003. Especificación cromática de gama de colores usadas en la industria de calzado. Universidad de Alicante, Alicante. 120 p. Recuperado de: <https://web.ua.es/es/gvc/documentos/docs/colores-curtidos.pdf>

Muñoz, M. 2016. Boletín frutícola ODEPA, Oficina de estudios y políticas agrarias, Santiago, Chile. 10 p. Recuperado en: <https://www.odepa.gob.cl/contenidos-rubro/boletines-del-rubro/boletin-fruticola-diciembre-de-2016>, Consultado 28 de junio de 2020.

O'Neill, S. 1997. Pollination regulation of flower development. *Annual Review of Plant Physiology*, 48: 547-574.

Palmer, J., Edjama, Y. 1991. Effect of part-tree flower thinning on fruiting, vegetative growth, and leaf photosynthesis in 'Cox's Orange Pippin' apple. *Journal of Horticultural Science*, 66: 319-325.

Palmer, J.W., Wünsche, J.N., Meland, M., Hann, A. 2002. Annual dry-matter production by three apple cultivars at four within-row spacings in New Zealand. *The journal of horticultural Science and Biotechnology*, 6: 712–717.

- Pefaur, J. 2019. Boletín Técnico; ODEPA, Oficina de estudios y políticas agrarias, Santiago, Chile. 11 p. Recuperado en: <https://www.odepa.gob.cl/publicaciones/boletines/boletin-de-fruta-fresca-noviembre-de-2019>, Consultado 28 de junio de 2020.
- Preston, A., Quinlan, J. 1968. A fruit thinning experiment with 'Cox's Orange Pippin' apple. *Journal of Horticultural Science*, 3: 267-273
- Razeto, B. 1984. Huertos densos de manzano. *Ciencias Agrícolas*, 14: 91.
- Razeto, B. 1992. Para entender la fruticultura. Editorial Vivarium. Santiago, Chile. 314 p.
- Robinson, T.L., Seeley, E.J., and Barritt, B.H. 1983. Effect of light environment and spur age on 'Delicious' apple fruit size and quality. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 5: 855–861.
- Rogiers, S., Keller, M., Holzapfel, B., Virgona, J. 2000. Accumulation of potassium and calcium by ripening berries on field vines of *Vitis vinifera* (L) cv, Shiraz. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6: 240–243.
- Román, S. 2014. Bitter Pit y Lenticelosis en manzano: factores predisponentes y medidas de control en los huertos. Boletín técnico, Volumen 14; Universidad de Talca, Talca, Chile. 7 p. Recuperado en: http://pomaceas.otalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletin_N14_3.pdf, Consultado 28 de junio 2020.
- Santibáñez Q., Fernando. 2017. Atlas agroclimático de Chile. Estado actual y tendencias del clima. Tomo III: Regiones de Valparaíso, Metropolitana, O'Higgins y Maule. Santiago, Chile: Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/62376>. Consultado: 16 abril 2021.
- Saure, M. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: Its mechanism and endogenous control. *Scientia Horticulturae*, 105: 65–89.
- Saure, M.C. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. *Scientia Horticulturae*, 1: 65-89.
- Schlegel, T.K., Schönherr, J. 2002. Stage of development affects penetration of calcium chloride into apple fruits. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165: 738-745.
- Schönherr, J. 2001. Cuticular penetration of calcium salts: effects of humidity, anions, and adjuvants. *Journal of plant nutrition and soil science*, 164: 225-231.
- Seymour, G., Ostergaard, L., Chapman, N., Knapp, S., Martin, C. 2013. Fruit development and ripening. *Annual Review of Plant Biology*, 64: 219-241.
- Seymour, G., Taylor, J., Tucker, G. 1993. *Biochemistry of Fruit Ripening*. Chapman & Hall, London, 454 p.
- Sharples, R. 1972. The influence of rootstock on storage behaviour. East Malling Research Station. 71 p.

Shoffe, Y., Nock, J., Baugher, T., Watkins, C. 2016. Honeycrisp: To condition or not condition?. *New York Fruit Quarterly*, 24: 33–35.

Stanley, C.J., Tustin, D.S., Lupton, G.B., McArtney, S., Cashmore, W.M., de Silva H.N. 2000. Towards understanding the role of temperature in apple fruit growth responses in three geographic regions within New Zealand. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75: 413- 422.

Takac, J. 1994. Study of factors affecting apple quality and storability. *Agrochem Bratislava*, 34: 11-12.

Torres C, Hernández, O.2014. Desordenes fisiológicos: Bio-Marcadores para estimar el riesgo de aparición de postcosecha de manzanas, Volumen 14, N° 4; Universidad de Talca, Talca, Chile. 8 p. Recuperado en: http://pomaceas.otalca.cl/wp-content/uploads/2016/06/Boletin_N14_4.pdf, Consultado 28 de junio 2020.

Val, J., Blanco, A. 2000. Nutrición cálcica y bitter pit. *Información Técnica Económica Agraria*, 21: 233-239.

Val, J., Fernandez, V., Lopez, P., Peiro, J.M., Blanco, A. 2009. Low oxygen treatment prior to cold storage decreases the incidence of bitter pit in 'Golden Reinders' apples. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 90, 536- 540.

Verdoucq, L., Grondin, A., Maurel, C. 2008. Structure-function analysis of plant aquaporin AtPIP2;1 gating by divalent cations and protons. *Biochemical Journal*, 415: 409–416.

Volz, R., Alspach, P., Fletcher, D., Ferguson, I. 2006. Genetic variation in bitter pit and fruit calcium concentrations within a diverse apple germplasm collection. *Euphytica*, 149: 1-10.

Watkins, C., Schupp, J., Rosenberger, D. 2004. Calcium nutrition and control of calcium-related disorders. *New York Fruit Quarterly*, 12: 15-21.

Watkins, C.B. 2003. Principles and practices of postharvest handling and stress. En: *Apples: Botany, Production and Uses*, 23: 585-614. Eds. D.C. Ferree y I.J. Warrington. CABI, Cambridge.

Westwood, M. 1982. *Fruticultura de zonas templadas*, Mundi-Prensa, Madrid, España. 461 p.

White, P., Broadley, M. 2003. Calcium in plants. *Annals of Botany*, 92: 487–511.

Wolfe K, Liu R, 2002. Apple peels are rich in phytochemicals and have high antioxidant activity, *Boletín Técnico N° 3*; Department of food science, Cornell University, Ithaca, New York, United States. 3 p. Recuperado en: <http://nyshs.org/wp-content/uploads/2016/10/Apple-Peels-are-Rich-in-Phytochemicals-and-Have-High-Antioxidant-Activity.pdf>, consultado: 05 de julio de 2020.

Zhang, J., Serra, S., Leisso, R.S., and Musacchi, S. 2016. Effect of light microclimate on the quality of 'd'Anjou' pears in mature open-centre tree architecture. *Biosystems Engineering*. 141: 1–11.