Evolución del daño por insolación de manzanas 'Granny Smith' durante el almacenaje refrigerado

Carolina Contreras, Juan Pablo Zoffoli¹, José Antonio Alcalde¹ y Marlene Ayala¹

¹Departamento de Fruticultura y Enología, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 306-22, Santiago, Chile.

Abstract

C. Contreras, J.P. Zoffoli, J.A. Alcalde, and M. Ayala. 2008. Evolution of sunburn damage on 'Granny Smith' apples during storage. Cien. Inv. Agr. 35(2):147-157. Sunburn is one of the major physiological disorders affecting fruit quality at harvest. The objective of this work was to study the effect of sunburn on the quality of Granny Smith apples during cold storage at 0°C. Therefore, 'Granny Smith' apples with light, moderate, or severe sunburn damage were stored for three and six months at 0°C plus 15 days at 20°C. After harvest, the apples were treated with diphenylamine (DPA, 2,000 µg·L⁻¹) or 1-methylcyclopropene (1-MCP, 625 nL·L⁻¹) to reduce scald (the physiological disorder), and an equal number of non-treated apples were used as controls. The concentration of conjugated trienes (CTs) was determined and compared between the apparently healthy and damaged side of the same fruits. Sunscald, characterized by brown skin tissue, developed on the sunburnt side of the fruit, and superficial and senescent scald symptoms developed on the healthy side of the apple. A significant and negative relationship between sunscald and scald were obtained in fruit treated with DPA. A low concentration of CT 281 was found on the sunburnt side of apples treated with DPA and 1-MCP. Application of 1-MCP and DPA controlled scald but not sunscald. DPA treatment resulted in better control of scald after 6 months of storage on fruit with moderate sunburn damage at the time of harvest.

Key words: Conjugated trienes, DPA, *Malus*, sunburn, sunscald, superficial scald, 1-methylcyclopropene.

Introducción

El golpe de sol (*sunburn*) describe el daño por insolación que afecta la superficie de productos hortofrutícolas reduciendo la calidad y limitando la comercialización (Figure 1). Este desorden fisiológico es particularmente importante en manzanos cv. Granny Smith, de zonas con gran intensidad de radiación solar y alta temperatura. Se postula que el daño por insolación se debería a la interacción de estos dos factores ambientales (Wand y Gindaba, 2005; Yuri *et al.*, 2000a). No obstante, otros factores que pueden incrementar la incidencia del golpe de sol son el uso de cultivares

sensibles (ej. 'Fuji', 'Braeburn'), portainjertos muy enanizantes, la orientación de las hileras de plantación, sistemas de conducción muy expuestas al sol (ej. solaxe), y el deficiente control y manejo del follaje para proteger a la fruta de la exposición solar (riego, uso de mallas, protectores químicos) (Wünsche *et al.*, 2004; Yuri, 2001).

Dependiendo de la intensidad del daño, la fruta se puede remover durante el embalaje, pero en muchos casos es difícil detectar los frutos dañados durante este proceso. Inicialmente, el daño corresponde a manchas blancas o amarillentas, pudiendo ocurrir una depresión superficial y el desarrollo de una textura esponjosa. Conjuntamente ocurren importantes cambios anatómicos, tales como la separación de la cutícula, engrosamiento de la pared celular

y desorganización de los plastidios (Andrews, 1997). Sin embargo, el mayor daño en manzanas Granny Smith se debe al desarrollo de escaldado por sol en poscosecha, caracterizado por el pardeamiento y ennegrecimiento de los tejidos afectados por golpe de sol en el campo (Lurie *et al.*, 1991).

La mayoría de los estudios se han focalizado en establecer los factores predisponentes al daño por insolación y en el desarrollo de estrategias de control, incluyendo métodos y productos para la prevención en el huerto. Sin embargo, existe escasa información respecto de los mecanismos fisiológicos y bioquímicos implicados en este daño, siendo manzana y tomate (Rosales *et al.*, 2006; Adegoroye y Jolliffe, 1983), pimiento (Roberts y Anderson, 1994) y pepino (Prohens *et al.*, 2004) los frutos empleados como modelo de estudio. A pesar de estos avances, faltan investigaciones que permitan comprender en mejor forma las alteraciones anatómicas y los procesos metabólicos que generan el daño por insolación de los frutos (Johnson *et al.*, 1996).

Actualmente, se postula que el daño por sol puede ser una expresión del mecanismo de defensa del fruto en respuesta a un estrés oxidativo. Las plantas han desarrollado sistemas de defensa antioxidante basado en compuestos como, vitamina C (ácido ascórbico) (Johnson *et al.*, 1999) y vitamina E (α -tocoferol) (Yuri, 2001), flavonoides (Merzlyak *et al.*, 2002), carotenoides y fenoles (Wünsche *et al.*, 2004), enzimas tales como superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa, fenil-alanina-amonio liasa y polifenoloxidasas (Yuri, 2001; Yuri *et al.*, 2000b). Además, es posible que participen proteínas de choque térmico o chaperonas (*heat shock proteins*, *hsps*) cuyas funciones son interactuar con los radicales libres y prevenir un daño irreversible sobre las proteínas (Ritenour *et al.*, 1998). De esta forma estas proteínas confieren tolerancia a niveles excesivos de radiación UV y altas temperaturas en frutos expuestos al sol.

Estudios sobre los mecanismos de defensa de los frutos, han comparado el contenido de los pigmentos del fruto en el sector insolado y sano. Por ejemplo, se ha observado en manzanas Braeburn que los antioxidantes carotenoides

(β -caroteno) y fenoles (ácido clorogénico), aumentan sustancialmente en la cara expuesta al sol de un fruto. El ácido clorogénico puede aumentar hasta seis veces en el sector asoleado comparado con el lado sombreado (Wünsche *et al.*, 2001). Igualmente la concentración de flavonoides es cinco veces mayor en la cara soleada en comparación a la cara sombreada del fruto (Merzlyak *et al.*, 2002).

En manzanas Granny Smith y Braeburn se determinó una considerable disminución de la clorofila *a* y *b* en la cara del fruto expuesta al sol, probablemente debido a foto-inhibición (Wünsche *et al.*, 2004; Merzlyak *et al.*, 2002). Ultimamente, se ha determinado la activación de proteínas *hsps* en frutos con golpe de sol, mientras que la actividad de estas proteínas es muy baja en frutos sombreados. Se piensa que las proteínas *hsps* le confieren tolerancia al calor, protegiendo otras proteínas de una eventual desnaturalización. Sin embargo, se desconoce el momento cuando este mecanismo comienza a operar, una vez que el fruto ha sido expuesto al sol (Wünsche *et al.*, 2004; Ritenour *et al.*, 1998).

Existen evidencias de que un daño por insolación pudiera activar mecanismos de protección, probablemente este hecho podría mejorar las condiciones con que el fruto enfrenta otros tipos de estrés. Por ejemplo, las temperaturas bajas y por lo tanto, la aparición de desórdenes fisiológicos. El objetivo de este trabajo fue establecer la sensibilidad de manzanas Granny Smith, dañadas por insolación en precosecha y tratadas con anti-escaldantes superficiales (difenilamina (DPA) y 1-metilciclopropeno (1-MCP), en el desarrollo de desórdenes fisiológicos durante la conservación a 0°C.

Materiales y métodos

Origen de la fruta

Manzanas Granny Smith, con diferentes grados de daño por insolación en la superficie (golpe de sol) se cosecharon en un huerto comercial, ubicado en Graneros, VI Región, Chile (Cuadro 1). Los parámetros de calidad evaluados a la cosecha y en los diferentes tiempos de almacenaje fueron: firmeza, utilizando un

Cuadro 1. Descripción del color del daño golpe de sol en manzanas 'Granny Smith', determinado al momento de cosecha.

Table 1. Characteristics of sunburn color of 'Granny Smith' apples at the time of harvest in relation to damage intensity.

Golpe de sol	Color ¹			Area afectada %
	L	C	Hue (°)	
Fruto sano	67,6	44,8	118,9	0
Fruto con daño:				
Leve	69,8	45,2	105,9	17
Moderado	72,0	47,3	103,0	27
Severo	71,0	51,3	91,2	29

¹ L: Luminosidad del color (0-100); C: Chroma o intensidad del color (0-60) y Hue o matiz: Indica el color de la muestra y se expresa en grados: 0° (rojo), 90° (amarillo), 180° (verde) y 270° (azul).

¹ L = (0-100); C = Chroma = (0-60) and Hue = 0° (red), 90° (yellow), 180° (green) y 270° (blue).

presionómetro (Effegi modelo 327, Italia) con émbolo de 11,1 mm; color de fondo y color del golpe de sol, utilizando la luminosidad del color (L^*) en escala de 0 a 100, Chroma o intensidad (C^*) en escala de 0 a 60 y matiz (Hue) expresado como 0° (rojo), 90° (amarillo), 180° (verde) y 270° (azul). Todas las determinaciones se realizaron con un colorímetro Minolta modelo CR-300. Se cuantificó la concentración de sólidos solubles totales (SST) con un refractómetro digital (Atago, modelo 1, Tokio, Japón) y la acidez por medio de titulación con NaOH 0,1 N a una muestra compuesta de 20 frutos. Adicionalmente, a la cosecha se efectuó la cuantificación de almidón a través de la prueba del yodo (Ctiff, Francia), clasificando la reacción en escala 1 a 10, donde 1 = totalmente negro, fruta inmadura con mayor contenido de almidón y 10 = fruta sobremadura, sin presencia de almidón. Las manzanas se cosecharon con firmeza 7,5 Kg ($\pm 0,3$) (firmeza en Kg usando un embolo de 11 mm de diámetro), $6,3 \pm 0,37$ en la prueba del yodo, 13,1% ($\pm 0,33$) de SST y 1,2% ($\pm 0,07$) de acidez titulable.

Tratamientos

Los frutos, separados en las diferentes intensidades de daño, se trataron con 1-

metilciclopropeno (1-MCP) o difenilamina (DPA) inmediatamente después de cosecha. La aplicación de 1-MCP (Smartfresh 0,14%, AgroFresh, Filadelfia, EUA) se realizó en forma gaseosa en un contenedor de 1 m³, con una concentración de 625 nL·L⁻¹ durante 24 h a 10°C. Difenilamina (2000 μ L·L⁻¹, DPA 31%, Reichfield, OH, EUA) se aplicó por inmersión por 60 s en un recipiente de 20 L. El tratamiento testigo, correspondió a fruta sin aplicación 1-MCP ni DPA. Todos los tratamientos recibieron una aplicación por inmersión de cloruro de calcio (2000 μ L·L⁻¹). La fruta se almacenó por 3 y 6 meses a 0°C.

Determinación del daño por insolación y otros desórdenes fisiológicos durante el almacenaje

Luego de 90 y 180 d a 0°C, 60 frutos por tratamiento fueron trasladados a una cámara 20°C por 15 d. En ambos periodos se evaluó la incidencia y severidad de daño por golpe de sol y escaldado.

La evolución del color en el sector afectado por golpe de sol en almacenaje se realizó cuantificando la incidencia y severidad del cambio de color de amarillo a pardo. Este daño se denominó escaldado por sol. Por lo tanto, la incidencia del daño se estimó como porcentaje de frutos afectados por tratamiento y la severidad del daño correspondió al área afectada del fruto según una escala relativa de intensidad de color de 1 a 3, donde 1 = café claro, levemente pardeado, 2 = café oscuro, moderadamente pardeado y 3 = café oscuro-negro, pardeado severo. De igual forma se estimó el escaldado superficial.

Adicionalmente, se cuantificó la evolución del color en el sector afectado y sano del fruto a través del instrumento colorímetro (Minolta, Italia) como fue descrito anteriormente.

La condición interna del fruto se evaluó categorizando el pardeamiento interno de cada fruto según su incidencia y severidad mediante una escala relativa de 1 a 3, siendo 1 = pardeado leve, 2 = pardeado moderado y 3 = pardeado severo. La evaluación se realizó después de 180 d a 0°C y 15 d a 20°C.

Cuadro 2. Efecto de la aplicación de 1-MCP o DPA sobre la incidencia y severidad de escaldado por sol en manzanas ‘Granny Smith’ embalado con distintas intensidades de golpe de sol y evaluado luego de 3 y 6 meses de almacenaje a 0°C más 15 d a 20°C.
Table 2. Effect of 1-MCP or DPA on sunscald incidence and severity of ‘Granny Smith’ apples packed with light, moderate, and severe sunburn intensity after 3 and 6 months at 0°C + 15 d at 20°C.

		Escaldado por sol			
		Incidencia, %		Severidad	
				Area, %	Intensidad, 1-3
<i>Tres meses</i>					
Efecto producto ¹					
	Testigo	74,9a ²		28,1b ²	1,5b ²
	1-MCP	70,0a		25,8b	1,9a
	DPA	67,2a		30,0a	1,6b
Efecto golpe de sol					
	Leve	49,9b		22,6b	1,4b
	Moderado	72,7a		29,3a	1,6a
	Severo	89,4a		32,0a	1,9a
Producto x golpe de sol					
		Testigo	1-MCP	DPA	
	Leve	53,3AB	50,0Ab	46,6Ab ²	
	Moderado	79,9Aab	71,6Aab	66,6Aab	ns
	Severo	91,6Aa	88,3Ba	88,3Ba	ns
<i>Tres meses + 15 d a 20°C</i>					
Efecto producto ¹					
	Testigo	84,8a		26,6a	1,6a
	1-MCP	79,4ab		26,8a	1,5a
	DPA	77,6b		28,8a	1,6a
Efecto golpe de sol					
	Leve	65,7c		22,4c	1,3c
	Moderado	81,0b		27,4b	1,6b
	Severo	95,1a		32,6a	1,9a
Producto x golpe de sol		ns		ns	ns
<i>Seis meses</i>					
Efecto producto ¹					
	Testigo	90,5a		23,7a	2,1a
	1-MCP	83,6a		25,4a	2,0a
	DPA	82,7a		26,8a	2,1a
Efecto golpe de sol					
	Leve	73,8b		20,3c	1,9b
	Moderado	85,4b		24,7b	2,0b
	Severo	97,7a		30,9a	2,4a
Producto x golpe de sol		ns		ns	ns
<i>Seis meses +15 d a 20°C</i>					
Efecto producto ¹					
	Testigo	89,1a		29,8a	2,3a
	1-MCP	91,1a		26,6a	1,8b
	DPA	84,4a		27,2a	2,1ab
Efecto golpe de sol					
	Leve	77,8b		22,3c	1,8b
	Moderado	91,0a		28,1b	2,0b
	Severo	95,8a		33,4a	2,4a
Producto x golpe de sol		ns		ns	ns

¹1-MCP= 1-metoxiciclopreno, Filadelfia, EUA; 625nL·L⁻¹ de Smartfresh al 0,14%; aplicación gaseosa. DPA= Difenilamina, Reichfield, OH, EUA; 2000 µL·L⁻¹ de DPA 31%, aplicación líquida.

² Letras minúsculas o mayúsculas distintas en la misma columna o fila respectivamente indican diferencias significativas entre las medias según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$); ns, no significativo a un valor $p \leq 0,05$.

¹1-MCP = 1-methylcyclopropene. Philadelphia, USA; 625nL·L⁻¹ Smartfresh, 0.14%; gas application. DPA= Diphenylamine. Reichfield. OH. USA; 2,000 µL·L⁻¹, DPA 31%, dipping application.

² Means followed by the same letter within each column (lower case letters) and within each row (upper case letters) are not statistically different according to the Tukey's test ($p \leq 0.05$). ns, not significant at $p \leq 0.05$.

Determinación de α -farneseno y trienos conjugados

Se cuantificó en una muestra de cinco frutos por repetición a la cosecha y después de 90 y 180 d de almacenaje a 0°C. El tejido analizado (20 discos (0,5 mm²) de la piel) correspondió al sector sano y afectado con el golpe de sol del mismo fruto. Los discos se sumergieron en n-hexano (99,9% grado HPLC, J.T. Baker) durante 25 min. Una alícuota (3,5 mL) se escaneó a una absorción de 50 nm·min⁻¹ entre 200 y 300 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro (Spectronic Genesys 2, NJ, EUA) que registró la absorción a 232, 259, 269, 281 y 290 nm.

La concentración de α -farneseno se cuantificó a 232 nm, utilizándose el coeficiente de extinción (E) = 27.700 (Huelin y Coggiola, 1970). Los tres valores de los trienos conjugados (CTs) se registraron como $CT_{259} = OD_{259-290nm}$, $CT_{269} = OD_{269-290nm}$ y $CT_{281} = OD_{281-290nm}$ (Du y Bramlage, 1993). El coeficiente de extinción promedio para CTs fue de 25.000.

Diseño y análisis estadísticos

Los tratamientos se distribuyeron en forma completamente al azar con estructura factorial, cuatro repeticiones y 15 frutos como unidad experimental. Se utilizó un análisis factorial

de 3 x 3 (producto x severidad de golpe de sol) para desórdenes fisiológicos y trifactorial de 3 x 3 x 2 (producto aplicado x severidad de golpe de sol x sector del fruto analizado) para α -farneseno y trienos conjugados. Los resultados se sometieron a análisis de varianza empleando PROC GLM (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Los promedios se separaron según con la prueba de comparación múltiple de Tukey (p = 0,05). Los valores porcentuales se transformaron en $\arcsenov/x$ previo a los análisis. No obstante, se presentan valores sin transformar. Para el cálculo de correlaciones entre escaldado por sol y escaldado, se utilizó PROC CORR de SAS mediante el coeficiente de Pearson (r).

Resultados y discusión

Evolución del daño por sol y otros desórdenes fisiológicos durante el almacenaje

En conformidad con lo previamente descrito para el escaldado por sol, el sector del fruto afectado por sol a la cosecha evolucionó a parda durante el almacenaje refrigerado. Este síntoma correspondió con lo descrito para el desorden fisiológico conocido como escaldado por sol (*sunscauld*) (Figure 1) (Lurie *et al.*, 1991). A los 3 meses a 0°C, la incidencia promedio del escaldado por sol en almacenaje fluctuó entre 50 y 89% (Cuadro 2).

Figura 1. Manzanas Granny Smith. A. Escaldado por golpe de sol (sunscauld) observado después de almacenaje refrigerado a 0°C por 3 meses. B. Golpe de sol (sunburn) a cosecha. C. Escaldado severo después de 5 meses a 0°C seguido por 15 d a 20°C.

Figure 1. Granny Smith apples. A. Sunscald. B. Sunburn at harvest. C. Severe scald after 5 months at 0°C followed by 15 d at 20°C.

La incidencia y severidad del escaldado por sol, a excepción de 3 meses a 0°C, no se afectó por la interacción entre los factores producto (1-MCP o DPA) y severidad del golpe de sol (leve, moderado y severo). Tampoco hubo una interacción significativa entre los factores producto y golpe de sol, en el área afectada y la intensidad del daño de escaldado por sol a cosecha (Cuadro 2). Ningún producto (1-MCP o DPA) tuvo un efecto significativo en el control del escaldado por golpe de sol, coincidiendo de este modo con resultados previamente reportados (Wünsche *et al.*, 2001; Lurie *et al.*, 1991).

La severidad del golpe de sol a cosecha influyó en la expresión del escaldado por sol en almacenaje. A mayor severidad del golpe de sol a cosecha, mayor fue la incidencia de escaldado por sol en el almacenaje. Es así como a los 3 meses de almacenaje, los frutos levemente dañados por insolación presentaron aproximadamente 50% de frutos escaldados por sol; mientras que, un 90% de los frutos presentó este problema cuando el golpe de sol a cosecha fue severo. Similares resultados se obtuvieron en fruta evaluada a los 6 meses a 0°C y después de 15 d a 20°C (Cuadro 2). Esto mismo sucedió con el área afectada y la intensidad del daño de golpe de sol evaluada a través de la nota de color. La intensidad con que se manifestó el escaldado por sol en almacenaje a 0°C de los frutos con distinto grado de golpe de sol, tuvo un efecto significativo en la evaluación por colorimetría, lo que concordó con lo obtenido con la escala relativa de intensidad del daño (datos no publicados).

El escaldado superficial y senescente fueron dos tipos de desórdenes detectado en la superficie de manzanas Granny Smith. El escaldado superficial se inició a los 3 meses de almacenaje a 0°C, más un periodo de 15 d a 20°C, y se caracterizó por manchas pardas intensas, con bordes definidos en la zona de las mejillas de la manzana. El daño según la literatura se relaciona con la acumulación de trienos conjugados, compuestos asociados a la oxidación del α -farneseno, presente en la piel de manzanas y peras (Huelin y Coggiola, 1970).

El escaldado senescente, se apreció a los

6 meses a 0°C como una tonalidad parda, difusa comprometiendo diferentes sectores de la superficie del fruto, y en conjunto con el escaldado superficial similar a lo descrito en peras (Zoffoli *et al.*, 1998).

Los antioxidantes no controlan el escaldado senescente, éste aumenta con la madurez y, a diferencia del escaldado superficial, es independiente de la concentración de trienos conjugados (CT 281) en el fruto. El fruto permanece firme pero incomible (Zoffoli *et al.*, 1998). En este trabajo, a menos que se haya indicado lo contrario, se usó genéricamente incidencia de escaldado para referirse a la sintomatología de escaldado superficial conjuntamente con la de escaldado senescente, presentes en un mismo fruto.

Según los resultados obtenidos, el 1-MCP controló eficientemente la incidencia de escaldado superficial a los 3 meses de almacenaje a 0°C, seguido de 15 d a 20°C, reduciendo su incidencia a 9,5% en comparación con 40,1 y 92,4% en la fruta tratada con DPA y en fruta testigo, respectivamente (Cuadro 3). La incidencia de escaldado en fruta almacenada por 6 meses a 0°C, seguido de 15 d a 20°C, fue 46,7; 76,3 y 90,7% para los tratamientos con DPA, 1-MCP y testigo, respectivamente. Esto difiere de los estudios que avalan la alta efectividad de 1-MCP para controlar este desorden, aún después de 6 meses de almacenaje a 0°C (Shaham *et al.*, 2003; Fan *et al.*, 1999). Sin embargo, en dichos estudios no se consideró fruta con daño por sol y escaldado senescente.

Al analizar la sensibilidad de la fruta al desarrollo de escaldado en relación con la severidad de golpe de sol a cosecha, fue posible verificar que las manzanas con golpe de sol moderado y severo tuvieron una incidencia de escaldado en almacenaje 10 a 20% inferior en comparación con fruta con golpe de sol leve (Cuadro 3). Por lo tanto, es posible que el fruto sea capaz de activar mecanismos de defensa antioxidante en respuesta a golpe de sol (Wünsche *et al.*, 2004; Merzlyak *et al.*, 2002). En efecto, se obtuvieron correlaciones negativas entre el escaldado por sol y escaldado en frutos tratados con DPA, $r = -0.68$ y $r = -0.66$, a los 3 y 6 meses de almacenaje luego de 15 d a 20°C, respectivamente (Cuadro

Cuadro 3. Efecto de la intensidad del golpe de sol y la aplicación de 1-MCP o DPA, en la incidencia de escaldado y pardeamiento interno en manzanas 'Granny Smith', luego de 3 y 6 meses a 0°C más 15 d a 20°C.

Table 3. Effect of sunburn intensity at the time of harvest and 1-MCP or DPA application on scald and internal browning incidence of 'Granny Smith' apples after three and six months at 0°C plus 15 days at 20°C.

	Escaldado ³			Pardeamiento
	Incidencia, %	Severidad		Interno %
		Area, %	Intensidad, 1-3	
<i>Tres meses + 15 d a 20°C</i>				
Efecto producto ¹				
Testigo	92,4a ²	37,4b ²	2,2a ²	- ²
1-MCP	9,5c	17,3a	1,0b	-
DPA	40,1b	21,0a	1,3b	-
Efecto golpe de sol				
Leve	54,7a	25,2a	1,6a	-
Moderado	39,8b	23,1a	1,5a	-
Severo	47,5b	27,4a	1,5a	-
Efecto producto x golpe de sol	ns	ns	ns	-
<i>Seis meses</i>				
Efecto producto ¹				
Testigo	71,3a	34,3a	2,0a	-
1-MCP	23,6b	17,0b	1,0b	-
DPA	16,6b	15,0b	1,2b	-
Efecto golpe de sol				
Leve	49,2a	28,0a	1,6a	-
Moderado	35,5b	22,1ab	1,3a	-
Severo	26,9b	16,2b	1,3a	-
Efecto producto x golpe de sol	ns	ns	ns	-
<i>Seis meses + 15 d a 20°C</i>				
Efecto producto ¹				
Testigo	90,7a	51,9a	2,6a	91,7a
1-MCP	76,3b	32,2b	1,8b	75,0b
DPA	46,7c	26,4c	2,1b	91,1a
Efecto golpe de sol				
Leve	79,4a	37,2ab	2,2a	85,0a
Moderado	70,3a	40,0a	2,2a	87,2a
Severo	63,9a	33,4b	2,0a	85,5a
Efecto producto x golpe de sol				
	Testigo	1-MCP	DPA	
Leve	93,3Aa	85,0ABab	60,0Ba ²	
Moderado	87,8Aa	89,6Aa	33,3Bb	ns
Severo	90,9Aa	54,3Bb	46,7Bab	ns

¹ 1-MCP= 1-metilciclopropano, Filadelfia, EUA; 625nL·L⁻¹ de Smartfresh al 0,14%; aplicación gaseosa. DPA= Difenilamina, Reichfield, OH, EUA; 2000 µL·L⁻¹ de DPA 31%, aplicación líquida.

² Letras minúsculas o mayúsculas distintas en la misma columna o fila respectivamente indican diferencias significativas entre las medias según la prueba de Tukey (p = 0,05); ns, no significativo a p ≤ 0,05.

³ 1-MCP = 1-methylcyclopropane. Philadelphia, USA; 625nL·L⁻¹ Smartfresh, 0.14%; gas application. DPA= Diphenylamine. Reichfield, OH, USA; 2,000 µL·L⁻¹, DPA 31%, dipping application.

² Means followed by the same letter within each column (lower case letters) and within each row (upper case letters) are not statistically different according to the Tukey's test (p = 0.05). ns, not significant at p ≤ 0.05. -, not determined.

4). Esto permitiría concluir que mientras mayor es el daño por insolación a cosecha, menor es la incidencia de escaldado en la fruta almacenada, sugiriendo que al aumentar la severidad del daño por insolación, mayor sería la capacidad antioxidante que permitiría atenuar el desarrollo

de escaldado. Al mismo tiempo, permitiría mejorar la acción de un agente antioxidante externo como el DPA. Estudios realizados en manzanas Cortland y Delicious demostraron que al reducir la exposición a la luz solar en frutos embolsados, la concentración de antioxidante

Cuadro 4. Coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la incidencia de escaldado por sol e incidencia de escaldado, considerando golpe de sol leve, moderado y severo en manzanas 'Granny Smith' tratadas con 1-MCP o DPA, después de tres y seis meses de almacenaje a 0°C y 15 d a 20°C.

Table 4. Pearson correlation coefficient (r) between the incidence of sunburn at harvest and scald after three and six months at 0°C plus 15 d at 20°C, considering light, moderate and severe sunburn intensity, and fruit treated with 1-MCP or DPA.

Tiempo a 0°C	Testigo		1-MCP		DPA	
	r	$p>r$	r	$p>r$	r	$p>r$
<i>0 d at 20°C</i>						
(meses)						
3	nd		nd		nd	
6	-0,20	0,5304	-0,28	0,3712	-0,44	0,1461
<i>15 d a 20°C</i>						
(meses)						
3	-0,44	0,1675	-0,14	0,6552	-0,68	0,0148
6	0,37	0,2279	-0,43	0,1567	-0,66	0,0175

¹ 1-MCP= 1-metilciclopropeno, Filadelfia, EUA; 625 nL·L⁻¹ de Smartfresh al 0,14%; aplicación gaseosa. DPA= Difenilamina, Reichfield, OH, EUA; 2000 µL·L⁻¹ de DPA 31%, aplicación líquida. $p \leq 0,05$; $n=16$, nd, no determinado.

¹ 1-MCP = 1-methylcyclopropene, Philadelphia, USA; 625 nL·L⁻¹ Smartfresh, 0.14%; gas application. DPA= Diphenylamine, Reichfield, OH, USA; 2,000 µL·L⁻¹, DPA 31%, dipping application. $p \leq 0.05$; $n = 16$; nd, not determined.

a la cosecha fue inversamente proporcional a la concentración de trienos conjugados y a la incidencia de escaldado superficial (Barden y Bramlage, 1994).

La capacidad oxidativa de la piel de la manzana dependería del cultivar y de la fecha en que el fruto es expuesto al daño por sol (Johnson *et al.*, 1999). En manzanas Fuji, disminuyen los niveles de antioxidantes en la piel, durante y después del quiebre de color, demostrando que existe un período de mayor susceptibilidad al daño. En manzanas Granny Smith, se desconocen los niveles de antioxidantes durante la temporada de crecimiento del fruto. Sin embargo, se postula que existe una fuerte disminución de los antioxidantes al principio de la temporada cuando la clorofila contribuiría a la susceptibilidad del fruto por el daño foto-oxidativo (Yuri, 2001). Por lo tanto, la incidencia de escaldado por sol dependería de la intensidad del golpe de sol y de la época en que el fruto sea expuesto a daño por sol.

El desarrollo de pardeamiento interno fue otro desorden importante en poscosecha. Este problema se presentó tardíamente en almacenaje y dependió del producto aplicado, pero fue independiente de la severidad del golpe de sol.

Aunque la incidencia fue igualmente alta, frutos tratados con 1-MCP tuvieron significativamente menor pardeamiento interno (75%) en relación con el tratamiento con DPA (91,0 %) y al testigo (91,7%) (Cuadro 3).

Determinación de α -farneseno y trienos conjugados

En el Cuadro 5 se resumen los valores de la significancia estadística de los diferentes efectos: producto aplicado (1-MCP, DPA), severidad del golpe de sol a cosecha (efecto golpe de sol), sector del fruto, sano o insolado (efecto tejido) en la concentración de α farneseno y CT 281.

La concentración de α -farneseno en la fruta almacenada por tres meses a 0°C estuvo influenciada significativamente ($p = 0,032$) por el producto aplicado, y del sector o tejido analizado (Cuadro 5). La concentración de α -farneseno fue significativamente mas baja en el sector con golpe de sol y la menor concentración (21,4 nmol·cm⁻²) se encontró en los frutos tratados con 1-MCP. En frutos testigos la concentración fue de 61,8 nmol·cm⁻². Por otro lado, en la parte sin golpe de sol (sector aparentemente sano del fruto) se obtuvieron los valores más altos de éste compuesto (85,5;

70,1 y 80,6 nmol·cm⁻²; testigo, 1-MCP y DPA, respectivamente) (Cuadro 6).

Al tercer mes de almacenaje, la concentración de CT 281, producto asociado al daño de escaldado en manzanas 'Granny Smith', dependió en forma significativa del producto aplicado y el sector analizado de la manzana, sano o dañado por golpe de sol, ($p < 0,0001$). Además existió una interacción significativa entre severidad del golpe de sol embalado a cosecha y tejido de la manzana analizado (sano o dañado) ($p = 0,0149$) (Cuadro 5).

El tejido dañado por golpe de sol, de los frutos tratados con 1-MCP y DPA, tuvo la concentración más baja de CT 281: 4,3 y 5,7 nmol·cm⁻², respectivamente; comparado con 19,5 y 11,5 nmol·cm⁻² proveniente del tejido sano de la fruta para los mismos tratamientos después de 3 meses de almacenaje a 0°C (Cuadro 6). Se demostró además, en este mismo tiempo de almacenaje, que la severidad de golpe de sol a cosecha tuvo un impacto significativo sobre la concentración de CT 281. En las manzanas

cosechadas con golpe de sol moderado y severo la concentración de CT 281 en la parte sana del fruto fue de 12,2 y 15,3 nmol·cm⁻² comparado con 8 y 4,5 nmol·cm⁻² del tejido con golpe de sol respectivamente (Cuadro 6).

Esto demostraría la capacidad de los tejidos afectados del fruto con golpe de sol para reducir la presencia de compuestos considerados iniciadores del proceso de escaldado en manzanas.

En función de los resultados obtenidos es posible concluir que manzanas Granny Smith con mayor intensidad de daño por golpe de sol a la cosecha, presentan mayor incidencia de escaldado por sol. Se encontró una relación negativa y significativa entre escaldado por sol a cosecha y escaldado en poscosecha en la fruta tratada con DPA. La cara del fruto dañada por sol presentó menor concentración de trienos conjugados (CT₂₈₁) después de almacenaje a 0°C. Los productos 1-MCP y DPA lograron controlar el escaldado, pero no fueron efectivos para controlar el escaldado por sol. El producto

Cuadro 5. Análisis de varianza del efecto del producto (1-MCP, DPA), severidad de golpe de sol (leve, moderado y severo) y tejido del fruto (sano e insolado) en la concentración de α farneseno y trienos conjugados de manzanas cv. Granny Smith almacenadas por tres y seis meses a 0°C.

Table 5. Analysis of variance for the effect of product (1-MCP, DPA), sunburn severity at the time of harvest (light, moderate, severe), and tissue (healthy, damaged) on conjugated trienes (CT 259, CT 269, CT 281) and α farnesene in 'Granny Smith' apples stored for 3 or 6 months at 0°C.

	Trienos conjugados							
	α -farneseno		CT 259		CT 269		CT 281	
	F	P>r	F	P>r	F	P>r	F	P>r
<i>Tres meses</i>								
Efecto producto (A)	16,08	<,0001	2,45	0,105	3,61	0,041	6,72	0,0043
Efecto golpe de sol (B)	3,31	0,0517	5,08	0,0134	5,78	0,0081	6,01	0,0069
Efecto tejido (C)	51,79	<,0001	40,65	<,0001	35,84	<,0001	21,25	<,0001
A x B	2,51	0,0653	2,06	0,1144	1,48	0,2373	1,2	0,3334
A x C	3,91	0,0323	2,41	0,1089	8,38	0,0015	25,36	<,0001
B x C	2,54	0,098	3,25	0,0542	3,8	0,0351	4,93	0,0149
A x B x C	0,3	0,8778	2,04	0,1169	2,12	0,1056	2,42	0,0733
<i>Seis meses</i>								
Efecto producto (A)	1,23	0,3106	4,92	0,0158	14,99	<,0001	18,17	<,0001
Efecto golpe de sol (B)	2,08	0,1456	2,79	0,0804	10,3	0,0005	17,73	<,0001
Efecto tejido (C)	12,04	0,0019	65,97	<,0001	100,27	<,0001	68,71	<,0001
A x B	1,21	0,3323	4,00	0,0122	9,62	<,0001	3,78	0,0154
A x C	0,59	0,5626	2,26	0,1253	8,57	0,0015	12,54	0,0002
B x C	1,43	0,2575	0,57	0,5704	4,13	0,0283	8,15	0,0019
A x B x C	0,91	0,4744	2,11	0,1092	7,01	0,0006	3,58	0,0193

Cuadro 6. Efecto producto (1-MCP, DPA), golpe de sol (leve, moderado, severo) y tejido del fruto (sano, insolado) en la concentración de α farneseno y trienos conjugados (CT 281) en manzanas, cv. Granny Smith a los tres meses de almacenaje a 0°C.

Table 6. Effect of product (1-MCP, DPA), sunburn severity (light, moderate, severe) at harvest, and tissue (healthy, damaged) affected by sunburn on conjugated trienes (CT 281) and α farnesene in 'Granny Smith' apples stored for three months at 0°C.

α -farneseno nmol·cm ⁻²				Trienos conjugados 281 nmol·cm ⁻²					
<i>3 meses</i>									
Efecto producto x golpe de sol		ns				ns			
Efecto producto x tejido		Testigo	1-MCP	DPA			Testigo	1-MCP	DPA
Sano		85,5Aa	70,1Aa	80,6Aa	Sano		17,7Aa	19,5Aa	11,5Aa
Insolado		61,8Ab	21,4Bb	59,0Aa	Insolado		10,3Aa	4,3Bb	5,7Ba
							Leve	Moderado	Severo
Efecto golpe de sol x tejido		ns			Sano		15,3Aa	12,2Aa	15,3Aa
					Insolado		13,6Aa	8,0Bb	4,5Bb
Efecto producto x golpe de sol x tejido		ns				ns			

¹ Letras minúsculas o mayúsculas distintas en la misma columna o fila respectivamente indican diferencias significativas entre las medias según la prueba de Tukey ($p = 0,05$); ns, no significativo a $p \leq 0,05$.

² L = (0-100); C = Chroma = (0-60) and Hue = 0° (red), 90° (yellow), 180° (green) y 270° (blue).

³ Means followed by the same letter within each column (lower case letters) and within each row (upper case letters) are not statistically different according to the Tukey's test ($p \leq 0,05$). ns, not significant at $p \leq 0,05$.

DPA ejerció mejor control de escaldado que 1-MCP, en frutos con una moderada insolación después de 6 meses de almacenaje a 0°C más 15 d a 20°C.

Resumen

El daño por insolación, golpe de sol o *sunburn* (Figure 1), es uno de los mayores problemas que afectan la calidad a cosecha de diversos cultivos reduciendo su valor comercial. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la evolución de la severidad del daño por golpe de sol leve, moderado y severo en manzanas 'Granny Smith' durante la conservación a 0°C. Frutos con estos niveles de daño fueron previamente tratados con 2000 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ de difenilamina (DPA) o 625 $\text{nL}\cdot\text{L}^{-1}$ de 1-methylcyclopropene (1-MCP). Además, igual número de frutos sin aplicación de estos productos se dejaron como control. La fruta se almacenó por 3 y 6 meses a 0°C más 15 d a 20°C. Para cada tiempo de almacenaje se evaluó la incidencia de escaldado y la concentración de trienos conjugados (CTs) en el sector del fruto aparentemente sano y dañado por sol. El sector dañado por sol derivó en síntomas de escaldado por sol después de

almacenaje, caracterizado por un pardeamiento de los tejidos que comprometió superficialmente el fruto. A medida que la intensidad del daño por insolación aumentó también se incrementó la incidencia de escaldado por sol. A su vez aumentó el área e intensidad del daño. El escaldado superficial se presentó en conjunto con escaldado senescente en el mismo fruto a los 6 meses de almacenaje y disminuyó en la fruta con golpe de sol moderado a severo. Sin embargo, solamente se detectó una relación negativa y significativa entre escaldado por sol y escaldado en la fruta tratada con DPA considerando los 3 y 6 meses de almacenaje a 0°C más 15 d a 20°C. El sector del fruto dañado por sol presentó menor concentración de trienos conjugados (CT₂₈₁). Los productos 1-MCP y DPA lograron controlar el escaldado, pero fueron sólo parcialmente efectivos contra el escaldado por sol. El producto DPA ejerció mejor control de escaldado que 1-MCP, en frutos con una moderada insolación después de 6 meses de almacenaje más 15 d a 20°C.

Key words: DPA, escaldado, escaldado superficial, golpe de sol, *Malus*, trienos conjugados, 1-metilciclopropeno.

Literatura citada

- Adegoroye, A. y P. Jolliffe. 1983. Initiation and control of sunscald injury of tomato fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 108:23-28.
- Andrews, P. 1997. Anatomical changes and antioxidant levels in the peel of sunscald damaged apple fruit. *Plant Physiology* 114S:103.
- Barden, C. y J. Bramlage. 1994. Relationships of antioxidants in apple peel to changes in α -farnesene and conjugated trienes during storage and to superficial scald development after storage. *Postharvest Biology and Technology* 4:23-33.
- Du, Z. y W. J. Bramlage. 1993. A modified hypothesis on the role of conjugated trienes in superficial scald development on stored apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 118:807-813.
- Fan, X., O. Mattheis y S.M. Blankenship. 1999. Development of apple superficial scald, soft scald, core flush, and greasiness is reduced by MCP. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 8:3063-3068.
- Huelin, F. E. y I. M. Coggiola. 1970. Superficial scald, a functional disorder of stored apples: V. Oxidation of α -farnesene and its inhibition by diphenylamine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 21:44-48.
- Johnson, J. R., P. Andrews, P. Sanderson y R. Evans. 1996. Sunscald physiology of apple fruit. *Plant Physiology* 114S:103.
- Johnson, J.R., D. Fahy, N. Gish y P.K. Andrews. 1999. Influence of ascorbic acid sprays on apple sunburn. *Good Fruit Grower* 50:81-83.
- Lurie, S., E. Pesis y R. Ben-Arie. 1991. Darkening of sunscald on apples in storage is a non-enzymatic and non-oxidative process. *Postharvest Biology and Technology* 1:119-125.
- Merzlyak, M., A. Solovchenko y O. Chivkunova. 2002. Patterns of pigment changes in apple fruits during adaptation to high sunlight and sunscald development. *Plant Physiology and Biochemistry* 8:679-684.
- Prohens, R., R. Miró, A. Rodríguez-Burruezo, S. Chiva, G. Verdú y F. Nuez. 2004. Temperature, electrolyte leakage, ascorbic acid content and sunscald in two cultivars of pepino, *Solanum muricatum*. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 79:375-379.
- Ritenour, M., L. Schrader, and M. Ku. 1998. The presence of heat-shock proteins in sun-exposed and heat-treated apple fruit. *HortScience* 33:452 (abstract).
- Rosales, M., J. Ruiz, J. Hernández, T. Soriano, N. Castilla y L. Romero. 2006. Antioxidant content and ascorbate metabolism in cherry tomato exocarp in relation to temperature and solar radiation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86:1545-1551.
- Roberts, B. y J. Anderson. 1994. Canopy shade and soil mulch affect yield and solar injury of bell pepper. *HortScience* 29:258-260.
- Shaham, Z., A. Lers y S. Lurie. 2003. Effect of heat or 1-methylcyclopropene on antioxidative enzyme activities and antioxidants in apples in relation to superficial scald development. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128:761-766.
- Wand, S. y J. Gindaba. 2005. Controlling sunburn: What are the options? *South African Fruit Journal* 4:24-26.
- Wünsche, J.N., J. Bowen, I. Ferguson y A. Woolf. 2004. Sunburn on apples-causes and control mechanisms. *Acta Horticulturae* 636:631-636.
- Wünsche, J. N., D. Greer, J. Palmer, A. Lang y T. McGhie. 2001. Sunburn-the cost of the high light environment. *Acta Horticulturae* 557:349-356.
- Yuri, J.A. 2001. El daño por sol en manzanas. *Revista Frutícola (Chile)* 3:89-96.
- Yuri, J.A., C. Torres y J. Vásquez. 2000a. Golpe de sol en manzanas. I. Evaluación del daño y métodos de control. *Agro-Ciencia (Chile)* 16:13-21.
- Yuri, J.A., C. Torres, R. Bastías y A. Neira. 2000b. Golpe de sol en manzanas. II. Factores inductores y respuestas bioquímicas. *Agro-ciencia (Chile)* 16:23-32.
- Zoffoli, J.P., D. Richardson, P. Chen y D. Sugar. 1998. Spectrophotometric characterization of superficial and senescent scald in pear fruits relative to different stages of maturity. *Acta Horticulturae* 475:543-558.