

**APLICACIÓN DE FOSFITO EN KIWI 'HAYWARD' Y SU EFECTO SOBRE  
LA CALIDAD Y EL DESARROLLO DE PODREDUMBRE GRIS**

**Alejandra Karina Yommi**

Trabajo de Tesis para ser presentado como requisito parcial para optar al Título de

**DOCTORA en CIENCIAS AGRARIAS**

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA**

Unidad Integrada Balcarce: Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP – Estación  
Experimental Agropecuaria Balcarce, INTA

Balcarce, Argentina

Julio, 2021

**APLICACIÓN DE FOSFITO EN KIWÍ 'HAYWARD' Y SU EFECTO SOBRE  
LA CALIDAD Y EL DESARROLLO DE PODREDUMBRE GRIS**

**Alejandra Karina Yommi**

**Comité Consejero:**



.....  
Directora de Tesis: Lic. Cs. Biol. Adriana Balbina Andreu (Dra.)



.....  
Co-Directora de Tesis: Ing. Agr. Perla Azucena Gómez Di Marco (Dra.)



.....  
Asesora: Lic. Qca. María Cecilia Baeza (Dra.)

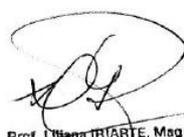


.....  
Asesora: Ing. Tecn. Alim. Gabriela Fasciglione (Dra.)

# APLICACIÓN DE FOSFITO EN KIWÍ 'HAYWARD' Y SU EFECTO SOBRE LA CALIDAD Y EL DESARROLLO DE PODREDUMBRE GRIS

Alejandra Karina Yommi

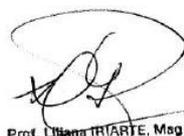
Aprobada por:

  
Prof. Lilianna TRIARTE, Mag  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
UNNCS

*p/a*

Evaluador:

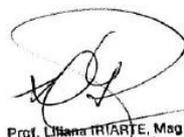
.....  
Ing. Agr. Ariel Vicente (Dr.)

  
Prof. Lilianna TRIARTE, Mag  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
UNNCS

*p/a*

Evaluadora:

.....  
Biol. Inmaculada Recasens Guijuan (Dra.)

  
Prof. Lilianna TRIARTE, Mag  
Secretaría de Posgrado  
Facultad de Ciencias Agrarias  
UNNCS

*p/a*

Evaluador:

.....  
Ing. Agr. Norberto Gariglio (Dr.)

**DEDICATORIA**

*A mi familia*

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todos y cada uno de los que han colaborado conmigo en este largo camino. En primer lugar a mi Directora, Adriana, que ha acompañado el proceso y ha contribuido con su gran experiencia en mi formación. A mi Co-directora Perla, que siempre estuvo presente y dispuesta a darme una mano a pesar de vivir en otro país y otro Hemisferio. A mis Asesoras, Cecilia y Gabriela, con quienes hemos construido una relación que trasciende lo académico y profesional. A Ceci le agradezco la paciencia, su acompañamiento y ayuda con los procedimientos y técnicas analíticas. Sin dudas que sin su ayuda no hubiera sido posible hacer muchas de las mediciones reportadas. A Gaby, le agradezco su apoyo, su compañía, su energía y su contagiosa ganas de crecer profesionalmente.

Un especial agradecimiento a María Clara Sánchez, por su colaboración en los ensayos patológicos. Gracias Clarita.

Un agradecimiento eterno también para todos los que han colaborado en el día a día. A Vicky Quillehauquy, gracias por tu ayuda incondicional. A Carlitos Pereyra y Enrique Sánchez, gracias por su colaboración, por su apoyo, por su compañía.

Agradezco también a Sebastián Elena, productor de kiwi de Sierra de los Padres, quien ha colaborado permanentemente conmigo, haciendo las aplicaciones en las parcelas, permitiendo el ingreso a las plantaciones cada vez que fuera necesario y cediendo la fruta para los estudios.

Finalmente, quiero agradecer a INTA que permitió acceder a esta formación de Posgrado a través de una beca, financiando además los ensayos que se detallan en esta Tesis.

## INDICE

1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1. Clasificación botánica, características de la planta y del cv. ‘Hayward’. .....	1
1.2. Producción mundial de kiwi. ....	3
1.3. Producción nacional, abastecimiento del mercado interno. ....	3
1.4. Crecimiento y maduración organoléptica de los frutos de kiwi. ....	5
1.4.1. Índices de cosecha y de calidad. ....	5
1.4.2. Ablandamiento y mecanismos involucrados. ....	8
1.5. Enfermedades que afectan los frutos de kiwi y la importancia de <i>Botrytis cinerea</i> como agente causal de pérdidas. ....	10
1.5.1. <i>Botrytis</i> spp: características del hongo, síntomas, signos y ciclo de la enfermedad. ....	11
1.5.2. Estrategias de control de la podredumbre gris. ....	13
1.6. ¿Qué son y cómo actúan los fosfitos?.....	14
1.6.1. Los fosfitos y su efecto bioestimulante en especies frutihortícolas. ....	16
1.6.2. Los fosfitos como estrategia para inducir resistencia en las plantas. ....	18
1.7. El rol del etileno en el proceso de ablandamiento y en el desarrollo de las podredumbres. ....	19
1.8. El reforzamiento de la pared celular y la importancia de los fenoles en la defensa. ....	19
1.9. El fruto de kiwi como fuente de compuestos nutricionales.....	21
1.9.1. Composición y contenido de compuestos antioxidantes en el fruto de kiwi. ....	22
1.9.1.1. <i>Compuestos fenólicos</i> . ....	25
1.9.1.2. <i>Vitaminas</i> . ....	26
1.9.1.3. <i>Carotenos y clorofila</i> . ....	27
1.9.2. Inducción de síntesis de compuestos antioxidantes. ....	28
1.10. Hipótesis, objetivos generales y específicos. ....	30
2. CAPITULO 1: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FOSFITO DE POTASIO SOBRE LOS ÍNDICES DE MADURACIÓN, LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA Y SENSORIAL DEL FRUTO A COSECHA Y DESPUÉS DEL ALMACENAMIENTO EN FRIO. ....	32
1. INTRODUCCIÓN. ....	33
2. MATERIALES Y MÉTODOS. ....	36
2.1. Condiciones de cultivo y descripción de los tratamientos. ....	36

2.2. Cosecha, acondicionamiento y condiciones de almacenamiento. ....	41
2.3. Metodología de medición de los índices de madurez y de calidad. ....	42
2.3.1. Medición de color de la pulpa (pericarpio externo). ....	42
2.3.2. Firmeza de la pulpa (pericarpio externo). ....	43
2.3.3. Contenido de materia seca. ....	43
2.3.4. Contenido de sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable (AT). ....	43
2.3.5. Medición de la producción de etileno y tasa respiratoria. ....	44
2.4. Metodología para el análisis sensorial. ....	44
2.5. Diseño estadístico y análisis de los datos. ....	45
3. RESULTADOS. ....	46
3.1. Índices de madurez y de calidad al momento de cosecha. ....	46
3.2. Índices de madurez al finalizar el almacenamiento refrigerado y en vida comercial. ....	48
3.3. Producción de etileno y tasa respiratoria. ....	53
3.4. Evaluación sensorial. ....	56
4. DISCUSIÓN. ....	58
5. CONCLUSIONES. ....	65
CAPITULO 2: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FOSFITO DE POTASIO SOBRE EL DESARROLLO DE BOTRYTIS EN FRUTOS ALMACENADOS EN FRÍO. ....	66
1. INTRODUCCIÓN. ....	67
2. MATERIALES Y MÉTODOS. ....	70
2.1. Condiciones de cultivo y descripción de los tratamientos. ....	70
2.2. Cosecha, acondicionamiento y condiciones de almacenamiento. ....	70
2.3. Obtención del aislamiento, identificación, preparación del inóculo. ....	71
2.4. Inoculación de los frutos con <i>B. cinerea</i> . ....	72
2.5. Estimación de incidencia y severidad. ....	73
2.6. Medición del espesor de la piel de los frutos de kiwi. ....	74
2.7. Medición de contenido de pared celular y de lignina en el pericarpio externo (reforzamiento del tejido). ....	75
2.8. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos. ....	76
3. RESULTADOS. ....	76
3.1. Incidencia y severidad. ....	76
3.2. Cambios en el espesor de la piel de los frutos. ....	82
3.3. Cambios en el contenido de pared celular y lignina en el pericarpio externo. ....	84
4. DISCUSIÓN. ....	87

5. CONCLUSIONES.....	91
CAPÍTULO 3: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FOSFITO DE POTASIO SOBRE EL CONTENIDO DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN EL FRUTO A COSECHA Y DESPUÉS DEL ALMACENAMIENTO EN FRÍO. ....	93
1. INTRODUCCIÓN. ....	93
2. MATERIALES Y MÉTODOS. ....	94
2.1. Condiciones de cultivo y descripción de los tratamientos. ....	94
2.2. Cosecha, acondicionamiento y condiciones de almacenamiento.....	94
2.3. Determinación de la calidad nutricional. ....	94
2.3.1. Extracción y determinación del contenido de ácido ascórbico. ....	95
2.3.2. Determinación capacidad antioxidante por diferentes métodos. ....	95
2.3.2.1. <i>Obtención de los extractos.</i> ....	95
2.3.2.2. <i>Medición por el método del DPPH (radical libre 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo).</i>	96
2.3.2.3. <i>Medición por el método FRAP (Ferric reducing ability of plasma).</i> .....	96
2.3.3. Determinación de los fenoles totales.....	97
2.3.4. Determinación del contenido de flavonoides. ....	97
2.3.5. Extracción y determinación del contenido de clorofila (a y b) y carotenoides totales. ....	98
2.4. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos. ....	98
3. RESULTADOS.....	99
3.1. Al momento de la cosecha. ....	99
3.2. Al finalizar el almacenamiento refrigerado.....	102
3.3. Al finalizar la vida comercial. ....	103
4. DISCUSIÓN. ....	107
5. CONCLUSIONES.....	115
3. CONCLUSIONES GENERALES.....	116
4. BIBLIOGRAFÍA.....	118
APÉNDICE .....	149
Figura I. Condiciones de temperatura máxima y mínima media mensual y temperatura media mensual (°C) desde noviembre a abril en las temporadas de cosecha 2014, 2015 y 2016. Datos meteorológicos proporcionados por INTA Balcarce.....	150

Figura II. Precipitación acumulada mensual (mm) y heliofanía relativa media mensual (%), desde noviembre a abril en las temporadas de cosecha 2014, 2015 y 2016. Datos meteorológicos proporcionados por INTA Balcarce. ....	151
Figura III. Condiciones de temperatura máxima, mínima y media diaria (°C) desde comienzos de noviembre a fin de enero, en las temporadas de cosecha 2014 y 2015.....	152
Figura IV. Condiciones de temperatura máxima, mínima y media diaria (°C) desde comienzos de febrero a fin de abril, en las temporadas de cosecha 2014 y 2015.	153
Figura V. Temperatura máxima diaria (°C) en el mes de febrero (a), marzo (b), abril (c) y temperatura mínima diaria en febrero (d), marzo (e) y abril (f). ....	154
Figura VI. Equipo espectrofotómetro de microplaca Epoch .....	155

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Valores de referencia de capacidad antioxidante total en fruto de kiwi cv. 'Hayward' medido por diferentes técnicas y condiciones de ensayo.....	23
<b>Tabla 2.</b> Contenido de compuestos que contribuyen con la capacidad antioxidante en el fruto de kiwi cv. 'Hayward'.....	24
<b>Tabla 3.</b> Perfil de compuestos fenólicos en frutos de kiwi cv. 'Hayward' analizado por HPLC.....	26
<b>Tabla 4.</b> Contenido de vitaminas en el fruto de kiwi verde (USDA, 2016).....	27
<b>Tabla 5.</b> Escala de intervalo utilizada para cada atributo evaluado en el panel sensorial.....	45
<b>Tabla 6.</b> Firmeza, color de pulpa y contenido de materia seca correspondientes al día de la cosecha en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados o no tratados con KPhi (años 2014 y 2015).....	47
<b>Tabla 7.</b> Firmeza, color de pulpa, contenido de materia seca, de sólidos solubles totales y acidez titulable correspondientes al día de la cosecha en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados y no tratados con KPhi en precosecha (año 2016).....	48
<b>Tabla 8.</b> Contenido de SST, color de pulpa y AT al finalizar el almacenamiento refrigerado (4 meses a $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR) y vida comercial (4 meses a $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR + 7 días a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados o no tratados con KPhi (años 2014 y 2015).....	51
<b>Tabla 9.</b> Contenido de SST, color de pulpa y AT correspondientes a la salida de frío (4 meses a $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR) y vida comercial (4 meses a $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR + 7 días a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados o no tratados con KPhi (año 2016).....	53
<b>Tabla 10.</b> Textura, sabor característico y acidez de frutos de kiwi al finalizar el almacenamiento refrigerado (4 meses a $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR) y vida comercial (4 meses a $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR + 7 días a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR), según un panel de jueces semi-entrenados (6 a 8 jueces).....	57
<b>Tabla 11.</b> Textura, sabor característico y acidez de frutos de kiwi al finalizar el almacenamiento refrigerado (4 meses a $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR) y vida comercial (4 meses a $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR + 7 días a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR), según un panel de jueces semi-entrenados (6 a 8 jueces) (año 2016).....	58
<b>Tabla 12.</b> Espesor de la piel de frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados y no tratados con KPhi en precosecha y poscosecha (año 2016), luego de 3 meses de almacenamiento	

a $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y 95% HR. Media $\pm$ E.E. en base al promedio de 10 medidas por fruto en un total de 10 frutos por tratamiento.....	83
<b>Tabla 13.</b> AA, $CA_{DPPH}$ , $CA_{FRAP}$ , fenoles totales, flavonoides totales, clorofila total y carotenoides totales en pericarpio externo de frutos de kiwi Hayward analizados al momento de la cosecha.....	101
<b>Tabla 14.</b> Contenido de AA, $CA_{DPPH}$ , $CA_{FRAP}$ , fenoles totales, flavonoides totales, clorofila total y carotenoides totales en pericarpio externo de frutos de kiwi Hayward analizados al finalizar 4 meses de almacenamiento refrigerado ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR).....	105
<b>Tabla 15.</b> AA, $CA_{DPPH}$ , $CA_{FRAP}$ , fenoles totales, flavonoides totales, clorofila total y carotenoides totales en pericarpio externo de frutos de kiwi Hayward analizados en vida comercial (7 días a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR), luego de 4 meses de almacenamiento refrigerado ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR).....	106

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Morfología interna del fruto de kiwi.....	2
<b>Figura 2.</b> Evolución de los índices de madurez y de calidad en frutos de kiwi cv. 'Hayward' producidos en Sierra de los Padres, desde los 134 y hasta los 176 días post-floración (datos propios, valores promedio de 2 años).....	6
<b>Figura 3.</b> Curva de ablandamiento teórica, en la que se representan las cuatro fases de ablandamiento. Adaptado de Atkinson <i>et al.</i> (2011); reproducido con permiso de Oxford University Press. ....	9
<b>Figura 4.</b> Estructura de la molécula del fosfonato hidrógeno de potasio (izq.) y del fosfonato de dipotasio (der.) (EFSA, 2012a).....	14
<b>Figura 5.</b> Composición del fruto de kiwi en porcentaje (Elaboración propia con datos de USDA, 2016). ....	22
<b>Figura 6.</b> Ruta de síntesis de compuestos fenólicos y flavonoides. Adaptado de Taiz y Zeiger (2002). ....	29
<b>Figura 7.</b> Foto de la plantación de kiwi tomada en febrero del 2014.....	37
<b>Figura 8.</b> Equipo pulverizador asperjando KPhi a las plantas de kiwi.....	38
<b>Figura 9.</b> a) Estado de desarrollo de las flores y b) de los frutos, al momento de aplicación del fosfito de potasio ( $KPhi_{PrFl}$ y $KPhi_{FrU}$ , respectivamente; $KPhi_{PrFl}+KPhi_{FrU}$ consistió en el asperjado en ambos estados fenológicos).....	39
<b>Figura 10.</b> Esquema de los tratamientos con y sin KPhi en concordancia con la fenología del cultivo y los meses del año, realizados durante las temporadas 2013-2014 y 2014-2015. También se mencionan cronológicamente los procesos realizados.....	40
<b>Figura 11.</b> Esquema de los tratamientos con y sin KPhi en concordancia con la fenología del cultivo y los meses del año, realizados durante la temporada 2016. También se mencionan cronológicamente los procesos realizados.....	41
<b>Figura 12.</b> Contenido de sólidos solubles totales ( $^{\circ}Brix$ ) y acidez titulable (%) a cosecha, en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha durante las temporadas 2013-2014 y 2014-2015. Letras diferentes en una misma temporada indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer, $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos. ....	47
<b>Figura 13.</b> Firmeza (N) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha durante las temporadas 2013-2014 y 2014-2015 y almacenados 4 meses	

a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR: a) a la salida del almacenamiento, b) durante 7 días de vida comercial a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR. Letras diferentes en una misma temporada indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos. .... 49

**Figura 14.** Firmeza (N) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha y/o en poscosecha durante la temporada 2016: a) al finalizar el almacenamiento durante 4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR: b) durante 7 días de vida comercial a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR. Letras diferentes en un mismo momento de evaluación (salida de frío o vida comercial) indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 4 repeticiones de 30 frutos..... 52

**Figura 15.** Producción de etileno ( $\mu\text{l kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha durante las temporadas: a) 2013-2014 y b) 2014-2015. Los frutos analizados fueron incubados a  $20^{\circ}\text{C}$  y previamente almacenados durante 4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95%HR. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 8 frutos.....54

**Figura 16.** Tasa respiratoria ( $\text{mg CO}_2 \text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha durante las temporadas: a) 2013-2014 y b) 2014-2015. Los frutos analizados fueron incubados a  $20^{\circ}\text{C}$  y previamente almacenados durante 4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95%HR. Los datos de la tabla para cada tratamiento y día corresponden al de las dos años (2014 y 2015). Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 8 frutos. ....55

**Figura 17.** Producción de etileno ( $\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) transformada por Log, en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha y/o en poscosecha en el año 2016. Los frutos analizados fueron incubados a  $20^{\circ}\text{C}$ , y previamente habían sido almacenados durante 4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95%HR. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 8 frutos. ....56

- Figura 18.** Fruto con presencia de micelio y esporulación del hongo *Botrytis cinerea* (a); siembra de esporas e hifas del hongo en placa de Petri conteniendo medio de agar papa dextrosa (b). ..... 71
- Figura 19.** Obtención de cultivos monospóricos. ....72
- Figura 20.** Fruto con síntomas de podredumbre gris y sitio de inoculación (izq.). Cálculo del área o porcentaje afectado con el programa ImageJ (der.)..... 74
- Figura 21.** Sector de corte a partir del cual se tomó la muestra de piel con un micrótopo para determinar su espesor por microscopía. .... 75
- Figura 22.** Incidencia (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' con diferentes tratamientos de asperjado con KPhi en precosecha (temporada 2013-2014). Frutos almacenados 3 meses ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR) fueron inoculados, incubados a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90%HR, y evaluados a los 14 días post-inoculación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos. .... 77
- Figura 23.** Incidencia (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' con diferentes tratamientos de asperjado con KPhi en precosecha (temporada 2014-2015). Los frutos fueron almacenados previamente 3 meses en frío ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR). Se muestran los resultados en frutos inoculados con y sin herida y controles sin inocular y sin herir a los 14 y 21 días post-inoculación a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90% HR. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo post-inoculación (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos..... 78
- Figura 24.** Frutos de kiwi cv. 'Hayward' controles inoculados con 15000 a 20000 esporas de *B. cinerea* sobre una herida. La imagen corresponde a los 7 días post-inoculación e incubación a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90% HR. .... 79
- Figura 25.** Fruto de kiwi cv. 'Hayward' control inoculado con 15000 a 20000 esporas de *B. cinerea* sobre una herida. Se muestra el desarrollo del signo del hongo en la zona inoculada. La imagen corresponde a los 14 días post-inoculación e incubación a  $20^{\circ}\text{C}$ , 90% HR. .... 79
- Figura 26.** Incidencia (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha y/o en poscosecha en la temporada 2016. Los frutos fueron almacenados previamente 3 meses en frío ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR). Se muestran los resultados en frutos inoculados con y sin herida y controles sin inocular y sin herir a los 10 y 14 días post-inoculación a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90% HR. Letras diferentes indican diferencias

significativas entre tratamientos para un mismo tiempo post-inoculación (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos. .... 80

**Figura 27.** Severidad (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' con diferentes tratamientos de asperjado con KPhi en precosecha (temporada 2014-2015). Los frutos fueron almacenados previamente 3 meses en frío ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR). Se muestran los resultados en frutos inoculados con herida a los 14 y 21 días post-inoculación a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90% HR. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día post-inoculación (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos. .... 81

**Figura 28.** Severidad (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con fosfitos en precosecha y/o en poscosecha en la temporada 2016. Los frutos fueron almacenados previamente 3 meses en frío ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR). Se muestran los resultados en frutos inoculados con herida, a los 10 y 14 días post-inoculación a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90% HR. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día de inoculación (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos. .... 82

**Figura 29.** Imágenes de un corte transversal de la piel tomadas por microscopía. Corresponde a frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha y/o en poscosecha en la temporada 2016. Los frutos fueron analizados al finalizar 3 meses de almacenamiento ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR). C-C: sin KPhi precosecha o poscosecha; KPhi<sub>Fru</sub>-C: seis aplicaciones foliares durante el desarrollo del fruto y sin aplicación en poscosecha; C-KPhi<sub>Pos</sub>: aplicación de KPhi sólo en poscosecha; KPhi<sub>Fru</sub>-KPhi<sub>Pos</sub>: fruta tratada en precosecha y en poscosecha. Escala  $1\mu\text{m} = 1 \text{ mm}$ ..... 83

**Figura 30.** Contenido de pared celular ( $\text{g g}^{-1}$  PF) en tejido de pericarpio externo en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con fosfitos: a) en precosecha (2015), b) en precosecha y/o en poscosecha (2016), analizado en el momento de la cosecha y al finalizar la salida de frío (3 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones. .... 85

**Figura 31.** Contenido de lignina ( $\text{Abs}_{280} \text{ g}^{-1}$  PF) en tejido de pericarpio externo en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con fosfitos: a) en precosecha (2015), b) en precosecha

y/o en poscosecha (2016), analizado al momento de la cosecha y al finalizar la salida de frío (3 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones. 86

**Figura 32.** Correlaciones entre CA por el método de DPPH y FRAP y el contenido de fenoles o de ácido ascórbico (2014 y 2015). Los puntos corresponden a todos los tratamientos y momentos de evaluación (cosecha, salida de frío, vida comercial).... 114

## RESUMEN

En Argentina, el sudeste de la provincia de Buenos Aires produce alrededor de la mitad del volumen nacional de kiwi (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa* cv. 'Hayward'), abasteciendo el mercado interno desde mayo a diciembre, para lo cual gran parte de la producción se debe conservar en cámaras de frío. Durante el almacenamiento se producen pérdidas por ablandamiento excesivo del fruto y por podredumbres, siendo *Botrytis cinerea* uno de los mayores agentes causales. Los fosfitos son reconocidos como inductores de defensa vegetal y constituyen una estrategia para el control de enfermedades en especies hortícolas y frutales, pero la información es limitada en kiwi. En esta Tesis se evaluó la aplicación foliar de fosfito de potasio (KPhi) Afital (30%  $P_2O_5$ , 20%  $K_2O$ ) al 0,3%, en diferentes estados fenológicos: 1) prefloración; 2) desarrollo del fruto, que constó de una aplicación semanal a partir de los 100 días desde plena floración, con 6 aplicaciones en total; 3) tratamiento combinado, con aplicaciones en prefloración + desarrollo del fruto; 4) control sin fosfitos. En un tercer año, se repitió el asperjado durante el desarrollo del fruto, se evaluó la inmersión de la fruta en KPhi (1%) y la combinación de ambos tratamientos, contando con fruta sin KPhi como control. Se determinó el efecto de los tratamientos sobre los índices de madurez del fruto en términos de: firmeza (con penetrómetro, en N) y color de pulpa (por colorimetría), contenido de sólidos solubles totales (°Brix), acidez titulable (por titulación ácido-base), producción de etileno y tasa respiratoria (cromatografía gaseosa). Por espectrofotometría se midió el contenido de ácido ascórbico, fenoles totales, flavonoides, clorofila, carotenoides y la capacidad antioxidante total (DPPH y FRAP). Todos los análisis se realizaron el día de la cosecha, al finalizar 4 meses de almacenamiento en frío ( $0 \pm 0,5^\circ C$ , 95% HR) y al final de la vida comercial (7 días a  $20 \pm 2^\circ C$ , 90% HR). Por otra parte, la incidencia y severidad de la podredumbre gris fueron evaluadas en frutos tratados y no tratados con KPhi e inoculados con *B. cinerea*. También se midió el efecto de los tratamientos sobre el contenido de lignina en la pulpa (espectrofotometría) y el espesor de la piel del fruto (microscopía). Las aplicaciones de KPhi, tanto en precosecha como en poscosecha, redujeron la producción de etileno y la tasa respiratoria y retrasaron el ablandamiento de los frutos al finalizar el almacenamiento y la vida comercial, sin modificar los atributos sensoriales. Además, el KPhi promovió un aumento en ácido ascórbico y fenoles totales en el fruto, incrementando su valor nutricional. El mayor contenido de lignina, fenoles totales y el mayor espesor de la piel fueron parte de los mecanismos de

defensa inducidos por el KPhi, aumentando la tolerancia a *Botrytis*. El asperjado de KPhi durante el desarrollo de los frutos de kiwi ha mostrado ser eficaz para mantener la calidad del fruto y aumentar sus defensas en poscosecha.

**Palabras clave:** *Actinidia*, ablandamiento, elicitador, respuesta de defensa

## ABSTRACT

In Argentina, around half of the national production of kiwifruit (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa* cv. 'Hayward') is obtained in the southeast of Buenos Aires province. The national market is supplied from May to December with cold stored kiwifruits from that part of the country. Fruits loss due to excessive softening and rotting occurs during cold storage, being *Botrytis cinerea* one of the major causal agents. Phosphites are recognized as plant defense inducers and constitute a strategy for disease control in several horticultural and fruit species, but the information is limited in kiwifruit. In this Thesis, spraying the foliage with 0.3% potassium phosphite (KPhi) Afital (30% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 20% K<sub>2</sub>O) at different phenological stages was evaluated: 1) pre-bloom; 2) fruit development, with a weekly spray from 100 days after full bloom, at total of six; 3) combined treatment, with pre-bloom sprays + fruit development; 4) control, without phosphites. In a third year, the KPhi foliage spraying during fruit development, the immersion of the fruit in KPhi (1%) and the combination of both treatments were evaluated, with fruit without KPhi as a control. The effects of the KPhi treatments on fruit ripening were determined in terms of: firmness (with penetrometer, in N) and pulp color (by colorimetry); total soluble solids content (°Brix), titratable acidity (by acid-base titration), ethylene production and respiration rate (gaseous chromatography). Content of ascorbic acid, total phenols, flavonoids, chlorophyll, carotenoids, and total antioxidant capacity (DPPH and FRAP) were measured (spectrophotometry). Each variable was analyzed at harvest, at the end of 4 months of cold storage (0 ± 0.5°C, 95% RH) and at the end of shelf-life (7 days at 20 ± 2°C, 90% RH). On the other hand, incidence and severity (affected area) of rots were determined in KPhi-treated and control fruits inoculated with *B. cinerea*. Also, the effects of KPhi treatments on lignin content in the external pericarp tissue (spectrophotometry) and thickness of kiwifruit skin (microscopy) were analyzed. The KPhi treatments, including pre-harvest and post-harvest, reduced the ethylene production and the respiration rate and delayed the fruit softening at the end of cold storage and shelf life, without modifying the sensory attributes. The KPhi treatments increased the ascorbic acid and total phenols contents of fruit, improving its nutritional value. The higher lignin content, total phenols and skin thickness were part of the defense mechanisms induced by the KPhi treatments, increasing the tolerance to *Botrytis*. Foliar application of KPhi during the development of the kiwifruits may be considered as an effective treatment to maintain the quality of the fruit and to increase its defenses at postharvest.

**Keywords:** *Actinidia*, softening, elicitor, defense response

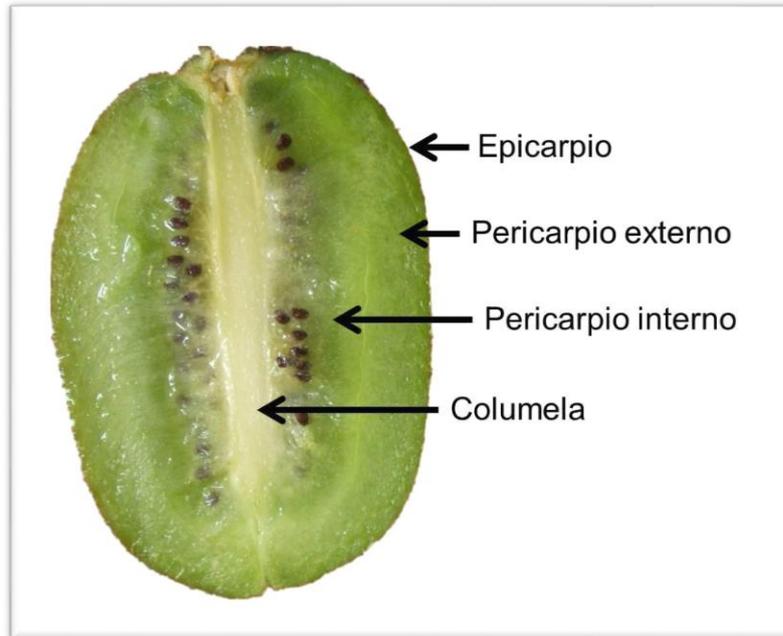
## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1.1. Clasificación botánica, características de la planta y del cv. 'Hayward'.

El kiwi es originario de China, pertenece al género *Actinidia* y comprende unas 44 especies endémicas de un total de 54 de este género. Se lo encuentra citado y descrito en numerosos documentos ancestrales chinos, pero su cultivo comenzó a principios del siglo XX, cuando E. H. Wilson llevó semillas desde China a Gran Bretaña y a Estados Unidos. Las plantas eran cultivadas con un fin ornamental más que productivo y por esa razón la producción no prosperó como se pensaba. La semilla llegó a Nueva Zelanda en 1904 y allí se comenzó a cultivar y a seleccionar, logrando los primeros frutos que generaron gran interés (Ferguson, 2004; Huang, 2016a). Ese material genético que fue llevado fuera de China y mejorado en Nueva Zelanda para su cultivo, pertenecía a *A. chinensis* var. *deliciosa*, el kiwi de pulpa verde que actualmente domina el mercado mundial. Este proceso de domesticación del kiwi ha sido detallado en su libro por Huang (2016a), junto a una exhaustiva descripción de las características botánicas y la taxonomía actualizada de la familia *Actinidiaceae* (Huang, 2016b, 2016c, 2016d).

La planta de *A. chinensis* es de hábito trepador, de hoja caduca, semileñosa y arbustiva. Las hojas son simples y alternas, con forma ovalada o casi redondeada y están cubiertas por tricomas multicelulares en ambas caras o al menos en la cara abaxial, según la variedad botánica. Son plantas diclino dioicas, con flores de pétalos blancos que se agrupan en inflorescencias cimosas. Las flores de plantas femeninas poseen estambres no funcionales mientras que las flores de plantas masculinas, pueden presentar ovarios rudimentarios, muy poco desarrollados y con óvulos no viables (Huang, 2016b). El fruto es una baya, de piel parda cubierto o no de vellosidad, con pulpa de color verde o amarilla. En la Figura 1 se muestran las diferentes zonas que conforman el fruto en un corte longitudinal.

Actualmente, sólo dos variedades botánicas de la misma especie del género *Actinidia* se cultivan y producen el fruto conocido como kiwi: *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* y *Actinidia chinensis* var. *chinensis* (Huang, 2016c, 2016d). *Actinidia arguta*, llamado *kiwiberry* o *baby kiwi*, es otra especie que se ha domesticado y que ha tenido un notable crecimiento en los últimos años (Huang, 2016c, 2016d). Los frutos de *A. arguta* son de tamaño pequeño, glabros, de forma y aspecto similar a una baya de uva, fáciles de consumir porque se ingieren con piel, y caracterizados por un alto contenido de compuestos bioactivos (Latocha *et al.*, 2015; Pinto *et al.*, 2020).



**Figura 1.** Morfología interna del fruto de kiwi.

La vellosidad y forma de las hojas, la cantidad de flores por inflorescencia, la forma y aspecto externo e interno del fruto, se encuentran entre las principales características que permiten diferenciar las dos variedades de *A. chinensis* (Huang, 2016d). En relación a los frutos, las principales diferencias entre las dos variedades son:

*A. chinensis* var. *deliciosa*: la piel es verde a marrón opaca y con abundante pilosidad que en parte se pierde cuando la fruta madura. El extremo distal es algo redondeado, generalmente más estrecho que la sección ecuatorial de la fruta.

*A. chinensis* var. *chinensis*: de forma elipsoide u ovoide, con un color de pulpa que generalmente se encuentra entre el verde pálido a amarillo intenso (Nishiyama, 2007; Huang, 2016d).

El cultivar 'Hayward': este genotipo de la especie *A. chinensis* var. *deliciosa* produce fruta de buen sabor y tiene muy buen comportamiento en poscosecha, características que permitieron el crecimiento de la industria del kiwi en Nueva Zelanda a partir de 1960 y convirtieron a este país en un fuerte exportador (Burdon y Lallu, 2011). La producción de este cultivar se difundió rápidamente en varios países y se hizo dominante en el mercado mundial, lo que persiste aún en la actualidad. Prácticamente el 95% del kiwi que se comercializa en el mundo es cv. 'Hayward'

(Ferguson y Seal, 2008). En Argentina este cultivar abarca prácticamente la totalidad de la superficie en producción.

A partir del año 2000, el mejoramiento genético realizado en Universidades e Institutos han permitido ampliar la cantidad de cultivares disponibles, tanto de kiwi de pulpa verde como de pulpa amarilla, que fueron ganando espacio productivo y de mercado (Burdon y Lallu, 2011; Burdon, 2018). China cuenta con un fuerte programa de mejoramiento genético y en pocos años ha obtenido nuevos materiales, incluyendo híbridos interespecíficos con muy buenas características (Zhong, 2018).

## **1.2. Producción mundial de kiwi.**

La producción mundial de kiwi ha ido en aumento durante los últimos años, alcanzando 4,3 millones de t en el año 2018 (FAO, 2019). Uno de los cambios más importantes en los últimos 15 años es que China se ha convertido en el primer productor mundial, con algo más de la mitad del volumen global (Costa *et al.*, 2018); 2,3 millones de t en el año 2018 (FAO, 2019). Según datos estimados por FAO, China contaba con 100000 ha con kiwi en producción en el año 2010 y las duplicó en el año 2016, registrándose un descenso a 165000 ha en el 2017 debido a problemas sanitarios del cultivo. Su producción tiene la particularidad de tener bajos rendimientos por hectárea, mayor diversidad en cuanto a especies y variedades cultivadas y el destino es el mercado interno en un 99% (Ferguson, 2015).

La otra mitad de la producción mundial está liderada por cinco países, alcanzando una participación del 40% del volumen total producido. Italia y Nueva Zelanda ocupan los primeros puestos, con alrededor de 562 y 414 mil t anuales, respectivamente, mientras que Irán, Grecia y Chile suman unas 762 mil t anuales (FAO, 2019). En el año 2017, 1,5 millones de t de kiwi fueron exportadas en todo el mundo (alrededor del 40% del volumen producido). El mercado de exportación es liderado por Nueva Zelanda (456 mil t) e Italia (321 mil t), con un 50% del volumen de las ventas globales. Siguen en orden de importancia Chile, Grecia, Bélgica e Irán, ocupando en su conjunto el 35% del mercado de exportación de kiwi (FAO, 2019).

## **1.3. Producción nacional, abastecimiento del mercado interno.**

La producción de kiwi se ha incrementado en los últimos años en Argentina, particularmente en los alrededores de Mar del Plata, provincia de Buenos Aires. La superficie implantada a nivel nacional es de alrededor de 1000 ha, de las cuales aproximadamente 550, se encuentran en el sudeste de la provincia de Buenos Aires

(datos propios). Esta área productiva, según Benés *et al.* (2018), comprende los Partidos de General Pueyrredón (80%), General Madariaga (8%), General Alvarado (7,6%), Mar Chiquita y Balcarce. La producción nacional por año, de la cual no se tienen registros oficiales, se estima entre 8 y 9 mil t (Reid, A., com. pers.), lo que resulta insuficiente para abastecer el consumo del mercado doméstico. Anualmente se importa fruta desde Chile que ingresa a partir de marzo y hasta diciembre. Durante el periodo comprendido entre noviembre y febrero, se importa kiwi en contra estación, principalmente de Italia. En el año 2019 las importaciones fueron de 6875 t mientras que las exportaciones alcanzaron 1780 t (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos [INDEC], 2020). Se estima que el volumen de exportación irá en aumento debido a la demanda existente en Latinoamérica y en Europa, y por las condiciones propicias por el cambio de la relación de precio entre el peso y el dólar o euro.

El destino comercial del kiwi argentino es principalmente el mercado interno. Sólo una baja proporción del producido en el sudeste es comercializado durante el primer mes transcurrido desde la cosecha y fundamentalmente es la fruta que va a exportación, enviada por ultramar a Europa. La mayor parte de la producción se conserva en cámaras de frío para extender el período de venta y prolongar la presencia del producto en el mercado interno hasta diciembre, con y sin el uso de atmósferas controladas y de otras tecnologías. Los frutos de kiwi pueden almacenarse a 0°C y 90 a 95% de HR hasta por 6 meses, dependiendo del cultivar, siendo el ablandamiento excesivo de la pulpa el principal factor limitante del tiempo de almacenamiento (Rushing, 2016). El fruto es muy sensible al etileno, ya que niveles tan bajos como 5 a 10 ppb aceleran la pérdida de firmeza (Crisosto *et al.*, 1996). El desarrollo de pudriciones y fisiopatías también pueden reducir la duración del almacenamiento (Hewett *et al.*, 1999). Entre las pudriciones, la podredumbre gris causada por *Botrytis cinerea* es la de mayor incidencia en el fruto del kiwi a nivel mundial (Crisosto *et al.*, 1996).

En Argentina, muy pocos fungicidas, todos cúpricos, están autorizados para el control de enfermedades en kiwi. La aparición de cepas resistentes a los fungicidas de síntesis en otros países (Bardas *et al.*, 2010) y la preocupación de la población por el efecto de los residuos de agroquímicos en la salud humana y en el ambiente conllevan a la búsqueda de alternativas que puedan controlar el patógeno y/o dar protección a las plantas.

#### **1.4. Crecimiento y maduración organoléptica de los frutos de kiwi.**

El periodo que abarca desde antesis hasta que el fruto de kiwi se encuentra maduro para su consumo puede tener una duración de 200 a 210 días (Nardozza *et al.*, 2010). Hopping (1976) ha reportado que el crecimiento del fruto de kiwi en términos de peso fresco se ajusta a una curva doble sigmoidea, con una primera etapa (durante los primeros 58 días post-floración) de rápido aumento de tamaño debido a la multiplicación y elongación celular, seguida por otra de crecimiento más lento (58 a 76 días post-floración), y una tercera etapa (76 hasta 160 días post-floración) en la que se reanuda el crecimiento, fundamentalmente por expansión de las células de la columela y del pericarpio interno. No obstante, puede haber variaciones en el patrón de la curva de crecimiento descrita anteriormente, en función de la disponibilidad de agua y la temperatura del aire, factores que condicionan el desarrollo de los frutos (Burdon, 2018).

A diferencia del peso fresco, la acumulación de materia seca ocurre en forma sostenida durante el crecimiento del fruto de kiwi (Hopping, 1976). Este aumento de materia seca se debe fundamentalmente a la acumulación de carbono en forma de almidón (Burdon y Lallu, 2011).

Cuando el crecimiento cesa (alrededor de los 160 días post-floración), el fruto de kiwi ha alcanzado la madurez fisiológica e inicia la maduración organoléptica, la que puede completar en la planta o separado de ella. Durante esta etapa de desarrollo se producen cambios importantes en la textura y sabor del fruto de kiwi, debidas fundamentalmente al ablandamiento de la pulpa, la acumulación de azúcares por hidrólisis de almidón y la síntesis de aromas (Burdon y Lallu, 2011).

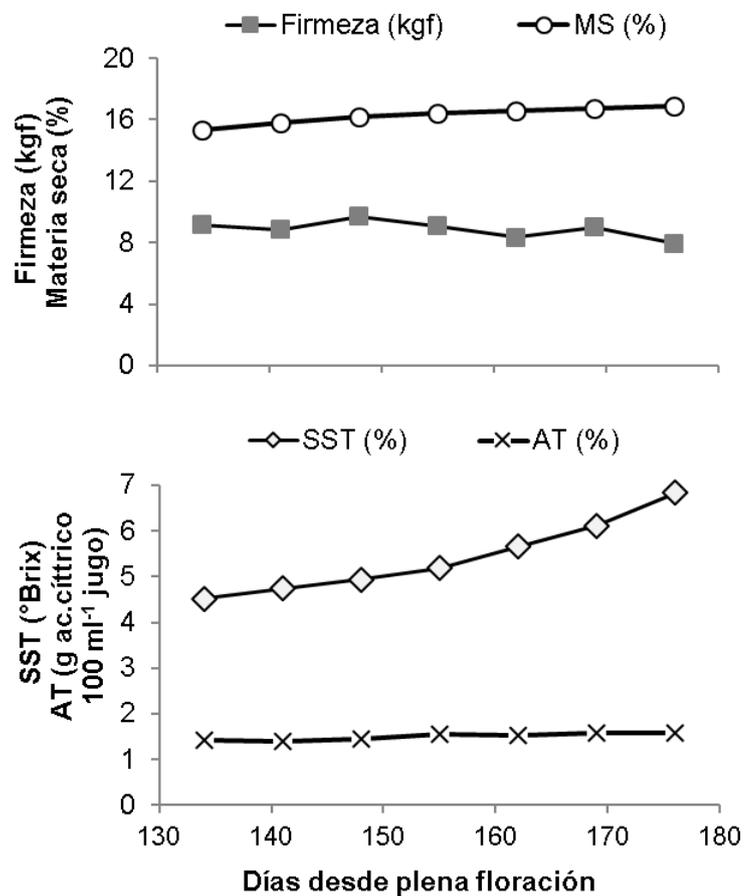
La maduración organoléptica en las frutas está regulada en general por el etileno, hormona que coordina los cambios que ocurren durante el proceso (Tucker *et al.*, 2017). No obstante, un estudio transcriptómico reciente demuestra que algunos de los cambios que ocurren durante la maduración organoléptica en los frutos de kiwi están regulados por el etileno mientras que otros lo son por las bajas temperaturas o por ambas vías (Asiche *et al.*, 2018).

##### **1.4.1. Índices de cosecha y de calidad.**

Como el kiwi es un fruto climatérico (Pratt y Reid, 1974), la cosecha se inicia antes de que finalice el proceso de maduración organoléptica en la planta para extender la vida poscosecha (Burdon *et al.*, 2016). Generalmente, es cosechado a partir de

madurez fisiológica, pero en la práctica se puede recolectar con un menor o mayor grado de madurez dependiendo del destino (Burdon y Lallu, 2011).

En el sudeste de la provincia de Buenos Aires, el momento de plena floración del cv. 'Hayward' es entre el 15 y 20 de noviembre y la madurez fisiológica de los frutos se alcanza generalmente durante la primera semana de mayo (entre 160 y 170 días post-floración). Los cambios que ocurren en los índices de madurez y de calidad en frutos de kiwi cv. 'Hayward' producidos en la zona de Sierra de los Padres durante la última etapa del desarrollo del fruto (desde los 134 y hasta los 176 días post-floración), se muestran en la Figura 2 (datos propios no publicados).



**Figura 2.** Evolución de los índices de madurez y de calidad en frutos de kiwi cv. 'Hayward' producidos en Sierra de los Padres, desde los 134 y hasta los 176 días post-floración (datos propios, valores promedio de 2 años).

Independientemente del destino de la fruta, el contenido de sólidos solubles totales (SST) es el índice de cosecha más utilizado en kiwi cv. 'Hayward'. Este índice se mide por refractometría (en °Brix o en porcentaje), y su valor expresa la cantidad de azúcares solubles, así como otros compuestos disueltos en agua como ácidos,

vitaminas, aminoácidos y pectinas (Harman y Watkins, 1986, citado por Burdon *et al.*, 2013). En Nueva Zelanda se ha establecido un valor de contenido de SST de 6,2°Brix como índice para iniciar la cosecha mientras que en California es de 6,5°Brix, ya que el valor puede variar con las condiciones ambientales y de manejo para un mismo cultivar (Hopkirk *et al.*, 1986; Crisosto *et al.*, 1996; Burdon y Lallu, 2011). Este es un valor mínimo, pero puede no ser el óptimo, dependiendo del tipo y duración del almacenamiento que se pretende aplicar a la fruta.

El valor mínimo de contenido de SST para la cosecha se corresponde con el punto de inflexión de la curva de acumulación, a partir del cual hay un importante aumento de la tasa hasta rápidamente alcanzar al menos un valor acumulado de 12,5°Brix, que es un mínimo para la madurez de consumo (Crisosto *et al.*, 1996). El aumento del contenido de SST posterior a la cosecha se debe a la hidrólisis enzimática del almidón acumulado en el fruto mediante la acción de  $\beta$ -amilasas (Nardoza *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2016), proceso que es inducido por etileno pero también por bajas temperaturas (Arpaia *et al.*, 1987; Boquete *et al.*, 2004; Mitalo *et al.*, 2019).

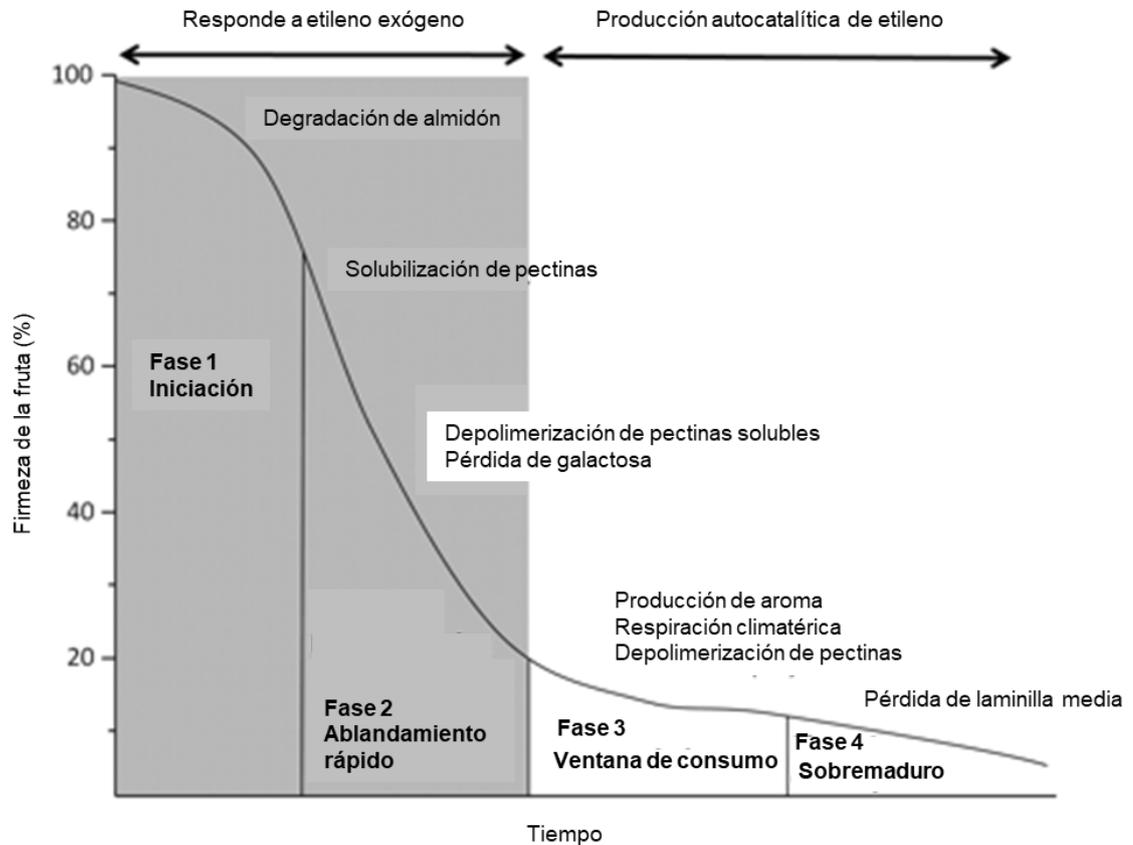
El contenido de materia seca (MS) en los frutos de kiwi al momento de la cosecha, en el que 40 a 70% puede ser almidón, se mide como porcentaje. Este valor se encuentra altamente correlacionado con el contenido de SST que alcanzarán los frutos cuando se encuentren en madurez de consumo (Burdon *et al.*, 2004). No obstante, esta relación puede variar en función a las condiciones agroclimáticas de la zona de producción (Crisosto y Crisosto, 2001).

Si bien el contenido de SST es el índice que se utiliza para decidir el momento de cosecha en el cv. 'Hayward', la firmeza también es un importante índice porque define en gran medida el grado de aceptación que tendrá el consumidor (Stec *et al.*, 1989). Generalmente, la firmeza es evaluada mediante una prueba de penetración, utilizando un émbolo de 7,9 mm de diámetro. La medición se realiza en la fruta sin su piel, registrando la fuerza máxima necesaria para que el émbolo atraviese la pulpa hasta una profundidad de 8 mm (Feng *et al.*, 2011). La firmeza a cosecha en frutos de kiwi cv. 'Hayward' puede ser de alrededor de 6 a 7 kgf (entre 60 y 70 N) y disminuye durante la maduración organoléptica hasta alcanzar valores cercanos o menores a 1 kgf (9,8 N) (Burdon y Lallu, 2011). La firmeza óptima para el consumo de este cultivar se encuentra en el rango de 0,4 a 0,8 kgf (3,9 a 7,8 N) (Stec *et al.*, 1989; Beever y Hopkirk, 1990; Bengé *et al.*, 2000), aunque otros consideran que varía entre 0,90 a 1,36 kgf (8,8 a 13,3 N) (Crisosto *et al.*, 1996).

Los ácidos orgánicos presentes en el fruto del cv. 'Hayward' son principalmente cítrico y quínico (alrededor de 1,0 a 1,1 g 100 g<sup>-1</sup> PF, respectivamente) y en menor proporción se encuentra el ácido málico (0,2 g 100 g<sup>-1</sup> PF) (Nishiyama *et al.*, 2008). El ácido quínico se percibe más ácido que el resto de los ácidos orgánicos y es el que se relaciona en mayor medida con el marcado sabor ácido característico del cv. 'Hayward' (Marsh *et al.*, 2004; Nishiyama *et al.*, 2008). La acidez se mide por titulación ácido-base y su resultado se expresa como concentración de ácido cítrico (m/V), con valores a cosecha que se encuentran entre 0,9 a 2,5% (Marsh *et al.*, 2004). En el sudeste de la provincia de Buenos Aires, la acidez titulable alcanza valores de 1,3% en el kiwi a cosecha y se mantiene aún durante el almacenamiento prolongado y vida comercial (Godoy y Dome, 2013; Yommi *et al.*, 2016).

#### 1.4.2. Ablandamiento y mecanismos involucrados.

El ablandamiento es uno de los cambios asociados a la maduración organoléptica con mayor impacto sobre la calidad de la fruta. El proceso de ablandamiento del fruto de kiwi cv. 'Hayward' ha sido descrito primeramente por MacRae y Redgwell (1992) y luego por Schröder y Atkinson (2006) y Atkinson *et al.* (2011). Estos últimos autores sostienen que en la curva de ablandamiento del kiwi es posible distinguir cuatro fases, las que se muestran en la Figura 3. En las dos primeras fases no es posible detectar etileno o la producción es menor a 0,2 µL kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, aunque el fruto es capaz de responder a la presencia de niveles muy bajos de etileno exógeno; la firmeza inicial de 90 a 80 N puede reducirse a 12 a 20 N (Hewett *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 1999; Atkinson *et al.*, 2011). En las dos últimas fases hay producción autocatalítica de etileno y el fruto presenta una firmeza adecuada para consumo (6 a 8 N), seguido del ablandamiento excesivo relacionado con la sobremadurez (Atkinson *et al.*, 2011).



**Figura 3.** Curva de ablandamiento teórica, en la que se representan las cuatro fases de ablandamiento. Adaptado de Atkinson *et al.* (2011); reproducido con permiso de Oxford University Press.

La curva de ablandamiento presenta una primera fase que se inicia por la acción de amilasas responsables de la hidrólisis de almidón (Bonghi *et al.*, 1996), una segunda fase con una rápida pérdida de firmeza, con solubilización de pectinas, depolimerización de pectinas solubles y pérdida de galactosa. En la tercera fase, coincidente con la madurez de consumo, se depolimerizan las pectinas, se hace máximo el hinchamiento de la pared celular y comienza la producción interna de etileno. En la cuarta fase, hay pérdida de la laminilla media y pérdida de la calidad de consumo, y el fruto alcanza el estado de sobremadurez (Schröder y Atkinson, 2006). La tasa con la cual ocurren estos procesos varía con el componente genético y además, con la temperatura de almacenamiento, con la presencia de etileno exógeno, y con la madurez inicial de los frutos (Burdon *et al.*, 2013, 2017, 2018). La pérdida de firmeza es el resultado de los cambios que ocurren a nivel de la pared celular durante la maduración organoléptica. Principalmente, hay solubilización y posteriormente degradación de pectinas, reducción del peso molecular de

xiloglucanos, disolución de la laminilla media, y finalmente, pérdida de la integridad de la pared celular (Schröder y Atkinson, 2006). Estos procesos son regulados por la actividad de varias enzimas como la  $\beta$ -galactosidasa (Ross *et al.*, 1993), la xiloglucano endotransglicosidasa (XET1) (Schröder *et al.*, 1998), la poligalacturonasa (PG) (Wang *et al.*, 2000), la expansina (EXP1) y la pectinmetilesterasa (PME) (Atkinson *et al.*, 2011; McAtee *et al.*, 2015), cada una con un rol específico en cada etapa del ablandamiento.

Entre los micronutrientes que componen el fruto, el calcio es el que tiene un rol importante en su comportamiento en poscosecha: contribuye con la integridad celular, al entrelazar las pectinas de-esterificadas de la laminilla media e interactuar con los fosfolípidos, manteniendo la rigidez de la membrana (Thor, 2019). También retrasa el ablandamiento al inhibir la PG (Cicco *et al.*, 2007) y aumenta la resistencia a enfermedades (Manganaris *et al.*, 2005), ya que actúa como mensajero señal durante la degradación celular causada por patógenos (Thor, 2019).

### **1.5. Enfermedades que afectan los frutos de kiwi y la importancia de *Botrytis cinerea* como agente causal de pérdidas.**

El almacenamiento en frío es necesario para extender la vida del fruto y el período de comercialización, e incluso para permitir el envío por ultramar al hemisferio norte. Durante el almacenamiento refrigerado se producen pérdidas causadas en primer lugar por ablandamiento excesivo, seguido de las pudriciones. Los frutos son susceptibles al desarrollo de enfermedades cuando alcanzan un determinado grado de madurez, que ha sido relacionado por Sommer *et al.* (1983) con una firmeza de 1,5 lb (equivalente a 6,7 N). Ciertas enfermedades ocurren durante el almacenamiento en frío y otras prosperan cuando se corta la cadena de frío, mientras los frutos se comercializan a temperatura ambiente en los canales mayorista y minorista.

Los primeros trabajos de identificación de patógenos causantes de enfermedades en frutos de kiwi son de California y Nueva Zelanda. En el primer caso, se menciona a *Botrytis* spp. y *Alternaria* spp. como los hongos causantes de podredumbres más importantes en kiwi almacenado y a otros de menor incidencia, como *Diaporthe* sp. y *Penicillium* spp. (Sommer *et al.*, 1983). Además de *Botrytis*, otros patógenos han sido identificados como agentes causales de enfermedades en los frutos de kiwi hacia el final del periodo de almacenamiento, entre ellos, *Fusarium acuminatum*, *Cryptosporiopsis* spp. y *Phomopsis* spp. (Pennycook, 1985).

En frutos de kiwi almacenados a 1°C y transferidos a temperatura ambiente por 20 días, *Botryosphaeria dothidea* y *Diaporthe actinidiae* fueron los patógenos prevalentes, con una importante variación en la incidencia entre plantaciones de diferentes localidades y provincias de Korea (Koh *et al.*, 2005). Pennycook (1985) aseguró que la incidencia que tendrá un lote es muy variable de año en año e incluso puede variar entre los diferentes días de cosecha. En frutos de kiwi, *Botryosphaeria* y *Diaporthe* se asocian con pudriciones a temperatura ambiente, ya que no se desarrollan *in-vitro* con temperaturas por debajo de 11°C (Koh *et al.*, 2003).

La podredumbre gris o podredumbre apical del fruto causada por *Botrytis cinerea* es una de las enfermedades más importantes que afectan los frutos de kiwi durante el almacenamiento refrigerado (Wurms *et al.*, 1999). Con condiciones que han favorecido el desarrollo de *Botrytis*, la incidencia de podredumbres ha alcanzado más del 32% en Nueva Zelanda y más del 50% en Italia (Pennycook, 1985); otros reportes sostienen que la pérdida por podredumbres causada por este patógeno puede superar el 15% en Chile (Farías, 2009) o el 20% en Italia (Bisiach *et al.*, 1984). Aunque otras enfermedades afectan los frutos a temperatura ambiente, *Botrytis* es el patógeno prevalente en frutos de kiwi almacenados en frío, tal como se ha reportado en diferentes países productores (Sommer *et al.*, 1983; Pennycook 1985; Manning y Lallu, 1997; Michailides y Elmer, 2000; Brigati *et al.*, 2003).

#### 1.5.1. Botrytis spp: características del hongo, síntomas, signos y ciclo de la enfermedad.

*Botrytis* spp. es un hongo polífago, omnipresente, que ataca diferentes órganos de las plantas, durante el cultivo y después de la cosecha, produciendo pérdidas muy importantes en todo el mundo (Droby y Lichter, 2007; Romanazzi y Feliziani, 2014). La enfermedad poscosecha más frecuentemente desarrollada por *Botrytis* spp en los frutos de kiwi almacenados en frío es conocida como podredumbre gris o podredumbre peduncular, afectando particularmente al cv. 'Hayward' (Wurms, 2005). En Chile se han identificado dos especies causando esta enfermedad en kiwi: *Botrytis cinerea* Pers. y *Botrytis prunorum* EE Ferrada y Latorre, aunque *B. cinerea* es la más frecuentemente aislada de frutos almacenados (Elfar *et al.*, 2017; Riquelme-Toledo *et al.*, 2020).

*B. cinerea* (estado asexual de la teleomorfa *Botryotinia fuckeliana*) es un ascomicete reconocido como patógeno de heridas, asociado también a tejidos senescentes. El hongo ingresa por aberturas naturales (estomas, lenticelas) o heridas.

Sin embargo, ciertos mecanismos como la síntesis de enzimas pectinolíticas, de toxinas y compuestos que inducen la muerte celular programada le permiten a *B. cinerea* infectar los tejidos vegetales (Williamson *et al.*, 2007; González-Fernández *et al.*, 2015).

*B. cinerea* sobrevive el invierno como micelio o pequeños esclerocios en restos de poda y hojas senescentes que se encuentran en el suelo. Durante la floración, las esporas del hongo infectan los sépalos de las flores y otros órganos florales. La ocurrencia de lluvias, especialmente hacia el final de la floración, aumenta la infección (Romanazzi y Feliziani, 2014).

Las infecciones son del tipo quiescente, es decir que el patógeno ingresa al tejido del hospedante, sin producir síntomas observables (Michailides *et al.*, 2009). La enfermedad no progresa hasta que se producen condiciones predisponentes, asociadas con una mayor susceptibilidad del hospedante y un ambiente favorable (alta humedad relativa y baja temperatura). El patógeno debe superar barreras físicas y químicas para desarrollar la enfermedad. En el kiwi, la piel del fruto constituye una barrera al ingreso de los patógenos debido a su alto contenido de polifenoles (Jiao *et al.*, 2018).

En el fruto de kiwi, *B. cinerea* ingresa mayormente por la herida de cosecha que se produce en la zona de unión entre el pedúnculo y el fruto (Wurms *et al.*, 1999; Kim y Koh, 2018). Si bien la floración y la cosecha son los dos momentos con mayor probabilidad de infección, durante el crecimiento del fruto también puede haber infecciones ante condiciones de alta humedad y temperatura predisponentes (de 15 a 25°C), ya que el patógeno se encuentra presente en los sépalos, receptáculo y estilos del fruto (Michailides y Elmer 2000; Riquelme-Toledo *et al.*, 2020). Una lluvia que se prolongue por 48 a 72 h o alta humedad relativa durante varios días predispone a la infección de los tejidos del fruto (Sommer *et al.*, 1983).

Debido a su capacidad de crecer a 0°C, *B. cinerea* es el principal patógeno causal de pudriciones en frutos de kiwi durante el almacenamiento en frío. Desarrolla una pudrición húmeda que es detectada a partir de las 4 semanas de almacenamiento refrigerado, raramente antes (Pennycook, 1985; Brook, 1992; Sharrock y Hallett 1992; Kim y Koh, 2018). La pudrición se desarrolla alrededor de la cicatriz peduncular, pudiéndose observar un color más oscuro de la piel y un ablandamiento excesivo de la zona afectada (Pennycook, 1985; Michailides y Elmer, 2000). Cuando la enfermedad progresa, el signo del hongo se hace visible alrededor de la herida de cosecha y posteriormente, el micelio crece alcanzando frutos vecinos, los cuales son infectados e

invadidos, formando un foco de frutos podridos o “nido” en el envase (Michailides y Elmer, 2000).

#### 1.5.2. Estrategias de control de la podredumbre gris.

En los últimos años, el control químico del patógeno mediante la aplicación de fungicidas de síntesis está siendo complementado o reemplazado por otras estrategias debido a que, en general, las aplicaciones de fungicidas en precosecha tienen baja efectividad y las de poscosecha están prohibidas en muchos mercados (Pennycook, 1985; Pyke *et al.*, 1994; Michailides y Elmer, 2000). El control químico con fungicidas de síntesis ha provocado la aparición de resistencias (Leroux, 2007) y por esa razón el uso de fungicidas es cada vez más limitado en los países desarrollados, restringiendo la posibilidad de uso en la fruta de exportación. En ese sentido, Nueva Zelanda, segundo exportador mundial de kiwi, no aplica fungicidas de poscosecha (Burdon y Lallu, 2011).

Argentina en particular sólo cuenta con autorización de uso de fungicidas con cobre en el cultivo de kiwi. Esa limitación obliga a la búsqueda de alternativas de control asociadas a un aumento de la tolerancia del fruto, constitutiva o inducida, mediante la aplicación de diferentes estrategias y barreras para el desarrollo de las enfermedades, que a su vez, resultan más amigables con el ambiente y con las exigencias del consumidor.

Una de las estrategias es el curado, proceso que reduce la incidencia de podredumbre gris por aumento de la tolerancia a la enfermedad (Pennycook y Manning, 1992; Poole y McLeod, 1994; Bautista-Baños *et al.*, 1997; Wurms *et al.*, 1999; Wurms, 2005). El curado se realiza inmediatamente después de la cosecha y consiste en disponer los frutos en *bins* apilados en una estructura techada y sin paredes, preferentemente con piso de cemento, para exponerlos a la circulación de aire. El proceso tiene una duración de 48 a 72 h y tiene como objetivo lograr la cicatrización de la herida peduncular producida al separar el fruto de la planta durante la cosecha (Burdon y Lallu, 2011).

Bautista-Baños *et al.* (1997) demostraron que las condiciones de temperatura más efectivas para el curado fueron de 10 a 20°C y la humedad relativa mayor al 92%. En Nueva Zelanda y Estados Unidos se presentan generalmente condiciones que contribuyen con un buen curado y con ello, a un buen control de las pudriciones. En Italia, la fruta también es curada antes del almacenamiento en frío (Testolin y Ferguson, 2009). Por el contrario, en Chile el control de la podredumbre gris se basa

en la aplicación de fungicidas en floración y en algunos casos, también en poscosecha debido a que las condiciones ambientales no aseguran un buen curado (Riquelme-Toledo, 2020). Las condiciones de temperatura y humedad inadecuadas durante la cosecha pueden ocasionar que en algunas zonas de producción el curado pueda resultar inefectivo debiendo recurrir a otras estrategias para controlar el desarrollo de la podredumbre gris (Romanazzi y Feliziani, 2014).

### 1.6. ¿Qué son y cómo actúan los fosfitos?.

Los fosfitos (Phi) son sales inorgánicas derivadas del ácido fosforoso o fosfónico ( $\text{H}_3\text{PO}_3$ ), denominados más recientemente fosfonatos (Figura 4). El fungicida Fosetil-Al fue uno de los primeros fosfitos comerciales en Estados Unidos y cuando su patente expiró, abrió el paso para la formulación de Phi en el que los aniones  $\text{H}_2\text{PO}_3^-$  o  $\text{HPO}_3^{2-}$  se combinan con cationes como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ , entre otros (Gómez-Merino y Trejo-Tellez, 2016). Diferentes formulaciones y productos se encuentran disponibles para su uso en cultivos, conteniendo sólo sales de Phi o alguna molécula fungicida o bactericida que se agrega a su composición. Según la formulación y el país o el mercado, pueden estar inscriptos como fertilizantes, fungicidas o bioestimulantes (Gómez-Merino y Trejo-Tellez, 2016).



**Figura 4.** Estructura de la molécula del fosfonato hidrógeno de potasio (izq.) y del fosfonato de dipotasio (der.) (EFSA, 2012a)

En un principio la mayoría de los Phi fueron registrados por las empresas como fertilizante, dado que no requiere pruebas toxicológicas como las que se solicita para el registro de un pesticida. En el año 2013, hubo un hecho muy trascendente cuando la Unión Europea decidió que todo producto conteniendo Phi debe ser considerado pesticida, a lo que se sumó un cambio en el límite máximo de residuo (LMR) en varias frutas y hortalizas (Trejo-Téllez y Gómez-Merino, 2018). Según la norma europea vigente, los residuos de Phi son expresados como Fosetil pero medido como la suma de Fosetil, ácido fosfónico y sus sales. Esto es porque tanto el Fosetil-Al como los Phi en cualquiera de sus sales, se degradan en el tejido vegetal y el residuo queda

mayormente como ácido fosfónico, que es el metabolito toxicológicamente más relevante (European Food Safety Authority [EFSA], 2014). Es decir que, si se aplican Phi en cultivos para exportación a la Unión Europea, aun cuando en el país de origen sean considerados fertilizantes, podrían quedar residuos en los órganos cosechables que atentarían contra su comercialización. En el 2016, el LMR expresado como Fosetil se redujo de 75 a 2 mg kg<sup>-1</sup> en numerosas frutas y hortalizas (Trejo-Téllez y Gómez-Merino, 2018), lo cual provocó una disminución del uso de sales de Phi en los productores europeos y también afectó su aplicación en cultivos destinados al mercado europeo, para evitar exceder los LMR.

No obstante, el LMR fijado por la Unión Europea para Fosetil, ácido fosfónico y sus sales en frutos de kiwi se mantiene en 150 mg kg<sup>-1</sup>, aún en el último Reglamento vigente N° 552/2019, que modifica los anexos II y III del Reglamento N° 396/2005 que fija los LMRs (Unión Europea, 2019). Según ensayos realizados en plantaciones de kiwi en el sur de Europa durante tres años, se demuestra que los residuos de la suma de Fosetil y de ácido fosfónico en la fruta pueden alcanzar un máximo de 60 mg kg<sup>-1</sup> (EFSA, 2012b), lo que resulta muy inferior al LMR máximo fijado en 150 mg kg<sup>-1</sup>. Ello indica que el uso de Phi en cualquiera de sus formulaciones podría seguir siendo posible para la producción convencional de kiwi, aunque no para la de tipo orgánico, porque no se encuentra entre los productos autorizados en Europa en el Reglamento N° 889/2008 (Unión Europea, 2008) y sus rectificatorias, o en Argentina (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria [SENASA], 2021), para este tipo de producción.

Actualmente, las sales mono y di-ácidas de fosfito también son consideradas por la Agencia Norteamericana de Protección Ambiental de Estados Unidos como fungicidas, contando actualmente con alrededor de 100 productos registrados que contienen Phi (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, S.F.). A diferencia de ello, en Argentina los Phi son considerados fertilizantes; según información oficial, al menos 18 productos comerciales conteniendo sales de Phi cuentan con el registro de SENASA (SENASA, 2020).

Los Phi son compuestos de bajo impacto ambiental y pueden ser considerados como parte de un esquema productivo respetable con el ambiente (Cicore *et al.*, 2012; Olivieri *et al.*, 2012). Si bien el Phi puede dejar residuo en el suelo como ácido fosfónico, y su persistencia es considerada de media a alta, el riesgo de impacto sobre los microorganismos del suelo es bajo (EFSA, 2012a). Según esta última cita, también

es bajo el riesgo para los organismos acuáticos, para las abejas y otros insectos polinizadores y también presenta baja toxicidad por inhalación.

En nuestro país, los Phi son usualmente aplicados al cultivo de papa, tomate, vid, hortalizas y césped, existiendo aún muchos otros en los que se podría considerar su uso para reducir el volumen de pesticidas utilizados y evitar resistencias, con posibilidades de un buen control de las enfermedades que en general afectan el desarrollo de los cultivos (Carmona y Sautua, 2015).

El Phi cuenta con un átomo menos de oxígeno que el fosfato (Pi) y esa característica le otorga mayor movilidad en la planta, tanto a través del xilema como del floema. Además, al ser más soluble que el Pi, el Phi se absorbe más rápidamente y se transloca a diferentes tejidos de la planta, tanto cuando es asperjado a las hojas o tronco, como cuando es aplicado mediante el riego a las raíces (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2016).

#### 1.6.1. Los fosfitos y su efecto bioestimulante en especies frutihortícolas.

Como se mencionó anteriormente, los fosfitos son sales metálicas derivadas del ácido fosforoso, no tóxicos para el ambiente ni la salud humana, económicamente viables y con un amplio espectro de acción.

En los últimos años se le ha prestado especial atención a la función bioestimulante que tienen los Phi en la agricultura (Trejo-Téllez y Gómez-Merino, 2018). Además, actualmente hay un mayor interés por los bioestimulantes, debido a una mayor conciencia de los consumidores y un reclamo creciente por alimentos inocuos, que conllevan a la necesidad de contar con estrategias que permitan reducir el uso de pesticidas y hacer un manejo más racional y más amigable con la salud humana y el ambiente. A fines del 2018, el Congreso de Estados Unidos firmó la primera ley (N° 115-334) que define el concepto de bioestimulante de las plantas, como "*una sustancia o microorganismo, que, cuando es aplicado a las semillas, plantas o rizósfera, estimula los procesos naturales y mejora el suministro de nutrientes, la eficiencia de los nutrientes, la tolerancia a estreses abióticos, o la calidad y rendimiento*" (US Congress, 2018). Esta definición es muy similar a la que se encuentra en discusión en Europa y es un gran paso para el crecimiento de este segmento en la industria de productos destinados a la agricultura.

Entre las sustancias bioestimulantes se encuentran los ácidos fúlvicos y húmicos, compuestos que contienen nitrógeno y proteínas hidrolizadas, extractos de algas y de hierbas, quitosano y otros polímeros, compuestos inorgánicos, hongos y bacterias

benéficos. Los fosfitos o fosfonatos se encuentran en la categoría de compuestos inorgánicos, con actividad bioestimulante, aunque su modo de acción no se encuentra aun totalmente dilucidado (du Jardin, 2015).

Los casos de aplicación de bioestimulantes reportados en la bibliografía internacional son menos frecuentes en especies frutales respecto de las hortícolas, porque son estudios más complejos y además requieren un período más prolongado de experimentación para arribar a conclusiones, ya que las respuestas pueden variar debido a las reservas de nutrientes almacenadas en las raíces y a las condiciones ambientales particulares de cada temporada (Tanou *et al.*, 2017; Soppelsa *et al.*, 2018; Basile *et al.*, 2020). Las respuestas a la aplicación de diferentes bioestimulantes en frutales ha sido listada por Tanou *et al.* (2017), seguido por otros trabajos más recientes (Frioni *et al.*, 2018; Soppelsa *et al.*, 2018; Gutiérrez-Gamboa *et al.*, 2019, 2020; Bavaresco *et al.*, 2020; Rodrigues *et al.*, 2020).

En relación al Phi y su efecto bioestimulante, Trejo-Téllez y Gómez-Merino (2018) citan un primer trabajo de Rickard (2000) en el que lista una serie de antecedentes que demuestran que aplicados al cultivo de papa, pimiento, cebolla, y apio, produjeron un aumento de la producción y del rendimiento comercial. Las investigaciones realizadas después del año 2000, citadas en dicha revisión, avalan la existencia del efecto bioestimulante principalmente en papa, frutilla y lechuga, además del efecto protector y de defensa que será ampliado en el Capítulo 2.

Los antecedentes del uso de Phi en frutales como bioestimulante, en cambio, son muy escasos. En cítricos, se ha demostrado que el asperjado con fosfito de potasio (KPhi) durante el cuajado de los frutos aumenta el porcentaje de cuaje y el tamaño final de los frutos, con incremento del rendimiento (Lovatt, 1999; Albrigo, 1999) y en paltos (*Persea americana* cv. 'Hass'), también promueve el aumento del tamaño de los frutos (Lovatt, 2013). El asperjado de plantas de manzano (*Malus domestica*) con fosfito de calcio (CaPhi) antes de la cosecha mejoró el color rojo de la fruta de los cultivares 'Starking Delicious' (Larrigaudiere *et al.*, 1996) y 'Braeburn' (Bizjak *et al.*, 2013), con aumento en el contenido de antocianinas y también de flavonoles, mientras que el asperjado de plantas de duraznero (*Prunus persica* cv. 'Andross') con Phi mejoró la firmeza de los frutos (Sotiropoulos *et al.*, 2010). No hay antecedentes en la bibliografía sobre los efectos de los Phi como bioestimulante en kiwi, aunque se ha reportado el uso del hidrolisato de proteínas, que estimuló el crecimiento de brotes y raíces (Quartieri *et al.*, 2002) y de extractos de algas marinas, que promovieron el aumento del peso y del largo de la fruta y un adelantamiento de la maduración

(Chouliaras *et al.*, 1997). La poca información disponible probablemente se deba a que los beneficios de uso de los bioestimulantes se han reconocido en los últimos diez años, en gran parte alentado por la búsqueda de alternativas a los pesticidas de síntesis (Polo y Mata, 2018).

#### 1.6.2. Los fosfitos como estrategia para inducir resistencia en las plantas.

Los fosfitos pueden actuar como fungicida, fertilizante o bioestimulante, según la especie y condiciones en que se utilicen (Thao y Yamakawa, 2009; Deliopoulos *et al.*, 2010). El Phi se transloca rápidamente desde las hojas a las raíces y se acumula principalmente en las vacuolas (Dalio *et al.*, 2014). Tiene un modo de acción diferente según la dosis aplicada. En base a estudios proteómicos, se demostró que una baja dosis de Phi activa la respuesta hipersensible preparando a la planta para el estrés (Huang *et al.*, 2018). Con dosis altas (por ej. 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), el Phi mostró una acción directa sobre patógenos del género *Phytophthora* spp., inhibiendo su crecimiento (Borza *et al.*, 2014; Dalio *et al.*, 2014).

El asperjado de KPhi en combinación con dosis reducidas de fungicidas de síntesis también han mostrado ser efectivos en el control de *Phytophthora* en papa (Liljeroth *et al.*, 2016). En el cultivo de papa y específicamente, en el patosistema *Solanum tuberosum-Phytophthora infestans*, el Phi actúa como un inductor de resistencia, mediante mecanismos que han sido analizados en un estudio transcriptómico por Guzzo (2016) y Feldman *et al.* (2020).

La respuesta a la aplicación de Phi en el control de enfermedades en frutales ha sido escasamente estudiada. En cítricos se ha reportado que se ha logrado controlar el desarrollo de mohos cuando el Phi es aplicado en poscosecha, aumentando también la efectividad de control de fungicidas de síntesis (Smilanick, 2011). En la región del Valle de Río Negro, el fosfito de potasio se aplica habitualmente durante el crecimiento de las plantas de manzano, en septiembre, enero, y abril, como fertilizante y bioestimulante (Lutz *et al.*, 2017). En su trabajo, estos autores encontraron que el asperjado con KPhi de las plantas del cultivar 'Crisp Pink', 72 h antes de la cosecha, redujo la incidencia de *B. cinerea* y *Penicillium* spp. en frutos almacenados en frío por 150 días. No se han encontrado otros antecedentes del efecto del Phi sobre el desarrollo de enfermedades en otros frutales.

### **1.7. El rol del etileno en el proceso de ablandamiento y en el desarrollo de las podredumbres.**

El etileno juega un rol importante en el control de la maduración organoléptica en frutos climatéricos y no climatéricos (Tucker *et al.*, 2017). Es una hormona gaseosa que, por sus características físico-químicas, atraviesa la membrana plasmática y el citoplasma sin necesidad de un sistema activo de transporte, pero requiere unirse a un receptor para desencadenar la respuesta. En el fruto de kiwi se han identificado hasta nueve receptores que participan en la detección del etileno (McAtee *et al.*, 2015). Posteriormente a la unión etileno-receptor, se inicia una cadena de transducción de señales, mediados por las proteínas CTR1 y EIN2 y la activación de factores de transcripción (EIN y EIL1) que intervienen en la transcripción de cientos de genes (Taiz y Zieger, 2002).

En cuanto al etileno y su relación con el desarrollo de enfermedades, su rol es dual debido a que puede actuar como molécula señal durante la resistencia del hospedante o también como factor de virulencia, aumentando la susceptibilidad de la planta y la expresión de los síntomas de la enfermedad (Mishra *et al.*, 2012). La función del etileno en el mecanismo de defensa de las plantas varía con el patosistema (Van Loon *et al.*, 2006). Estos autores mencionan que en algunos patosistemas el etileno promueve la abscisión y reduce la invasión de los tejidos, mientras que en otros, aumenta la expresión de los síntomas de la enfermedad. El etileno puede ser inducido por diferentes tipos de estrés y también por elicitores. Altas concentraciones de etileno pueden inhibir la síntesis de metabolitos secundarios, mientras que a bajas concentraciones la promueve (Zhao *et al.*, 2004).

### **1.8. El reforzamiento de la pared celular y la importancia de los fenoles en la defensa.**

Las plantas tienen barreras físicas y químicas que impiden la infección, algunas son constitutivas o preformadas y otras inducibles (Guzzo, 2016). En los frutos, la epidermis está recubierta superficialmente por una capa hidrofóbica llamada cutícula, compuesta por cutina y ceras. La cutícula protege de la deshidratación y constituye una barrera para la infección de los patógenos (Trivedi *et al.*, 2019). Estos autores mencionan que además de la protección física, la composición química de la cutícula puede tener un rol muy importante por su efecto antimicrobiano, asociado a la presencia de ciertos triterpenoides, n-alcanos y ácidos grasos con actividad antifúngica.

Se ha demostrado que el asperjado de las plantas o de los tubérculos de papa con KPhi produce cambios físicos y bioquímicos en la peridermis del tubérculo (Olivieri *et al.*, 2012), con aumento en el espesor y reforzamiento de las células (Lobato *et al.*, 2018). Estos últimos autores encontraron que el KPhi indujo un aumento de la deposición de pectinas en la pared y mayor actividad de enzimas peroxidasas y lacasas relacionadas con la síntesis de suberina y lignina.

En plantas de papa tratadas con KPhi, Guzzo (2016) también identificó la activación de genes que participan en la síntesis de la pared celular durante el *priming*, relacionando el reforzamiento como parte de la respuesta de defensa.

Los metabolitos secundarios (compuestos fenólicos, terpenos, metabolitos secundarios conteniendo sulfuro o nitrógeno) tienen un importante rol en la defensa de las plantas (Zaynab *et al.*, 2018). Entre ellos, los compuestos fenólicos (fenilpropanoides y flavonoides), mediante diferentes mecanismos de acción, pueden interferir las señales del patógeno durante la infección, su actividad enzimática e incluso alterar su reproducción (Ramírez-Gómez *et al.*, 2019). La síntesis de fenoles es inducida como parte de la respuesta de defensa que ocurre luego de que receptores de membrana conservados, patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), reconocen la presencia de un potencial microorganismo patógeno (Bhattacharya *et al.*, 2010).

Algunos ácidos fenólicos y polifenoles pueden tener un rol como molécula señal, como el ácido salicílico (SA), o pueden regular la división celular o el transporte de auxinas entre otros procesos, durante el desarrollo y también en respuesta de defensa (Dixon *et al.*, 2002). Otros compuestos fenólicos, como la lignina, intervienen en el reforzamiento de la pared celular impidiendo la infección del patógeno y su síntesis *de-novo* es inducida en respuesta al ataque del microorganismo. La lignina también se acumula en la pared celular en respuesta a estreses abióticos (Liu *et al.*, 2018).

Los flavonoides lipofílicos, como la catequina y sus derivados, pueden reducir el desarrollo de microorganismos mediante la disrupción de la estructura celular, de la membrana del patógeno y de su metabolismo (Tiku, 2018). Algunas especies vegetales producen isoflavonoides, a partir del compuesto naringenina, muchos de ellos en respuesta de defensa, con acción antibiótica y antifúngica y patógena-específica (fitoalexinas) (Tiku, 2018, 2020). Los taninos también tienen un rol en la defensa de las plantas ya que algunos compuestos como el ácido protocatecuico y el clorogénico tienen la capacidad de unirse a proteínas y controlar el crecimiento fúngico (Tiku, 2018, 2020).

### 1.9. El fruto de kiwi como fuente de compuestos nutricionales.

La ingesta de antioxidantes, esencialmente polifenoles, aumenta la capacidad antioxidante de la sangre, previene la peroxidación de los lípidos y reduce la ocurrencia de enfermedades metabólicas y cardiovasculares (Amiot *et al.*, 2016; Giglio *et al.*, 2018).

El kiwi es un fruto reconocido por su alto contenido de vitamina C, siendo esta característica una de las estrategias utilizadas comercialmente para difundir su consumo en todo el mundo (Ferguson y Ferguson, 2003). Otras vitaminas (A, E y K), carotenoides (luteína y  $\beta$ -caroteno), folato y compuestos fenólicos son compuestos funcionales que también se encuentran en el kiwi.

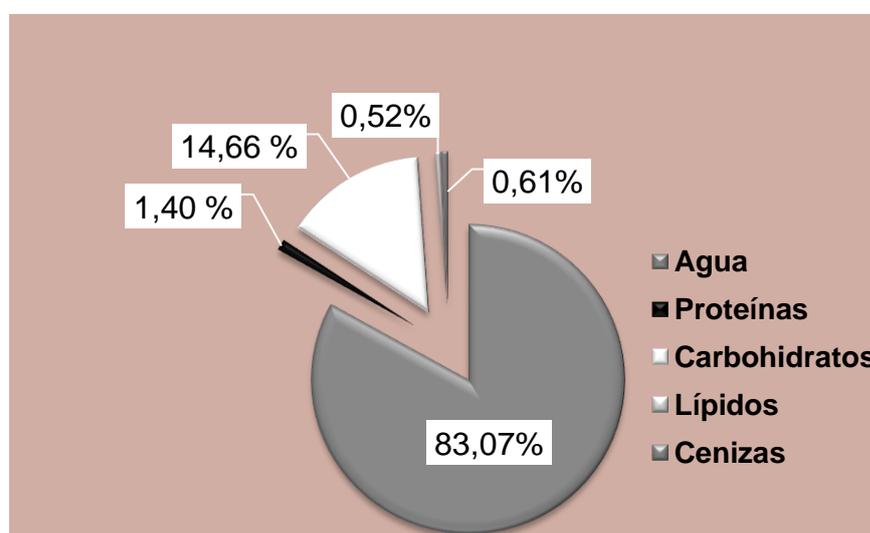
Nuevos cultivares patentados, incluso de otras especies del género *Actinidia*, están en manos de consorcios de producción en varios países a fin de diversificar el mercado. Actualmente, diferentes variedades de pulpa amarilla o rojiza (*A. chinensis* var. *chinensis*) y baby kiwi (*A. arguta*) se encuentran en producción incluso en Argentina. Estos nuevos genotipos tienen en muchos casos mayor potencial productivo y características particulares. Los cultivares de pulpa amarilla producen frutos con mayor dulzor y contenido de vitamina C que los de pulpa verde. En relación a la capacidad antioxidante, existen marcadas diferencias entre frutos de diferentes especies de kiwi, resultando máxima en *Actinidia kolomikta* respecto a *A. purpurea*, *A. melanandra*, *A. macrosperma* y en comparación con todas ellas, *A. chinensis* var. *deliciosa*, a la cual pertenece el cv. 'Hayward', resulta la de menor valor, según la técnica basada en la captación del radical libre 2,2 difenil-1-picrihidrazilo (DPPH) (Latocha *et al.*, 2010).

Varios compuestos con actividad antioxidante son metabolitos secundarios, que tienen funciones de protección de las plantas ante agentes bióticos y abióticos. Muchos de ellos son utilizados en la industria farmacéutica y alimentaria o integran formulaciones de agroquímicos (Oksman-Caldentey e Inzé, 2004; Singh y Dwivedi, 2018)

Se han identificado y cuantificado 42 compuestos derivados del metabolismo secundario en el fruto de kiwi, listados en su trabajo por McGhie (2013). Nuevos estudios metabolómicos y el uso de técnicas altamente precisas disponibles en la actualidad permitirán continuar con la identificación de numerosos compuestos de interés presentes en el fruto de kiwi, así como dilucidar su función.

### 1.9.1. Composición y contenido de compuestos antioxidantes en el fruto de kiwi.

El fruto de kiwi se compone principalmente por agua (83,07%), con una fracción del 16,93% restante que corresponde a la materia seca. La mayor parte de la materia seca (86,6%) está compuesta por los carbohidratos solubles e insolubles. En la Figura 5 se muestra la composición porcentual de cada componente de la materia seca (proteínas, carbohidratos, lípidos y cenizas), así como la fracción correspondiente a agua, para un fruto de kiwi verde, entero, sin su piel (United States Department of Agriculture [USDA], 2016).



**Figura 5.** Composición del fruto de kiwi en porcentaje (Elaboración propia con datos de USDA, 2016).

El fruto de kiwi es reconocido por su alto contenido de antioxidantes. En un estudio en el que se comparó la capacidad antioxidante de 62 frutas, el kiwi ocupó el lugar 14 y 21 según la técnica FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power Assay*) y TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*, basada en la captación del radical catión del ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico, ABTS•+), respectivamente, cuando se ordenaron los resultados en forma decreciente (Fu *et al.*, 2011). Según datos de ese mismo trabajo, el kiwi tiene mayor capacidad antioxidante (por gramo) que algunos cítricos, incluyendo el limón. Cuando analizaron el contenido de polifenoles, el fruto de kiwi se posicionó entre los primeros 11 frutos con mayor valor, por encima de la mayoría de los de clima templado y subtropical de mayor consumo como manzana, pera, ciruela, banana, mandarina, naranja y durazno (Fu *et al.*, 2011). Anteriormente, Guo *et al.* (2003) determinaron la capacidad antioxidante (medida por la técnica FRAP) en 28 frutos diferentes, y el kiwi ocupó el cuarto lugar entre los frutos con mayor valor.

En la Tabla 1 se muestran valores de referencia de capacidad antioxidante total del cv. 'Hayward', medido por diferentes autores, siguiendo varias técnicas: DPPH, ABTS, CUPRAC y FRAP.

**Tabla 1.** Valores de referencia de capacidad antioxidante total en fruto de kiwi cv. 'Hayward' medido por diferentes técnicas y condiciones de ensayo.

<b>Técnica</b>	<b>Capacidad antioxidante total (<math>\mu\text{mol Trolox g}^{-1}</math> PF)</b>	<b>Referencia</b>
<b>DPPH</b>	1,10* (6,9 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>1</sup>	Park <i>et al.</i> (2014)
	2,36* (15,7 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>2</sup>	Li <i>et al.</i> (2018) <sup>3</sup>
	2,07* (13,8 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>2</sup>	Jiao <i>et al.</i> (2018) <sup>4</sup>
<b>ABTS</b>	2,91* (18,2 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>1</sup>	Park <i>et al.</i> (2014)
	2,27* (14,2 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>2</sup>	Hamid <i>et al.</i> (2017)
	4,93* (32,9 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>2</sup>	Li <i>et al.</i> (2018) <sup>3</sup>
	2,72* (18,1 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>2</sup>	Jiao <i>et al.</i> (2018) <sup>4</sup>
<b>CUPRAC</b>	3,23* (20,2 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>1</sup>	Park <i>et al.</i> (2014)
	3,92* (24,5 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>2</sup>	Hamid <i>et al.</i> (2017)
<b>FRAP</b>	0,98* (6,1 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>1</sup>	Park <i>et al.</i> (2014)
	1,63* (10,2 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>2</sup>	Hamid <i>et al.</i> (2017)
	3,96* (26,4 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>2</sup>	Li <i>et al.</i> (2018) <sup>3</sup>
	3,71* (24,7 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ PS) <sup>2</sup>	Jiao <i>et al.</i> (2018) <sup>4</sup>

\* Estimación considerando un contenido de materia seca de 16%.

<sup>1</sup> Medido en extracto etanólico en frutos de kiwi cv. 'Hayward'.

<sup>2</sup> Medido en extracto metanólico en frutos de kiwi cv. 'Hayward'.

<sup>3</sup> Resultados de extracción de fruto entero.

<sup>4</sup> Resultados de extracción de fruto sin piel.

Los compuestos que en alguna medida contribuyen con la capacidad antioxidante en kiwi son los fenoles, la vitamina C, los carotenoides y la clorofila. En la Tabla 2 se muestra el contenido de referencia para cada fracción.

**Tabla 2.** Contenido de compuestos que contribuyen con la capacidad antioxidante en el fruto de kiwi cv. 'Hayward'.

	<b>Contenido (mg 100 g<sup>-1</sup> PF)</b>	<b>Referencia</b>
<b>Vitamina C</b>	107,0	Castaldo <i>et al.</i> (1992)
	65,5	Nishiyama <i>et al.</i> (2004)
	78,2	Taylor <i>et al.</i> (2004) <sup>1</sup>
	116,6	Latocha <i>et al.</i> (2010)
	92,7	USDA (2016)
	59,3	Li <i>et al.</i> (2018)
<b>Fenoles totales</b>	73,5	Taylor <i>et al.</i> (2004) <sup>1</sup>
	76,5	Latocha <i>et al.</i> (2010)
	87,5	Fu <i>et al.</i> (2011)
	153,6*	Park <i>et al.</i> (2011) <sup>2</sup>
	28,1	Brat <i>et al.</i> (2006)
	60,0*	Li <i>et al.</i> (2018)
	64,0*	Jiao <i>et al.</i> (2018) <sup>4</sup>
<b>Flavonoides totales</b>	0,4	Latocha <i>et al.</i> (2004) <sup>3</sup>
	6,7	Du <i>et al.</i> (2009) <sup>5</sup>
<b>Carotenoides totales</b>	0,105	Taylor <i>et al.</i> (2004) <sup>1</sup>
	0,120	Latocha <i>et al.</i> (2010)
<b>Clorofila total</b>	2,16	Cano (1991) <sup>1</sup>
	0,99	McGhie y Ainge (2002)
	6,45	Guldás (2003)
	2,08	Latocha <i>et al.</i> (2010)

<sup>1</sup> Citado por McGhie (2013)

\* Valor estimado, calculado a partir del dato publicado en peso seco por los autores y considerando un contenido de materia seca de 16%.

<sup>2</sup> Medido en extracto metanólico en frutos de kiwi cv. 'Hayward'

<sup>3</sup> Correspondiente a la suma de quercetina y epicatequina medido por HPLC.

<sup>4</sup> Extraído de un pool de todos los tejidos del fruto sin piel y medido por el método de Folin-Ciocalteu.

<sup>5</sup> En mg equivalente de rutina 100 g<sup>-1</sup> PF

La actividad antioxidante está estrechamente relacionada con el contenido de polifenoles, ya que estos compuestos tienen mayor poder antioxidante que la vitamina C, vitamina E y carotenos (Pal *et al.*, 2015). La contribución de la vitamina C a la capacidad antioxidante total fue estimada en alrededor del 22%, sugiriendo que otros compuestos como los ácidos fenólicos y flavonoides contribuirían en gran medida como antioxidantes (Guo *et al.*, 2003).

### 1.9.1.1. Compuestos fenólicos.

Como ya se mencionó, el fruto de kiwi tiene un alto contenido de polifenoles. Según Fu *et al.* (2011) el rutinosido-3-quercetina o rutina, que es un glucósido formado por la unión de una molécula de quercetina (flavonol) y el disacárido rutinosa, es el compuesto mayoritario. En menor concentración se encuentran el ácido protocatecuico (ácido 3,4-dihidroxibenzoico) y el ácido clorogénico (ácido 3-(3,4-dihidroxicinamoil) quínico).

A partir de un extracto metanólico integrado por todos los tejidos comestibles del fruto, Latocha *et al.* (2010) determinaron que los ácidos fenólicos fueron mayoritarios en el perfil fenólico de frutos de kiwi cv. 'Hayward', con mayor concentración del ácido tánico seguida por el ácido gentísico (ácido 2,5 dihidroxibenzoico). Posteriormente, Park *et al.* (2011) reportaron al ácido cafeico (ácido 3,4 dihidroxicinámico) y el protocatecuico como los mayoritarios en frutos cv. 'Hayward' sin su piel.

En un estudio reciente, Li *et al.* (2018) determinaron el perfil fenólico de frutos de kiwi de 14 genotipos diferentes incluyendo a cv. 'Hayward'. La extracción metanólica de estos compuestos obtenida a partir del fruto entero en madurez de consumo, fue analizada por cromatografía líquida de alta performance (HPLC). Ellos identificaron los siguientes compuestos en el cv. 'Hayward': flavan-3-ols (procianidinas B1 y B2), ácidos fenólicos (gálico y clorogénico) y en menor concentración, compuestos del grupo de los flavonoles (ramnosido-3-quercetina). La procianidina B1 y el ácido clorogénico fueron los compuestos que se encontraron en mayor concentración.

El perfil fenólico de extractos metanólicos del fruto de kiwi cv. 'Hayward' determinado por Jiao *et al.* (2018) en muestras compuestas por todos los tejidos que se consumen (pericarpio externo, interno y columela) indica que los flavanoles y los ácidos fenólicos son los compuestos mayoritarios (Tabla 3). Según lo reportado por estos autores, la epicatequina es el compuesto fenólico de mayor concentración tanto en la pulpa como en la piel del fruto de kiwi cv. 'Hayward'. El consumo del fruto de kiwi ha sido asociado a menores riesgos de enfermedades coronarias y también con cambios en la digestibilidad de los lípidos y con un menor riesgo de obesidad, lo cual se debe fundamentalmente al alto contenido de procianidinas y derivados de la quercetina que inhiben la lipasa pancreática asociada a la digestión y absorción de los triglicéridos (Li *et al.*, 2018). Asimismo, los derivados de la quercetina (especialmente el glucosido-3-quercetina) y el ácido clorogénico, ambos presentes en el fruto de kiwi cv. 'Hayward', inhiben la enzima  $\alpha$ -glucosidasa, reduciendo las posibilidades de contraer hiperglucemia o diabetes del tipo II (Li *et al.*, 2018).

**Tabla 3.** Perfil de compuestos fenólicos en frutos de kiwi cv. 'Hayward' analizado por HPLC.

Compuestos fenólicos			Contenido <sup>1</sup> ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{PS}$ )
Flavanoles		Epicatequina	110
		Catequina	75
		Total	<b>185</b>
Ácidos fenólicos	Ácidos hidroxibenzoicos	Gálico	23
		Protocatecuico	15
		Vanílico	40
	Ácidos hidroxicinámicos	Trans-cinámico	13
		p-cumárico	20
		Ferúlico	40
	Total	<b>151</b>	
Flavonoles		Glucósido-3-O-quercetina	40
		Rutinósido-3-quercetina o rutina	50
		Total	<b>90</b>

<sup>1</sup> Adaptado de Jiao *et al.* (2018)

#### 1.9.1.2. Vitaminas.

El fruto de kiwi verde tiene 103,5 mg de vitaminas totales cada 100 g de peso fresco, del cual el 89,6% es vitamina C. La vitamina C debe ser incorporada a la dieta debido a que el humano no puede sintetizarla y comprende la suma del contenido del ácido ascórbico y su forma oxidada, el ácido dehidroascórbico (Vicente *et al.*, 2009).

En la Tabla 4 se muestra la composición de vitaminas y pro-vitaminas y su concentración en el fruto de kiwi (USDA, 2016). El contenido de vitamina C (en mg 100 g<sup>-1</sup> PF) en el kiwi verde es superior al del limón y la naranja, dos frutas reconocidas por su alto valor nutricional. La ingesta de un solo fruto de kiwi por día cubriría la necesidad de esta vitamina (Henare, 2016).

Además del genotipo, las condiciones agroclimáticas y el manejo de la plantación pueden influir en alguna medida sobre la acumulación de vitamina C en el fruto. Ello se demuestra en los valores de vitamina C publicados para el cv. 'Hayward' que pueden variar entre 60 y 117 mg 100 g<sup>-1</sup> PF (Tabla 2), rango muy amplio aun si se considera que pueda haber diferencias debidas al tipo de extractante utilizado.

La vitamina E es del tipo esencial y está presente en el kiwi en mayor medida que en otras frutas. Esta vitamina está presente en la pulpa, semillas y piel del fruto

(Henare, 2016). En la pulpa se encuentra mayoritariamente como  $\alpha$ -tocoferol (USDA, 2016).

El folato o vitamina B<sub>9</sub> interviene en la síntesis y reparación del ADN. Un fruto de kiwi provee alrededor del 10% del requerimiento diario de esta vitamina (McGhie, 2013).

**Tabla 4.** Contenido de vitaminas en el fruto de kiwi verde (USDA, 2016).

Vitaminas	Contenido (mg 100 g <sup>-1</sup> PF)
Vitamina C, ácido ascórbico total	92,70
Colina total	7,80
Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol)	1,46
Betaína	0,500
Niacina	0,341
Ácido pantoténico	0,183
Luteína + zeaxantina	0,122
$\gamma$ -2-tocotrienol	0,100
Vitamina B <sub>6</sub>	0,063
$\beta$ -caroteno	0,052
Vitamina K (filoquinona)	0,040
$\gamma$ -2-tocoferol	0,030
Tiamina	0,027
Riboflavina	0,025
Folato total	0,025
Vitamina A	0,004

#### 1.9.1.3. Carotenos y clorofila.

El contenido de carotenoides y de clorofila en el fruto de kiwi cv. 'Hayward' es relativamente bajo comparado con otras especies del género *Actinidia* (Latocha *et al.*, 2010). Estos autores reportaron que la suma de carotenoides extraída a partir de los tejidos comestibles del fruto cv. 'Hayward' es de 0,12 mg 100 g<sup>-1</sup>PF, debido a la presencia de luteína y en menor proporción, al  $\beta$ -caroteno, zeaxantina y violaxantina. El contenido de clorofila total es de 2,08 mg 100 g<sup>-1</sup> PF, siendo mayoritaria la clorofila  $\alpha$  (96% del total).

### 1.9.2. Inducción de síntesis de compuestos antioxidantes.

Muchos de los compuestos que aportan a la capacidad antioxidante provienen del metabolismo secundario, porque no tienen un rol en los procesos esenciales relacionados con el crecimiento y desarrollo. Dentro de este grupo se encuentran los compuestos fenólicos, compuestos por un grupo fenol y un grupo hidroxilo funcional. Las principales funciones que tienen en la planta se vinculan con la defensa ante herbívoros y el ataque de patógenos, la protección a la radiación UV-B, la atracción de insectos polinizadores y pájaros para dispersión de las semillas (Taiz y Zieger, 2002).

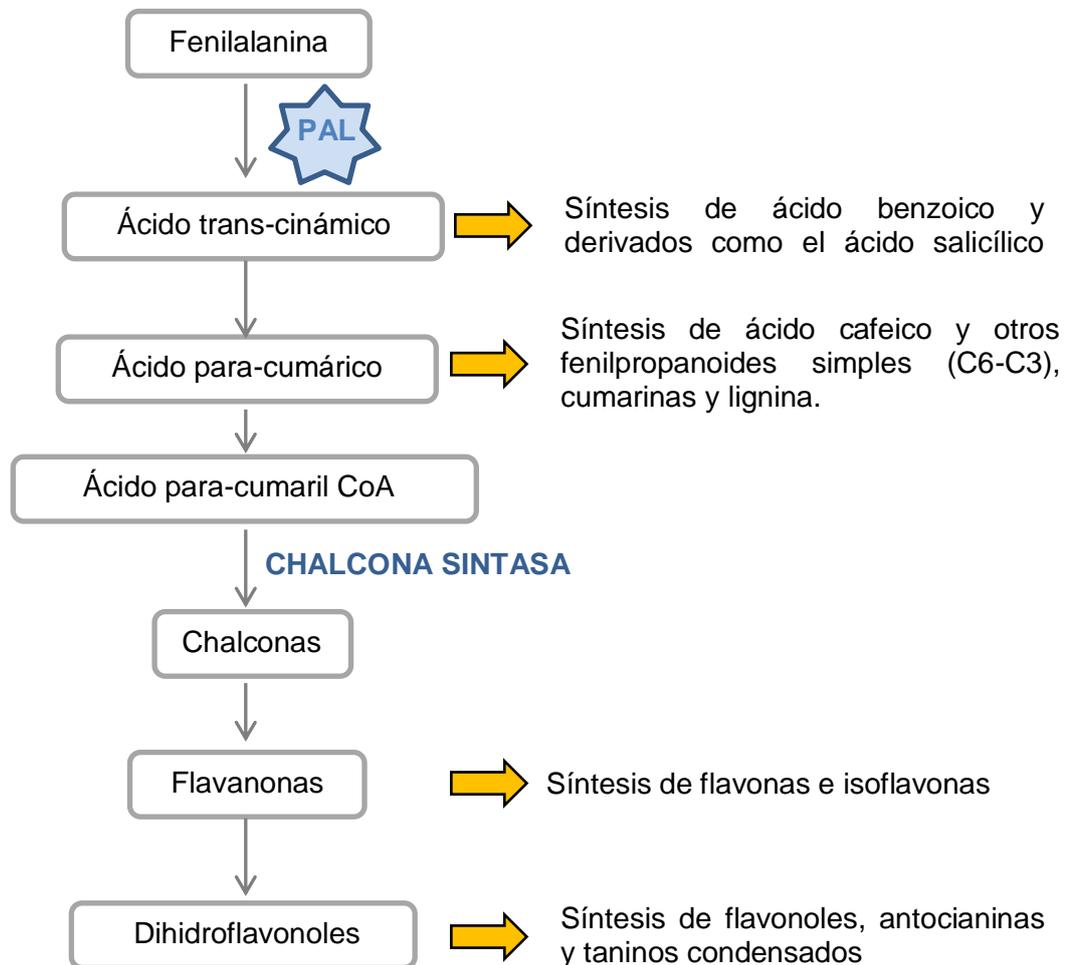
Los compuestos fenólicos son sintetizados principalmente por la ruta del ácido shikímico. A partir de carbohidratos que proceden de la ruta de la pentosa fosfato (D-eritrosa-4-fosfato) y de la glicólisis (ácido fosfoenolpirúvico) se sintetiza el ácido shikímico, precursor de la síntesis de aminoácidos aromáticos, entre ellos, la fenilalanina. La mayor parte de los compuestos fenólicos se sintetizan a partir de fenilalanina, en una ruta conocida como de los fenilpropanoides, regulada por la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL). Esta enzima es clave en la ruta de la síntesis de los fenilpropanoides (Figura 6).

Los flavonoides son compuestos que tienen dos anillos aromáticos unidos por un puente de 3 átomos de carbono (C6-C3-C6), con precursores que proceden de la ruta del ácido shikímico y de la del ácido malónico, cuya síntesis está regulada por la enzima calcona sintasa.

Ante una condición de estrés abiótico, a la que usualmente las plantas están sometidas durante el cultivo (del tipo hídrico, térmico, radiación UV, salinidad, presencia de contaminantes en el ambiente, etc.), la misma genera, entre otras respuestas, la producción de EROs y se activa el sistema antioxidante y la síntesis de metabolitos secundarios como mecanismo de adaptación a los cambios adversos del ambiente (Oh *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2018). El efecto de varios tipos de estrés sobre diferentes tipos de cultivos ha sido recientemente revisado (Wang y Frei, 2011; Yang *et al.*, 2018). En general, el contenido de antioxidantes aumenta ante condiciones de estrés abiótico, pero la respuesta puede variar con la especie cultivada y con el tipo, intensidad, momento o estado fenológico de la planta y duración del estrés (Wang y Frei, 2011).

La síntesis de compuestos fenólicos a través de la ruta de los fenilpropanoides aumenta ante situaciones de estrés porque la enzima PAL es inducida (Guo *et al.*, 2008; Oh *et al.*, 2009). La enzima PAL también está involucrada en la síntesis del SA, aunque estudios y publicaciones recientes han demostrado que el SA también se

sintetiza a partir de corismato (*chorismate*) mediante la actividad de la enzima isocorismato sintasa (EC 5.4.4.2) (Garcion *et al.*, 2008; Pérez-Llorca *et al.*, 2019; Murphy *et al.*, 2020).



**Figura 6.** Ruta de síntesis de compuestos fenólicos y flavonoides. Adaptado de Taiz y Zeiger (2002).

Las respuestas desencadenadas por las plantas debidas a condiciones de estrés, también puede ser activada por inductores de resistencia o elicitors. Un elicitor es un compuesto que induce diferentes respuestas en la planta relacionadas con la defensa, incluyendo la síntesis de metabolitos secundarios (Namdeo, 2007, citado por Moreno-Escamilla *et al.*, 2018), entre ellos, los polifenoles. El aumento de los antioxidantes por efecto del estrés ha promovido el uso de elicitors como estrategia para aumentar el valor nutricional de los alimentos (Moreno-Escamilla *et al.*, 2018). Algunos ejemplos de elicitors son el quitosano (Ahmed *et al.*, 2020) y los fosfitos (Daniel y Guest, 2006;

Lobato *et al.*, 2010, 2011, 2018; Olivieri *et al.*, 2012; Machinandiarena *et al.*, 2012; Guzzo, 2016; Feldman *et al.*, 2020).

### **1.10. Hipótesis, objetivos generales y específicos.**

El objetivo general y los objetivos específicos planteados en este trabajo de Tesis fueron:

**Objetivo General:** Determinar el efecto del fosfito como agente protector y mejorador de la calidad sensorial, nutricional y sanitaria en frutos de kiwi cv. 'Hayward' y sus posibles mecanismos de acción.

#### **Objetivos Específicos:**

1. Determinar el efecto de la aplicación de fosfito de potasio sobre la firmeza, el contenido de sólidos solubles totales y materia seca del fruto de kiwi al momento de cosecha y su influencia sobre la calidad físico-química y sensorial del fruto almacenado.

2. Determinar el efecto de la aplicación de fosfito de potasio sobre el desarrollo de podredumbre gris en el fruto.

3. Determinar el efecto de la aplicación de fosfito de potasio sobre el contenido de compuestos antioxidantes en el fruto, al momento de cosecha y luego del almacenamiento refrigerado prolongado.

4. Determinar algunos mecanismos de acción del fosfito mediante estudios del metabolismo respiratorio, la producción de etileno, los cambios en el espesor de la piel y el reforzamiento de la pared de los tejidos, como parte de la inducción de defensa.

En base a todos los antecedentes se plantearon las siguientes hipótesis:

**H1.** El fosfito de potasio retrasa el ablandamiento y promueve la acumulación de sólidos solubles y de materia seca en frutos de kiwi y esa mejora se relaciona con una mayor calidad sensorial durante el almacenamiento prolongado.

**H2.** El fosfito de potasio induce respuestas en el fruto que se asocian con una mayor tolerancia al desarrollo de podredumbre gris.

**H3.** El fosfito de potasio induce la producción de ácido ascórbico, carotenos y compuestos fenólicos en frutos de kiwi, aumentando el valor nutracéutico del producto.

**H4.** El efecto protector del fosfito es mayor cuando son aplicados en floración y en poscosecha.

**H5.** Las aplicaciones de fosfito durante el crecimiento del fruto producen una mejora de las características sensoriales y nutracéuticas.

**H6.** El tratamiento con fosfito deprime la producción de etileno y la respiración en el fruto y dispara respuestas bioquímicas asociadas a la inducción de defensa.

## 2. CAPITULO 1: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FOSFITO DE POTASIO SOBRE LOS ÍNDICES DE MADURACIÓN, LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA Y SENSORIAL DEL FRUTO A COSECHA Y DESPUÉS DEL ALMACENAMIENTO EN FRIO.

Este capítulo responde a las siguientes hipótesis de trabajo:

**H1.** El fosfito de potasio retrasa el ablandamiento y promueve la acumulación de sólidos solubles y de materia seca en frutos de kiwi y esa mejora se relaciona con una mayor calidad sensorial durante el almacenamiento prolongado.

**H5.** Las aplicaciones de fosfito durante el crecimiento del fruto producen una mejora de las características sensoriales y nutraceuticas.

**H6.** El tratamiento con fosfito deprime la producción de etileno y la respiración en el fruto y dispara respuestas bioquímicas asociadas a la inducción de defensas.

Los resultados (temporadas 2013-2014 y 2014-2015) han sido presentados en el VIII International Postharvest Symposium: Enhancing Supply Chain and Consumer Benefits - Ethical and Technological Issues (21-24 de junio del 2016, Cartagena, España) y el trabajo completo ha sido publicado en la revista *Acta Horticulturae*. Los resultados de la última temporada de cosecha (2016) se han presentado en el IX International Symposium on Kiwifruit, realizado en Portugal en septiembre 2017 y en el VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICYTAC 2018), realizado en octubre 2018, en Córdoba, Argentina.

- Presentaciones a Congresos:

Yommi, Alejandra, Cecilia Baeza, Victoria Quillehauquy, Gabriela Fasciglione, Mabel Casanovas, María Paula Borrajo, Perla Gómez, Adriana Andreu. 2016. Effects of phosphites on ripening in kiwifruit 'Hayward'. June 21-24, 2016, Cartagena, Murcia (Spain): VIII International Postharvest Symposium: Enhancing Supply Chain and Consumer Benefits - Ethical and Technological Issues, p. 196.

Yommi, A.K., C. Baeza, V. Quillehauquy, G. Fasciglione, A. Andreu and P.A. Gómez Di Marco. 2017. Phosphites delay climacteric process on kiwifruit 'Hayward'. IX International Symposium on Kiwifruit. 6-9 September 2017. Porto. Portugal. p. 143.

Yommi, A., Baeza, M.C., Quillehauquy, V., Fasciglione, G., Gómez Di Marco, P.A., Andreu, A.B. 2018. El fosfito de potasio retrasa el ablandamiento del fruto de kiwi 'Hayward'. VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICYTAC 2018). 1 al 3 de octubre de 2018. Córdoba.

- Publicaciones:

Yommi, A.K., C. Baeza, V. Quillehauquy, G. Fasciglione, M.E. Casanovas, M.P. Borrajo, P.A. Gómez Di Marco and A. Andreu. 2018. Effects of foliage spray of phosphites on ripening of kiwifruit 'Hayward'. *Acta Hortic.* 1194:149-156. ISSN 0567-7572. DOI: 10.17660/ActaHortic.2018.1194. 23.

## 1. INTRODUCCIÓN.

El kiwi es un fruto climatérico, que presenta un aumento en la tasa respiratoria y en la producción de etileno durante la maduración organoléptica (Pratt y Reid, 1974). El ablandamiento, el aumento del contenido de los sólidos solubles, la degradación del almidón y el desarrollo del sabor son los principales cambios que ocurren durante el proceso de maduración organoléptica.

La firmeza de la pulpa es el índice de madurez más importante para la comercialización del kiwi. Como ya se describió en la INTRODUCCIÓN GENERAL, la fruta es muy firme al momento de la cosecha (la firmeza del cv. 'Hayward' generalmente es de 60-70 N) pero luego, se ablanda rápidamente con pérdidas de hasta 80% después de dos meses de almacenamiento en frío a 0°C (Arpaia *et al.*, 1987). Este período de ablandamiento rápido se debe principalmente a la hidrólisis de almidón, la solubilización de pectinas, la depolimerización de la pectina soluble y la pérdida de galactosa (Atkinson *et al.*, 2011).

En su trabajo, Asiche *et al.* (2018) encontraron que la acumulación de SST, el ablandamiento de la pulpa y la pérdida de AT, asociados a la maduración organoléptica, pueden ocurrir mientras los frutos se encuentran en la planta, aunque la producción de etileno no pueda ser detectada aún por técnicas sensibles de cromatografía gaseosa. Otros autores demostraron que a los 130 a 140 días post-floración, el fruto de kiwi deja de acumular almidón, comienza a hidrolizar las reservas y a perder firmeza, proceso que es promovido por la temperatura nocturna, mayormente asociada al rango de 7 a 10°C (Burdon *et al.*, 2007).

El ablandamiento en el fruto de kiwi ocurre antes de la producción autocatalítica de etileno, con aumentos en la expresión de enzimas implicadas en este proceso en presencia de etileno externo, lo que indica la existencia de algún tipo de control por esta hormona (Atkinson *et al.*, 2011). Asimismo, la producción autocatalítica de etileno desencadena una serie de señales en el kiwi que regula la expresión de muchos genes implicados en el ablandamiento y otros atributos como el sabor, el aroma y el color (Solano *et al.*, 1998).

El comportamiento del fruto de kiwi es muy particular no sólo porque la producción de etileno no es detectable mientras está madurando en la planta, sino que además continúa produciendo etileno en muy bajos niveles cuando es cosechado, llegando a valores de 0,1 a 0,5  $\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$  mientras se mantiene a 20°C (Crisosto *et al.*, 1996).

Según investigaciones de nuestro grupo de trabajo, frutos de kiwi cv. 'Hayward' almacenados en frío por 5 meses manifestaron un incremento en la tasa respiratoria

asociada al climaterio después de 2 a 3 semanas a 20°C (Osés Martínez de Zúñiga, 2011), cuando el fruto se encuentra prácticamente en madurez de consumo y por esa razón se dice que el kiwi presenta un climaterio retardado (Beever y Hopkirk, 1990). La tasa de producción de etileno en el fruto de kiwi puede alcanzar 50 a 100  $\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$  durante el climaterio (Crisosto *et al.*, 1996).

Como resultado de la maduración organoléptica, un fruto de kiwi que se cosecha en un estado no apto para el consumo, excesivamente firme, con alto contenido de almidón, con bajo contenido de azúcares y alta acidez, se convierte en un fruto apetecible, con una firmeza, sabor y aroma agradables para el consumidor.

En relación al sabor del fruto, se demostró que cuanto mayor es el contenido de SST en el kiwi maduro para consumo, mayor es el grado de aceptación (Harker *et al.*, 2009). El contenido de MS a cosecha está correlacionado con el contenido de SST que tendrá la fruta cuando alcance madurez de consumo (Burdon *et al.*, 2004). El contenido de materia seca a cosecha es entonces un índice de calidad que permite en algún grado predecir el contenido de SST en el fruto y consecuentemente, su nivel de aceptación.

En este sentido, Jaeger *et al.* (2011) evaluaron la importancia del tamaño del fruto, del contenido de materia seca y del precio sobre la intención de compra del kiwi cv. 'Hayward' y demostraron que el factor determinante no es el tamaño sino la materia seca, dado que la preferencia del consumidor al degustar los frutos estuvo asociada a muestras que presentaban mayor contenido a cosecha. Los frutos del cv. 'Hayward' presentan generalmente entre 14 y 17% de materia seca a cosecha, siendo 16% un valor mínimo deseable para alcanzar un adecuado contenido de SST en la fruta madura para consumo (Burdon *et al.*, 2004).

Un adecuado balance entre el gusto dulce y ácido también incide en el grado de aceptación del consumidor de kiwi (Marsh *et al.*, 2006). A diferencia de lo que ocurre en otros frutos, la relación entre el contenido de SST y la AT incide sobre el sabor y la aceptabilidad del consumidor sólo cuando en el fruto maduro la acidez es alta (mayor a 1,2%) y el contenido de SST es menor a 11,6 °Brix (Crisosto y Crisosto, 2001). En ese caso, la fruta resulta muy ácida y el grado de aceptación es bajo. En su estudio, Crisosto y Crisosto (2001) relacionaron el contenido de MS a cosecha y la AT en la fruta madura para consumo con el grado de aceptación, determinando que con una AT menor a 1,2%, el contenido de MS a cosecha para alcanzar una buena aceptación de los consumidores se logra en el rango de 15,1 a 16,0%. Con una AT mayor a 1,2%, es necesario un contenido de MS entre 16,1 y 17,0% para lograr una buena aceptación.

No obstante, muy probablemente el sabor y aroma que contribuyen con el *flavor* y el grado de aceptación del consumidor dependen también de la presencia de compuestos aromáticos y aminoácidos que generalmente no son evaluados analíticamente ni tampoco en paneles de degustación (Burdon y Lallu, 2011).

Por otra parte y tal se mencionó en la INTRODUCCIÓN GENERAL, los bioestimulantes constituyen una estrategia amigable con el ambiente que permite aliviar a las plantas de las repetidas condiciones de estrés a las que están sometidas mientras se encuentran en producción (Tanou *et al.*, 2017). Los bioestimulantes desencadenan respuestas en el vegetal aumentando la tolerancia ante una condición de estrés biótico o abiótico. Además, pueden mejorar la captación y asimilación de nutrientes del suelo, el crecimiento de raíces, activar el metabolismo primario aumentando la productividad de los cultivos, mejorar la coloración de frutos y promover el aumento en el contenido de compuestos nutricionales (Soppelsa *et al.*, 2018).

Los antecedentes del uso de bioestimulantes en frutales son más escasos que en cultivos anuales, aunque en los últimos años se les ha prestado mayor atención, ya que muchos de ellos son aceptados para la producción orgánica, en la que se disponen pocas estrategias para el manejo de enfermedades y el aumento de la producción (Pylak *et al.*, 2019). La aplicación de bioestimulantes está siendo evaluada en frutales también con el objetivo de mejorar características organolépticas y nutricionales de los frutos (Frioni *et al.*, 2018; Soppelsa *et al.*, 2018, 2020; Gutiérrez-Gamboa *et al.*, 2019, 2020; Bavaresco *et al.*, 2020; Rodrigues *et al.*, 2020). Sin embargo, la evaluación del uso de bioestimulantes en el cultivo de kiwi es particularmente escasa.

Entre los bioestimulantes, el Phi también llamado fosfonato, es la forma aniónica del ácido fosfónico ( $\text{HPO}(\text{OH})_2$ ) u ortofosforoso ( $\text{H}_3\text{PO}_3$ ) y generalmente se encuentra disponible como sales en las formulaciones comerciales. Aunque el Phi es reconocido como un fertilizante, también actúa como un fungicida y como inductor natural. De hecho, algunos productos comerciales conteniendo Phi están registrados como fungicidas o "estimulantes de defensa".

El modo de acción de los estimulantes de defensa aún no se comprende completamente. El Phi aplicado en papa antes y después de la cosecha actúa activando mecanismos de defensa, desencadenando múltiples respuestas relacionadas con la resistencia sistémica adquirida (SAR, según su sigla en inglés) (Andreu *et al.*, 2006; Eshraghi *et al.*, 2011; Lobato *et al.*, 2011; Olivieri *et al.*, 2012) y

también modificando el metabolismo primario (Feldman *et al.*, 2020). La respuesta de defensa es un mecanismo hormonal complejo que involucra esencialmente SA, ácido jasmónico (JA) y etileno (Robert-Seilaniantz *et al.*, 2011).

Se espera que el asperjado de las plantas con Phi dispare otras respuestas en las frutas, relacionadas con el proceso de maduración organoléptica, ya que algunos antecedentes muestran que produce un aumento en el SA (Massoud *et al.*, 2012), lo cual activa la expresión de la enzima PAL (Baenas *et al.*, 2014) y puede afectar la expresión de las enzimas involucradas en la síntesis de etileno (Babalar *et al.*, 2007). Por lo tanto, se presume que el tratamiento de las plantas o de los frutos de kiwi cv. 'Hayward' con Phi podría causar una disminución en la producción de etileno y la tasa respiratoria del fruto, retrasando la maduración organoléptica.

En este capítulo se muestran los efectos de los tratamientos con KPhi, tanto por asperjado foliar de las plantas como por inmersión de los frutos, sobre los índices de madurez del fruto de kiwi y la calidad físico-química y sensorial en el momento de cosecha y luego del almacenamiento en frío (4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR) y vida comercial (7 días a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR), experimentos que se realizaron durante tres años consecutivos.

Los experimentos responden a los siguientes objetivos específicos:

- Determinar el efecto de la aplicación de fosfito de potasio sobre la firmeza, el contenido de sólidos solubles totales y materia seca del fruto de kiwi al momento de cosecha y su influencia sobre la calidad físico-química y sensorial del fruto almacenado.
- Determinar algunos mecanismos de acción del fosfito mediante estudios del metabolismo respiratorio, la producción de etileno y la actividad enzimática involucrada en la inducción de defensa.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **2.1. Condiciones de cultivo y descripción de los tratamientos.**

El ensayo se realizó en una plantación comercial de kiwi cv. 'Hayward' que cuenta con varios lotes, que al comienzo de los experimentos (2013) tenían 7 años de edad, ubicada en la zona de Sierra de los Padres ( $37^{\circ} 54' \text{ LS}$ ,  $57^{\circ} 48' \text{ LO}$ ). Las plantas se encuentran distanciadas en la fila a 1 m y a 5 m entre filas, conducidas con el sistema GDC (Génova doble cortina), contando con riego por microaspersión, sistema antiheladas (por microaspersores), cortinas (casuarinas y también malla

monofilamento) y techo (malla monofilamento color negro) (Figura 7). El manejo de riego y fertilización fue el usualmente utilizado en la plantación y de igual tratamiento para todo el lote en el que se hizo cada ensayo.



**Figura 7.** Foto de la plantación de kiwi tomada en febrero del 2014.

Los tratamientos precosecha con KPhi se hicieron cada año en un lote diferente. A comienzos de la primavera se identificaron las parcelas, cada una de 3 filas contiguas (unidad experimental, cada una fue considerada una repetición), que fueron aleatoriamente adjudicadas a cada tratamiento. En las primeras dos temporadas (cosechas de los años 2014 y 2015) las plantas fueron asperjadas con KPhi (0,3% V/V de Afital™) en diferentes estados fenológicos del cultivo: a) prefloración; b) crecimiento y desarrollo del fruto; c) combinación de los tratamientos anteriores, contando con un control sin KPhi que consistió en el asperjado con agua. Para la aplicación de la solución de KPhi o sólo agua (control) se procedió al asperjado de todo el follaje y órganos reproductivos (botones florales o frutos) de todas las plantas de la parcela con una pulverizadora de arrastre, utilizando un volumen de 600 L ha<sup>-1</sup> (Figura 8). Afital™ contiene 30% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 20% K<sub>2</sub>O y fue provisto por la empresa Agro-EMCODI S.A. (Buenos Aires, Argentina). Los tratamientos se hicieron por triplicado y fueron los siguientes:

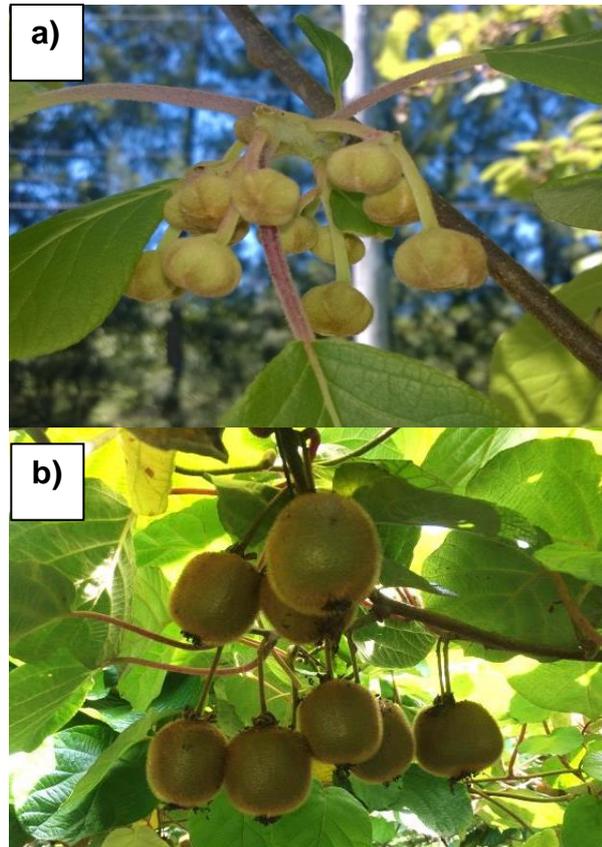
KPhi <sub>PrFl</sub>	Asperjado de las plantas con KPhi en prefloración
KPhi <sub>Fru</sub>	Asperjado de las plantas con KPhi a partir de los 100 días post-floración (dpf), 6 aplicaciones en total, en forma semanal.
KPhi <sub>Prfl+Fru</sub>	Asperjado de las plantas con KPhi en prefloración + asperjado de las plantas con KPhi a partir de los 100 días post-floración (dpf), 6 aplicaciones en total, en forma semanal).
C	Asperjado de las plantas con agua. Control sin KPhi.



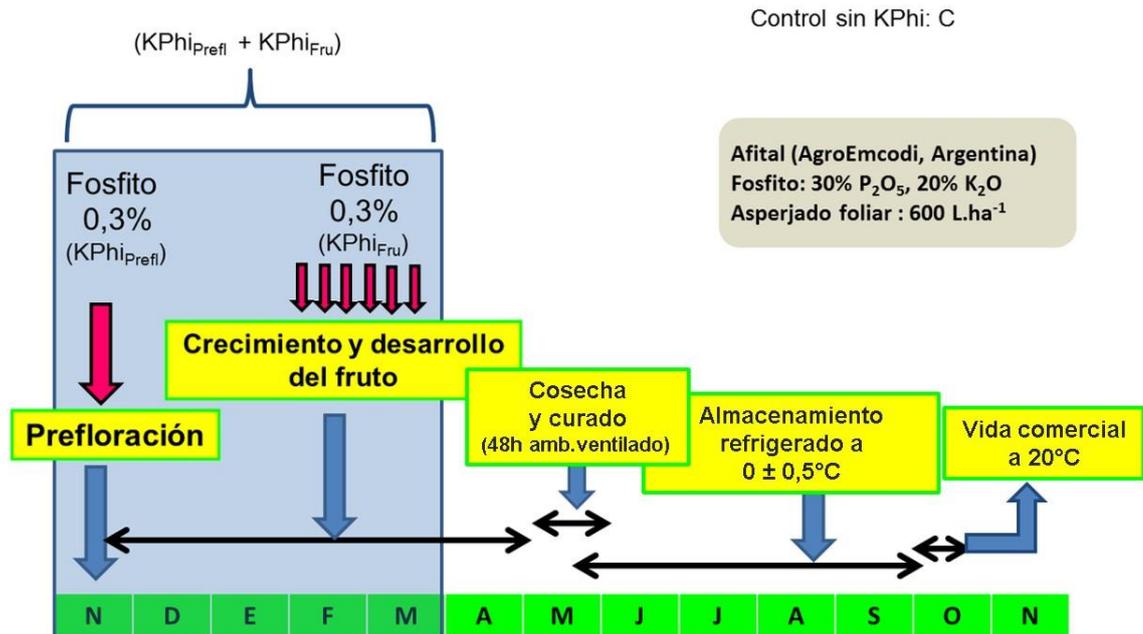
**Figura 8.** Equipo pulverizador asperjando KPhi a las plantas de kiwi.

La aplicación en prefloración se realizó el 18 y el 10 de noviembre del año 2013 y 2014, respectivamente, en el estado fenológico 53 según Salinero *et al.* (2009), cuando las flores se encontraban próximas a iniciar la apertura como se muestra en la Figura 9a. El primer asperjado de las plantas con KPhi durante el desarrollo del fruto (KPhi<sub>Fru</sub>) de un total de 6 aplicaciones se realizó entre fines de febrero y comienzos de marzo, a los 106 y 93 días post-floración en los años 2014 y 2015, respectivamente. En la Figura 9b se muestra el estado de crecimiento del fruto al momento del

tratamiento. En la Figura 10 se muestra en forma esquematizada los tratamientos realizados y los momentos de aplicación, la fenología del cultivo acorde a los meses del año y los procesos realizados (cosecha, almacenamiento refrigerado, vida comercial).



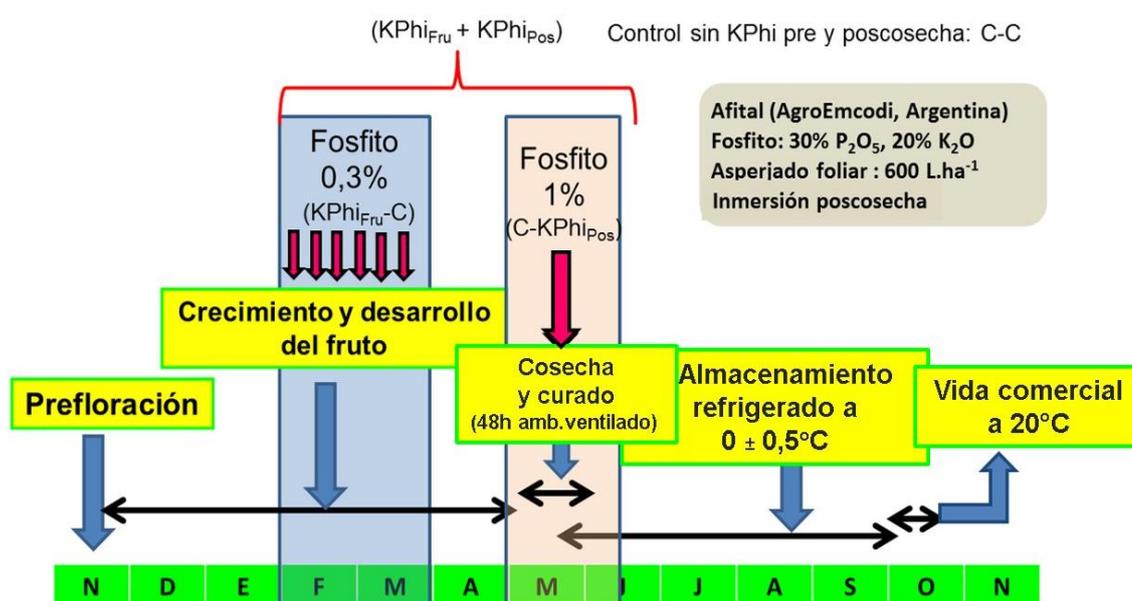
**Figura 9.** a) Estado de desarrollo de las flores y b) de los frutos, al momento de aplicación del fosfito de potasio ( $K\text{Phi}_{\text{PrFl}}$  y  $K\text{Phi}_{\text{FrU}}$ , respectivamente;  $K\text{Phi}_{\text{PrFl}}+K\text{Phi}_{\text{FrU}}$  consistió en el asperjado en ambos estados fenológicos).



**Figura 10.** Esquema de los tratamientos con y sin KPhi en concordancia con la fenología del cultivo y los meses del año, realizados durante las temporadas 2013-2014 y 2014-2015. También se mencionan cronológicamente los procesos realizados.

Para el tercer año (2016), de todos los tratamientos precosecha evaluados durante las primeras dos temporadas se seleccionó aplicar el tratamiento KPhi<sub>Fru</sub>, debido a que la respuesta fue consistente en ambas temporadas, con retraso del ablandamiento y menor producción de etileno. En el tercer año (2016), el tratamiento KPhi<sub>Fru</sub> se aplicó a partir de los 92 días post-floración (registrando la floración el 24 de noviembre de 2015). También se evaluó la aplicación de KPhi en poscosecha, por inmersión de la fruta y la combinación del tratamiento en precosecha y poscosecha. La inmersión se realizó en bateas conteniendo 30 L de solución de KPhi al 1% (V/V), durante 2 minutos. Posteriormente la fruta se dispuso sobre una mesada para su secado. En la Figura 11 se muestra un esquema con los tratamientos, la fenología del cultivo y los procesos realizados. Los tratamientos evaluados en el tercer año fueron:

KPhi <sub>Fru</sub> - C	Asperjado de las plantas con KPhi a partir de los 92 días post-floración (dpf), 6 aplicaciones en total, en forma semanal, sin tratamiento poscosecha.
C - KPhi <sub>Pos</sub>	Sin tratamiento de KPhi en precosecha; la fruta fue cosechada, curada y tratada con KPhi al 1% por inmersión.
KPhi <sub>Fru</sub> - KPhi <sub>Pos</sub>	Asperjado de las plantas con KPhi a partir de los 92 días post-floración (dpf), 6 aplicaciones en total, en forma semanal; la fruta fue cosechada, curada y tratada con KPhi al 1% por inmersión.
C - C	Asperjado de las plantas con agua. Control sin KPhi (ni en precosecha ni en poscosecha).



**Figura 11.** Esquema de los tratamientos con y sin KPhi en concordancia con la fenología del cultivo y los meses del año, realizados durante la temporada 2016. También se mencionan cronológicamente los procesos realizados.

## 2.2. Cosecha, acondicionamiento y condiciones de almacenamiento.

Para decidir el momento de cosecha en cada uno de los años de experimentación se hizo un monitoreo del contenido de SST, sobre una muestra de 30 frutos de kiwi tomados al azar de las plantas control (no asperjadas con KPhi), comenzando la última quincena del mes de abril. La cosecha se realizó el 6, 5 y 3 de mayo del 2014, 2015 y 2016, respectivamente (a los 167, 161, y 160 días después de floración, respectivamente), cuando el contenido de SST promedio de los frutos fue de al menos 6,2% a 6,5% (madurez fisiológica).

En cada temporada se cosecharon al azar 250 (años 2014 y 2015) o 500 frutos (año 2016) de cada tratamiento y repetición, tomando en cuenta sólo los de las plantas

de la fila media de cada parcela. La fruta fue transportada en cajones plásticos a las dependencias de la EEA INTA Balcarce (40 km de distancia) y allí se dispuso en un tinglado ventilado para proceder a la cicatrización de la herida durante 48 h (proceso de curado).

Con una muestra de 30 frutos de cada repetición se analizaron los índices de madurez a cosecha. Luego del curado, los frutos de kiwi fueron almacenados en una cámara de frío convencional ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR), donde permanecieron 4 meses. La concentración de etileno en el interior de la cámara se midió semanalmente por cromatografía gaseosa según se describe más adelante. Mediante el uso de un filtro absorbedor específico conteniendo permanganato de potasio, el etileno se mantuvo por debajo de 20 ppb. Los índices de madurez fueron analizados en muestras de frutos tomadas al finalizar los 4 meses de almacenamiento (4 m) y en muestras transferidas por 7 días a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y 90% HR (4m + 7d; poscámara o vida comercial).

### **2.3. Metodología de medición de los índices de madurez y de calidad.**

Los índices se midieron en muestras compuestas de 30 frutos por repetición, siguiendo la siguiente metodología:

#### **2.3.1. Medición de color de la pulpa (pericarpio externo).**

El color de la pulpa se determinó en la escala CIELab\*, con un colorímetro triestímulo Minolta CR-300 (Konica Minolta Sensing Americas Inc., New Jersey, USA), calibrado con una placa blanca (Y: 92,0; x: 0,3137; y: 0,3199 e iluminante C). Para determinar el color, se extrajo previamente la piel e la zona ecuatorial del fruto con un *peeler* y se realizó una medición por cada fruto. Se obtuvo un valor de cada uno de los tres parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , siendo:

*$L^*$ , luminosidad o brillo que presenta una superficie y se define en una escala con valores que van desde el 0 (negro) hasta el 100 (blanco);*

*$a^*$ , coordenada que se extiende desde el verde (mínimo valor negativo) al rojo (máximo valor positivo);*

*$b^*$ , coordenada que comprende desde el azul (mínimo valor negativo) al amarillo (máximo valor positivo).*

Con los valores de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  se calculó el índice de color (IC)<sup>a</sup> (Vignoni *et al.*, 2006) como:

$$IC = \frac{a^* \times 1000}{L^* \times b^*}$$

<sup>a</sup> Los valores de IC son negativos para el color verde; un menor valor de IC (más negativo) es indicativo de un color verde más intenso.

### 2.3.2. Firmeza de la pulpa (pericarpio externo).

La medición de la firmeza se realizó sobre la zona ecuatorial de cada fruto por duplicado, retirando previamente la piel, mediante el uso de un penetrómetro de mano Effegi FT 327 (Facchini SRL, Alfonsine, Italia), con un émbolo de 7,9 mm de diámetro, que es el estándar para kiwi (Harker *et al.*, 1996). El equipo mide la fuerza máxima necesaria para penetrar la pulpa hasta una profundidad de 8 mm (Abbott y Harker, 2016). Los resultados se expresaron en newton (N).

### 2.3.3. Contenido de materia seca.

Se midió siguiendo el protocolo de Crisosto *et al.* (2008). Brevemente, cada fruto fue cortado transversalmente en dos mitades y con una mandolina se obtuvo una rodaja de 2 mm de espesor, la cual se colocó en un vidrio reloj previamente identificado y pesado. Cada rodaja fue pesada en una balanza analítica Vibra (Shinko Denshi Co. Ltd., Tokio, Japón), con 0,0001 g de precisión y secada a 65°C en un deshidratador Ezidri (Hydraflow Ltd., Upper Hutt, Nueva Zelanda) hasta peso constante (aproximadamente 24 h). Posteriormente, cada rodaja seca se pesó y se calculó el porcentaje de materia seca de la muestra, como:

$$\text{Materia seca (\%)} = \frac{100}{30} \sum_{i=1}^{30} \frac{PS_i}{PF_i}$$

dónde: PS<sub>i</sub>: peso seco de la i-ésima rodaja (g), PF<sub>i</sub>: peso fresco de la i-ésima rodaja (g)

### 2.3.4. Contenido de sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable (AT).

Con la mitad correspondiente a la zona peduncular de los 30 frutos de cada repetición, se extrajo jugo para realizar las mediciones del contenido de SST y acidez titulable, utilizando una juguera centrífuga Philips Cucina HR-1820 (Koninklijke Philips Electronics N.V, USA). El contenido de SST se midió en un refractómetro digital Atago Palette α series modelo 3442-E04 (Atago Co. Ltd., Tokio, Japón) utilizando unas gotas del jugo obtenido, expresando el resultado en °Brix. Para medir la AT, 10 mL de jugo fueron diluidos con 100 mL de agua destilada. Posteriormente, se tituló con NaOH 0,1

N hasta alcanzar un pH de 8,1, utilizando un titulador automático Radiometer Copenhagen Titralab 90 (Radiometer Medical APS, Bronshoj, Dinamarca). El resultado se expresó en % m/V de ácido cítrico y se obtuvo mediante el siguiente cálculo:

$$\text{AT (g ácido cítrico 100 ml}^{-1}\text{ jugo)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times \text{Peso}_{\text{meq ácido cítrico}}}{V_{\text{muestra}}} \times 100$$

dónde:  $V_{\text{NaOH}}$ = volumen consumido de NaOH en mL,  $N_{\text{NaOH}}$ = normalidad del NaOH en meq mL<sup>-1</sup>,  $\text{Peso}_{\text{meq ácido cítrico}}$ = peso de 1 miliequivalente de ácido cítrico en gramos,  $V_{\text{muestra}}$ = volumen de muestra valorado en mL.

### 2.3.5. Medición de la producción de etileno y tasa respiratoria.

Frutos de kiwi extraídos de la cámara de frío al finalizar los 4 meses de almacenamiento se dejaron en una sala acondicionada a 20°C durante 18 h. Posteriormente, se colocaron individualmente en frascos de vidrio de 0,5 L, en el que permanecieron hasta 21 días a dicha temperatura. La concentración de etileno y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) se midió en tres repeticiones de ocho frutos de cada tratamiento, previa incubación durante una hora mediante el cierre hermético de cada frasco con una tapa a rosca. Las muestras de aire del interior de cada frasco se tomaron a través de un septo mediante jeringas de 1 mL. Las concentraciones de etileno y de CO<sub>2</sub> de las muestras se midieron por duplicado con un cromatógrafo gaseoso Shimadzu GC-17A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón) equipado con un detector FID (detector de ionización de llama) y una columna GS-AI de 30 m x 0,53 mm para medir etileno, un detector TCD (detector de conductividad térmica) y una columna GS-Q de 30 m x 0,53 mm para medir CO<sub>2</sub>. Se utilizó He y N<sub>2</sub> como gases transportadores ('*carriers*') y las temperaturas de trabajo de la columna, inyector y detector fueron de 40, 100 y 200°C, respectivamente.

Los muestreos se realizaron en los días 1, 4, 7, 10, 14, 17 y 21 días a 20°C. Se calculó la tasa de producción de etileno ( $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) y la tasa respiratoria ( $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ).

## 2.4. Metodología para el análisis sensorial.

La evaluación sensorial se realizó el día de salida de frío (a los 4 meses de almacenamiento en frío) y en vida comercial. Se realizó una prueba descriptiva de los atributos textura, acidez y sabor característico, siguiendo una escala de intervalos (Tabla 5), con valores desde 1 a 5 para textura y acidez y desde 1 a 4 para sabor

característico, tomada de Osés Martínez de Zúñiga (2011). En cada sesión, entre 6 y 8 panelistas semi-entrenados analizaron las muestras de los experimentos cada año.

**Tabla 5.** Escala de intervalo utilizada para cada atributo evaluado en el panel sensorial.

Valor de la escala	Textura	Acidez	Sabor característico
1	Extremadamente blando	Muy poco ácido	Escaso o alcohólico
2	Ligeramente blando a blando	Poco ácido	Bueno
3	Agradable	Agradable	Satisfactorio
4	Ligeramente duro a duro	Algo ácido	Muy satisfactorio
5	Extremadamente duro	Extremadamente ácido	---

## 2.5. Diseño estadístico y análisis de los datos.

Durante las dos primeras temporadas en las que se evaluó el efecto del asperjado de las plantas con KPhi en diferentes estados fenológicos sobre los índices de madurez, el diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado con arreglo factorial 4 x 2, con tres repeticiones de cada tratamiento. Los factores evaluados fueron: Tratamiento, con 4 niveles (KPhi<sub>PrFl</sub>, KPhi<sub>Fru</sub>, KPhi<sub>PrFl+Fru</sub>, C) y Año, con 2 niveles (2014 y 2015). El diseño experimental utilizado en la temporada 2016 fue completamente aleatorizado con Tratamiento, con 4 niveles (KPhi<sub>Fru</sub>-C, C-KPhi<sub>Pos</sub>, KPhi<sub>Fru</sub>-KPhi<sub>Pos</sub>, C-C) como factor fijo.

Los datos de cada momento de muestreo (cosecha, salida de frío y vida comercial) fueron analizados mediante ANOVA. En el set de datos de las temporadas de cosecha 2014 y 2015, se determinó la significancia de la interacción Tratamiento x Año y los efectos principales de cada factor para cada variable. En el set de datos de la temporada de cosecha 2016, se analizó el efecto del factor Tratamiento. Ante una significancia menor o igual al 5%, las medias fueron separadas utilizando el test de Tukey-Kramer ( $\alpha = 0,05$ ).

Dado que en el set de datos correspondiente a tasa respiratoria y producción de etileno se detectó asimetría (falta de normalidad) y/o errores no homogéneos para algunos casos, se ajustaron modelos lineales de efectos mixtos y/o modelos lineales utilizando mínimos cuadrados generalizados, según cada variable y grupo de datos analizados. En los casos en que el supuesto de normalidad no pudo ser modelado, se

aplicó una transformación logarítmica a los datos. Para detectar diferencias entre medias se realizaron contrastes múltiples, los cuales fueron ajustados mediante la metodología de *false discovery rate* (FDR,  $\alpha = 0,05$ ).

Para el set de datos de etileno y CO<sub>2</sub> de los años 2014 y 2015, se utilizó un modelo de efectos mixtos, que contempló como factores con efectos fijos: A.Tratamiento, B. Días a 20°C, Año, y con efectos aleatorios: Z: Repetición con efecto anidado dentro del factor Días a 20°C.

Los datos de etileno del 2016 se evaluaron utilizando un modelo lineal generalizado de dos factores con efectos fijos: A: Tratamiento anidado dentro del factor Días a 20°C y B: Días a 20°C. Se modeló la varianza de los residuales, debido a falta de homocedasticidad, en función de la potencia de la covariable tratamiento. Los datos de CO<sub>2</sub> del año 2016 se evaluaron utilizando un modelo lineal de dos factores con efectos fijos: A: Tratamiento anidado dentro del factor Días a 20°C y B: Días a 20°C.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa R versión 3.2.3. (R Core Team, 2015).

### **3. RESULTADOS.**

#### **3.1. Índices de madurez y de calidad al momento de cosecha.**

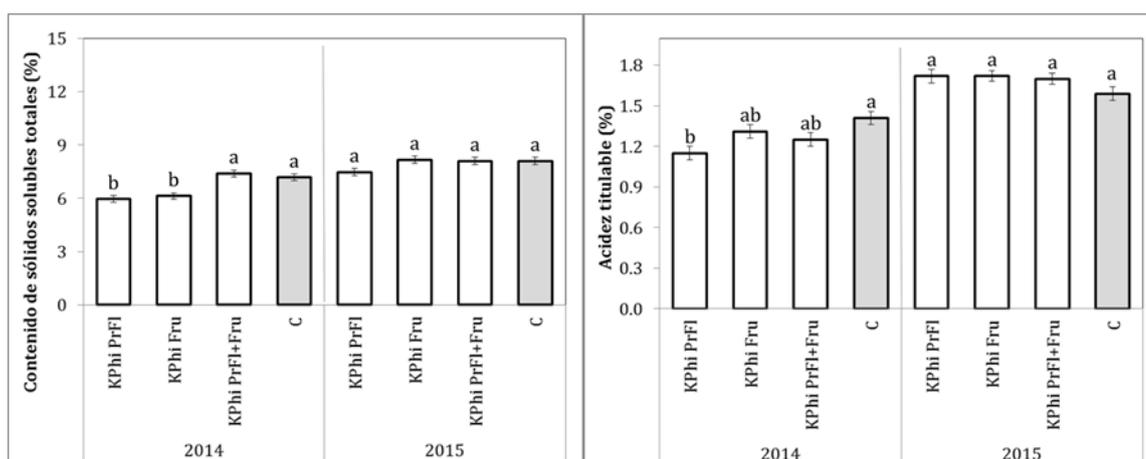
No hubo efecto de interacción Tratamiento x Año ( $p > 0,05$ ), ni del factor Tratamiento ( $p > 0,05$ ) para la firmeza, color de la pulpa y contenido de materia seca determinados en los frutos de kiwi al momento de la cosecha. Los resultados muestran que las condiciones del año afectaron significativamente ( $p < 0,05$ ) estas variables a cosecha. En el año 2014, los frutos de kiwi presentaron menor firmeza, menor IC (mayor intensidad de color verde), y menor contenido de materia seca en el momento de la cosecha, respecto del año 2015 (Tabla 6).

Para el contenido de SST y la AT, hubo una respuesta significativa a la aplicación foliar de KPhi que difirió con el año (efecto de interacción Tratamiento x Año significativa;  $p = 0,0147$  para el contenido de SST y  $p = 0,0187$  para AT). Los frutos de los tratamientos KPhi<sub>PrFl</sub> y KPhi<sub>FrU</sub> alcanzaron menor contenido de SST a cosecha respecto al control y al tratamiento combinado de KPhi (KPhi<sub>PrFl+FrU</sub>) en el año 2014, respuesta que no fue observada en el 2015 (Figura 12). En el año 2014 además, la fruta del tratamiento KPhi<sub>PrFl</sub> presentó menor AT respecto al control.

**Tabla 6.** Firmeza, color de pulpa y contenido de materia seca correspondientes al día de la cosecha en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados o no tratados con KPhi (años 2014 y 2015).

Años	Tratamientos <sup>1</sup>	Firmeza (N)	Color de pulpa (IC)	Contenido de materia seca (%)
2014	KPhi <sub>PrFl</sub>	76,4 ±1,0 <sup>2</sup> a	-9,2±0,1 a	15,6±0,6 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	74,5 ±1,0 a	-8,9±0,1 a	15,4±0,6 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	77,4 ±1,0 a	-8,9±0,1 a	15,9±0,6 a
	C	74,5 ±1,0 a	-8,7±0,1 a	16,4±0,6 a
	<b>Promedio</b>	<b>75,5 ±1,0 B</b>	<b>-8,9±0,1 B</b>	<b>15,8±0,6 B</b>
2015	KPhi <sub>PrFl</sub>	85,9 ±1,3 a	-8,4±0,1 a	19,4±0,4 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	84,4 ±1,3 a	-8,4±0,1 a	18,8±0,4 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	82,4 ±1,3 a	-8,2±0,1 a	18,6±0,4 a
	C	83,7 ±1,3 a	-8,7±0,1 a	18,4±0,4 a
	<b>Promedio</b>	<b>84,1 ±1,3 A</b>	<b>-8,4±0,1 A</b>	<b>18,8±0,4 A</b>

<sup>1</sup> Aplicaciones foliares de KPhi en distintos estados fenológicos: **KPhi<sub>PrFl</sub>**: una aplicación en prefloración, **KPhi<sub>Fru</sub>**: 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **KPhi<sub>PrFl+Fru</sub>**: una aplicación en prefloración y 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **C**: plantas asperjadas con agua (Control). <sup>2</sup> Cada valor representa la media y su error estándar de 3 repeticiones de 30 frutos. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre años; letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ).



**Figura 12.** Contenido de sólidos solubles totales (°Brix) y acidez titulable (%) a cosecha, en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha durante las temporadas 2013-2014 y 2014-2015. Letras diferentes en una misma temporada indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos.

En la tercera temporada en la que en precosecha sólo se repitieron las aplicaciones foliares de KPhi durante el desarrollo del fruto (tratamiento KPhi<sub>Fru</sub>), no se encontraron efectos significativos debido a los tratamientos sobre ninguno de los índices de madurez y de calidad ( $p > 0,05$ ) en la fruta que se analizó en la cosecha (Tabla 7).

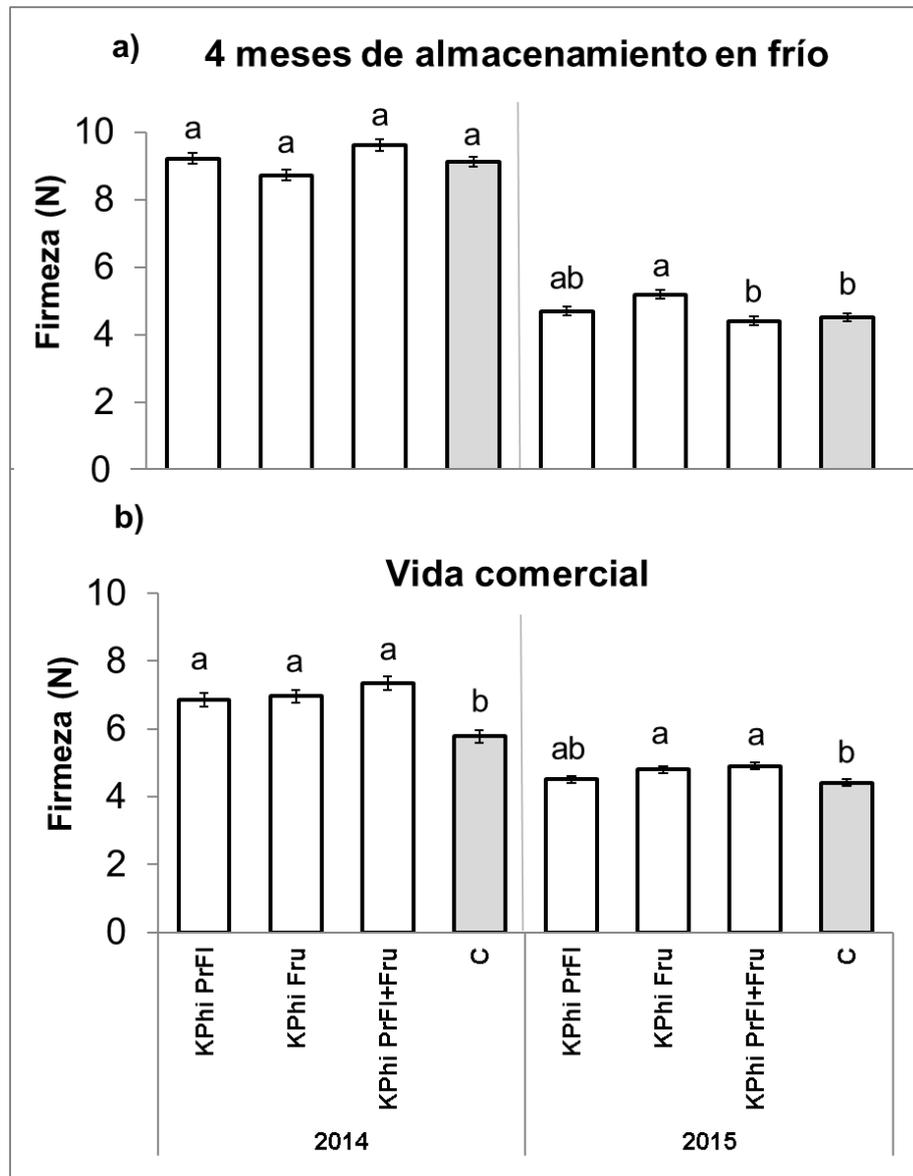
**Tabla 7.** Firmeza, color de pulpa, contenido de materia seca, de sólidos solubles totales y acidez titulable correspondientes al día de la cosecha en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados y no tratados con KPhi en precosecha (año 2016).

Tratamientos <sup>1</sup>	Firmeza (N)	Color de pulpa (IC)	MS (%)	Contenido de SST (°Brix)	AT (g ac. cítrico 100 mL <sup>-1</sup> jugo)
KPhi <sub>Fru</sub>	76,4±1,0 a	-8,3±0,1 a	15,8±0,6 a	7,3±0,2 a	1,4±0,1 a
C	79,4±1,2 a	-8,1±0,1 a	15,7±0,6 a	7,5±0,2 a	1,4±0,1 a

<sup>1</sup> KPhi<sub>Fru</sub>: 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, C: plantas asperjadas con agua (Control), correspondiente a la temporada 2016. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ).

### 3.2. Índices de madurez al finalizar el almacenamiento refrigerado y en vida comercial.

El efecto del asperjado con KPhi sobre la firmeza, tanto al finalizar los 4 meses de almacenamiento en frío como la vida comercial, mostró una diferente respuesta según la temporada de cosecha (años 2014 ó 2015) (interacción Tratamiento x Año significativa; salida de frío:  $p < 0,0001$ ; vida comercial:  $p = 0,0041$ ). Al finalizar el almacenamiento en frío, no se detectaron diferencias en la firmeza entre los frutos tratados con KPhi y el control en el año 2014, mientras que en el año 2015, los frutos KPhi<sub>Fru</sub> resultaron significativamente más firmes que el control (Figura 13a). Las diferencias entre los tratamientos fueron mayores en la vida comercial. En el año 2014 los frutos de todos los tratamientos con KPhi resultaron más firmes que el control al finalizar la vida comercial, mientras que en el año 2015 lo fueron los tratamientos KPhi<sub>Fru</sub> y KPhi<sub>PFI+Fru</sub> (Figura 13b).



**Figura 13.** Firmeza (N) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha durante las temporadas 2013-2014 y 2014-2015 y almacenados 4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR: a) a la salida del almacenamiento, b) durante 7 días de vida comercial a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR. Letras diferentes en una misma temporada indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos.

Al finalizar el almacenamiento en frío y la vida comercial, no se encontró efecto significativo de interacción Tratamiento x Año ( $p > 0,05$ ), ni del factor Tratamiento, sobre el color de pulpa (salida de frío:  $p = 0,7646$ ; vida comercial:  $p = 0,1604$ ), el contenido de SST (salida de frío:  $p = 0,4931$ ; vida comercial:  $p = 0,6265$ ) o la AT (salida de frío:  $p = 0,0886$ ; vida comercial:  $p = 0,3007$ ). Además, y tal lo observado a cosecha,

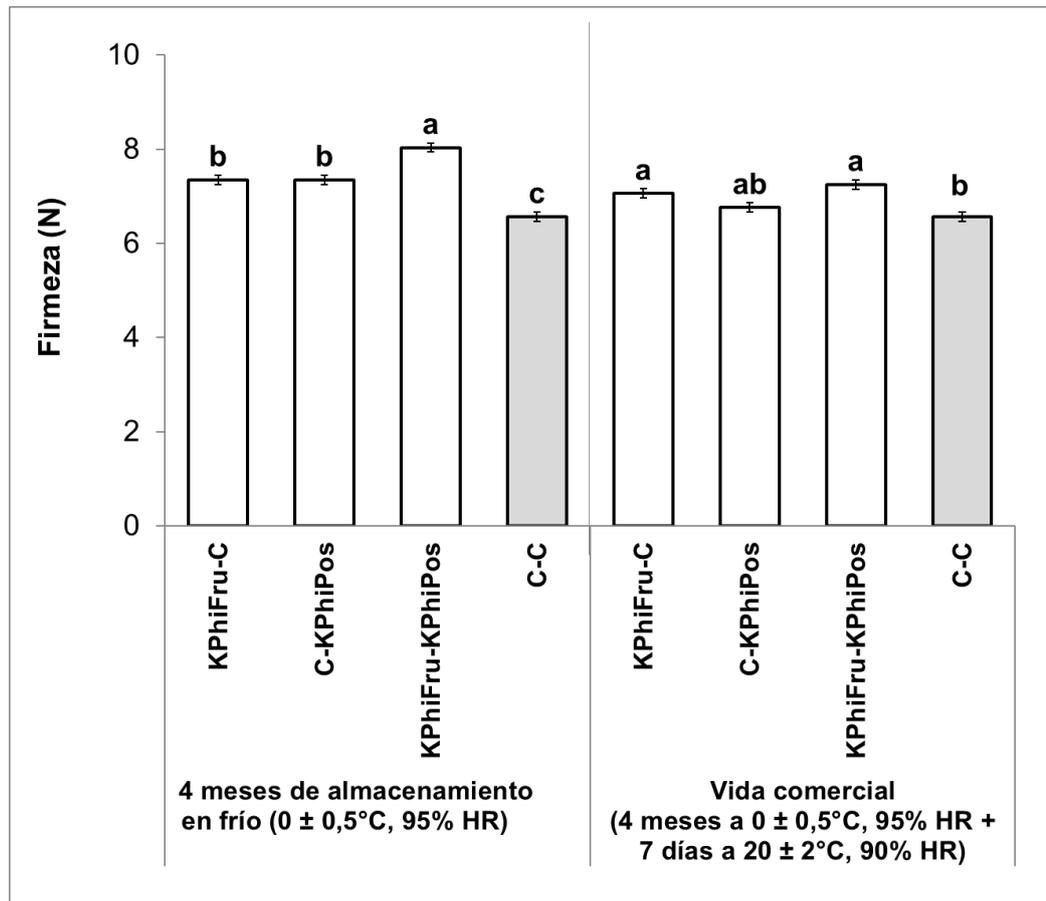
estas variables fueron afectadas significativamente ( $p < 0,05$ ) por las condiciones del año. Al finalizar el almacenamiento en frío y la vida comercial, los frutos cosechados en el año 2014 presentaron un color verde de pulpa más intenso, menor contenido de SST y menor AT respecto a los cosechados en el año 2015 (Tabla 8).

En la tercera temporada, la firmeza fue el único índice de madurez afectado por los tratamientos con KPhi, aplicado en precosecha, en poscosecha y su combinación. Los resultados para el contenido de SST, la AT e IC se muestran en la Tabla 9 y para firmeza, en la Figura 14. Al finalizar el almacenamiento en frío todos los frutos tratados con KPhi resultaron más firmes que los frutos control, mientras que en vida comercial, los frutos tratados en precosecha (KPhi<sub>Fru</sub>-C) o con el tratamiento combinado (KPhi<sub>Fru</sub>-KPhi<sub>Pos</sub>), resultaron más firmes que los frutos control (C-C, que no recibieron tratamiento con KPhi ni en precosecha ni en poscosecha).

**Tabla 8.** Contenido de SST, color de pulpa y AT al finalizar el almacenamiento refrigerado (4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR) y vida comercial (4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR + 7 días a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados o no tratados con KPhi (años 2014 y 2015).

Años	Tratamientos <sup>1</sup>	Contenido de SST (°Brix)	Color de pulpa (IC)	Acidez titulable (g ac. cítrico 100 mL <sup>-1</sup> jugo)
<i>Salida de frío</i>				
2014	KPhi <sub>PrFl</sub>	13,4 ±1,0 <sup>2</sup> a	-9,9±0,1 a	1,07±0,6 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	13,7 ±1,0 a	-9,9±0,1 a	1,09±0,6 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	13,5 ±1,0 a	-9,8±0,1 a	1,08±0,6 a
	C	14,2 ±1,0 a	-9,8±0,1 a	1,08±0,6 a
	<b>Promedio</b>	<b>13,7 ±1,0 B</b>	<b>-9,9±0,1 B</b>	<b>1,08±0,6 B</b>
2015	KPhi <sub>PrFl</sub>	16,7 ±1,3 a	-9,0±0,1 a	1,16±0,4 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	16,5 ±1,3 a	-9,0±0,1 a	1,27±0,4 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	16,3 ±1,3 a	-9,1±0,1 a	1,22±0,4 a
	C	16,4 ±1,3 a	-9,6±0,1 a	1,25±0,4 a
	<b>Promedio</b>	<b>16,5 ±1,3 A</b>	<b>-9,2±0,1 A</b>	<b>1,22±0,4 A</b>
<i>Vida comercial</i>				
2014	KPhi <sub>PrFl</sub>	13,4 ±1,0 a	-9,7±0,1 a	1,03±0,6 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	13,9 ±1,0 a	-8,9±0,1 a	1,07±0,6 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	13,7 ±1,0 a	-9,0±0,1 a	1,09±0,6 a
	C	14,3 ±1,0 a	-9,3±0,1 a	1,03±0,6 a
	<b>Promedio</b>	<b>13,8 ±1,0 B</b>	<b>-9,2±0,1 B</b>	<b>1,06±0,6 B</b>
2015	KPhi <sub>PrFl</sub>	17,1 ±1,3 a	-8,0±0,1 a	1,16±0,4 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	17,0 ±1,3 a	-8,1±0,1 a	1,22±0,4 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	16,8 ±1,3 a	-7,9±0,1 a	1,23±0,4 a
	C	16,8 ±1,3 a	-8,4±0,1 a	1,21±0,4 a
	<b>Promedio</b>	<b>16,9 ±1,3 A</b>	<b>-8,1±0,1 A</b>	<b>1,21±0,4 A</b>

<sup>1</sup> Aplicaciones foliares de KPhi en distintos estados fenológicos: **KPhi<sub>PrFl</sub>**: una aplicación en prefloración, **KPhi<sub>Fru</sub>**: 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **KPhi<sub>PrFl+Fru</sub>**: una aplicación en prefloración y 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **C**: plantas asperjadas con agua (Control). <sup>2</sup> Cada valor representa la media y su error estándar de 3 repeticiones de 30 frutos. Para cada momento de evaluación (salida de frío o vida comercial), letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre años y letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ).



**Figura 14.** Firmeza (N) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha y/o en poscosecha durante la temporada 2016: a) al finalizar el almacenamiento durante 4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR: b) durante 7 días de vida comercial a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR. Letras diferentes en un mismo momento de evaluación (salida de frío o vida comercial) indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 4 repeticiones de 30 frutos.

**Tabla 9.** Contenido de SST, color de pulpa y AT correspondientes a la salida de frío (4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR) y vida comercial (4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR + 7 días a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados o no tratados con KPhi (año 2016).

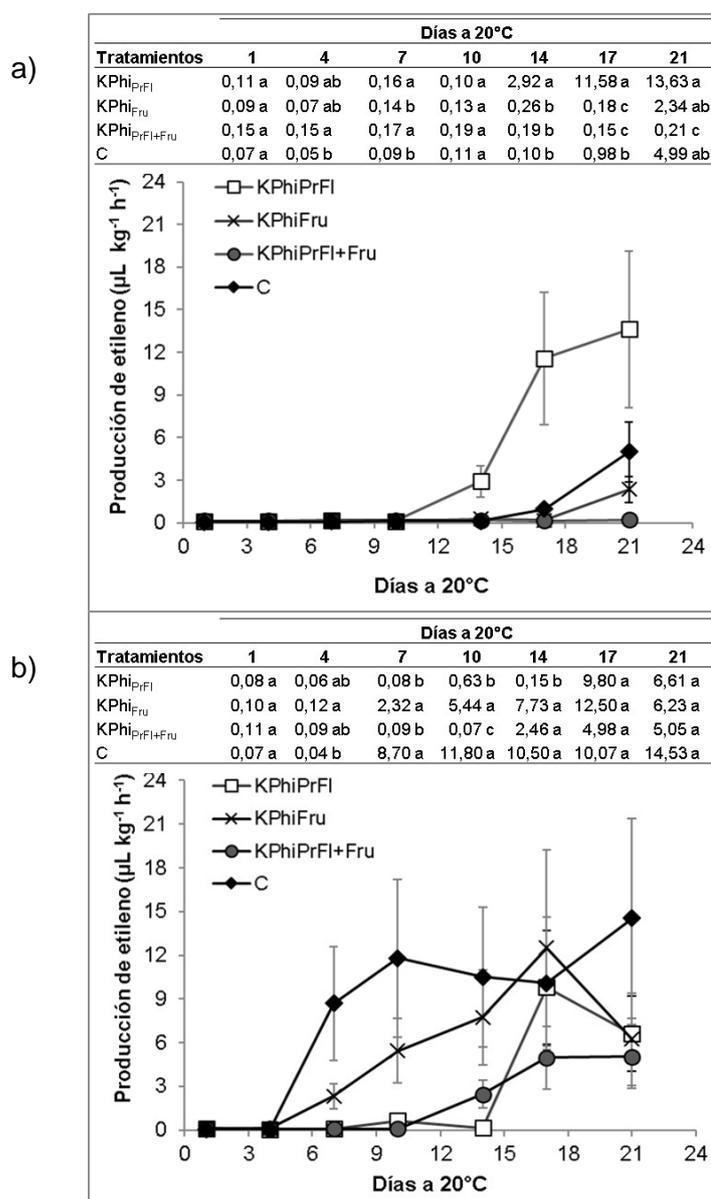
Tratamientos <sup>1</sup>	Contenido de SST (°Brix)	Color de pulpa (IC)	Acidez titulable (g ac. cítrico 100 mL <sup>1</sup> jugo)
<b>Salida de frío</b>			
<b>KPhi<sub>Fru</sub> - C</b>	13,0 ±0,2 <sup>2</sup> a	-9,1±0,1 a	1,30±0,1 a
<b>C - KPhi<sub>Pos</sub></b>	12,9 ±0,2 a	-9,0±0,1 a	1,27±0,1 a
<b>KPhi<sub>Fru</sub> - KPhi<sub>Pos</sub></b>	12,9 ±0,2 a	-9,1±0,1 a	1,32±0,1 a
<b>C - C</b>	13,1 ±0,2 a	-9,2±0,1 a	1,30±0,1 a
<b>Vida comercial</b>			
<b>KPhi<sub>Fru</sub> - C</b>	13,1 ±0,2 a	-8,3±0,2 a	1,20±0,1 a
<b>C - KPhi<sub>Pos</sub></b>	13,2 ±0,2 a	-8,3±0,2 a	1,24±0,1 a
<b>KPhi<sub>Fru</sub> - KPhi<sub>Pos</sub></b>	12,9 ±0,2 a	-8,4±0,2 a	1,27±0,1 a
<b>C - C</b>	13,3 ±0,2 a	-8,6±0,2 a	1,25±0,1 a

<sup>1</sup> **KPhi<sub>Fru</sub> - C**: fruta proveniente de plantas asperjadas con KPhi en precosecha; **C - KPhi<sub>Pos</sub>**: sin fosfito en precosecha, la fruta fue tratada en una solución de fosfito en poscosecha; **KPhi<sub>Fru</sub> - KPhi<sub>Pos</sub>**: fruta proveniente de plantas asperjadas con KPhi en precosecha y tratadas por inmersión en poscosecha; **C - C**: sin tratamiento con fosfito.

<sup>2</sup> Cada valor representa la media y su error estándar de 3 repeticiones de 30 frutos. Letras diferentes en un mismo momento de evaluación (salida de frío o vida comercial) indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ).

### 3.3. Producción de etileno y tasa respiratoria.

Se encontró un efecto significativo ( $p = 0,0001$ ) de interacción entre los factores en estudio (Tratamiento x Año x Días a  $20^{\circ}\text{C}$ ) para la producción de etileno. En la Figura 15 se muestra que hubo una menor producción de etileno y en forma retrasada en la temporada 2014, respecto de la temporada 2015. En el año 2014, se encontró un adelanto del climaterio en los frutos del tratamiento KPhi<sub>PrFl</sub> respecto al control y al resto de los tratamientos con KPhi, comportamiento que no fue observado en el año 2015. La producción de etileno en los frutos del tratamiento KPhi<sub>PrFl+Fru</sub> (que combina la aplicación en floración y durante el desarrollo del fruto) fue en general la más baja durante ambas temporadas.

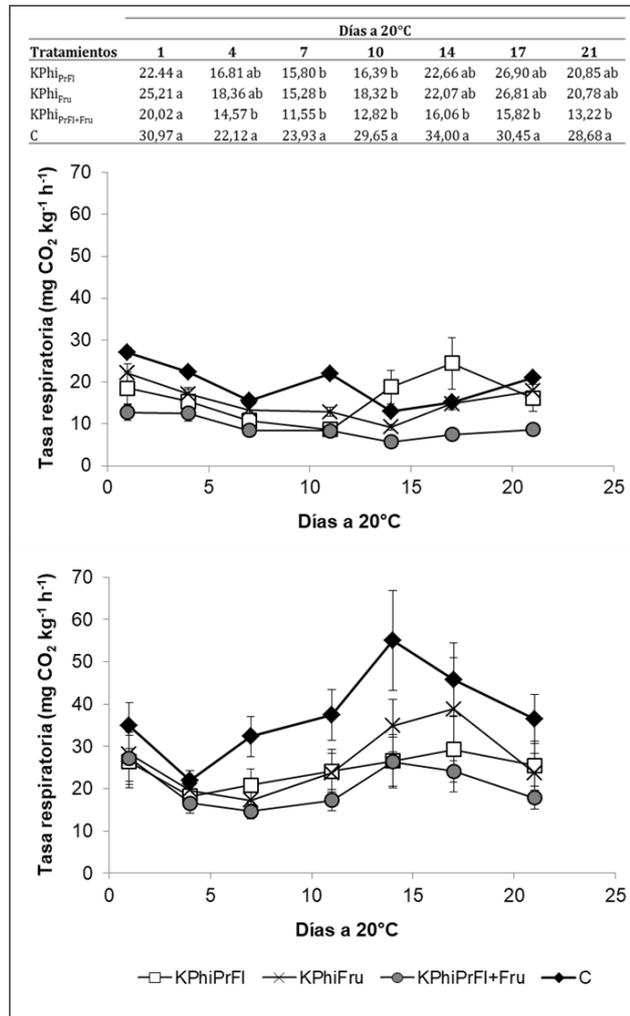


**Figura 15.** Producción de etileno ( $\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha durante las temporadas: a) 2013-2014 y b) 2014-2015. Los frutos analizados fueron incubados a  $20^\circ\text{C}$  y previamente almacenados durante 4 meses a  $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , 95%HR. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 8 frutos.

No hubo efectos de interacción Tratamiento x Año x Días a  $20^\circ\text{C}$  ( $p = 0,8101$ ), ni de Tratamiento x Año ( $p = 0,8118$ ) para la tasa respiratoria. La evolución de la tasa respiratoria de cada tratamiento fue diferente a  $20^\circ\text{C}$ , y las diferencias entre ellos fue dependiente de los días transcurridos a  $20^\circ\text{C}$  (interacción Tratamiento x Días a  $20^\circ\text{C}$ :  $p = 0,0068$ ) e independiente del año de cosecha. En los frutos control sin KPhi la tasa respiratoria fue más alta y se elevó más rápidamente que en los restantes tratamientos

(Figura 16). Los frutos KPhi<sub>PrFl+Fru</sub> (tratados en prefloración y durante el desarrollo del fruto) presentaron un metabolismo respiratorio más bajo durante todo el periodo de incubación.

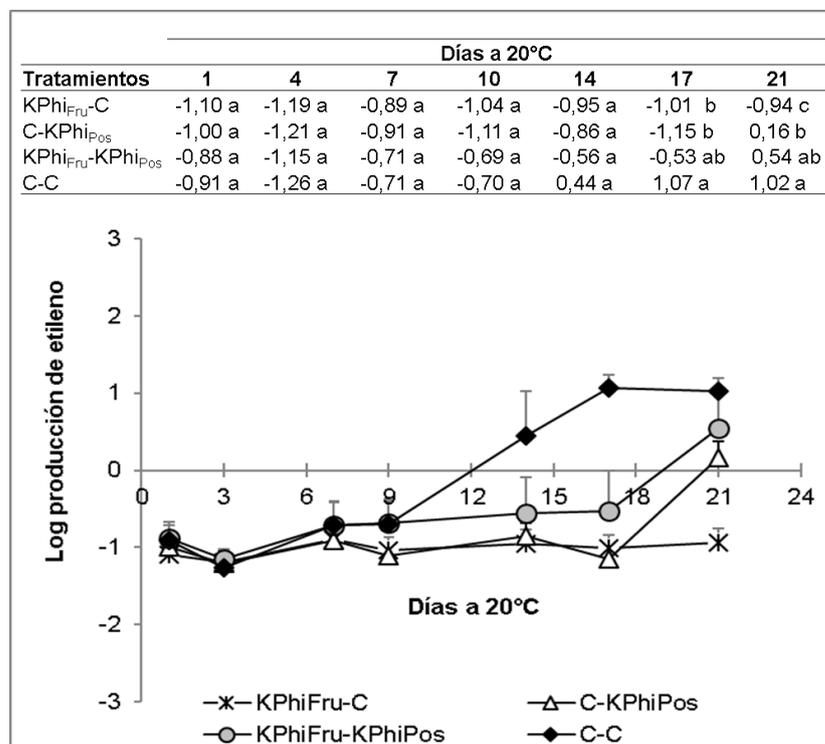
a)



**Figura 16.** Tasa respiratoria ( $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha durante las temporadas: a) 2013-2014 y b) 2014-2015. Los frutos analizados fueron incubados a  $20^\circ\text{C}$  y previamente almacenados durante 4 meses a  $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , 95%HR. Los datos de la tabla para cada tratamiento y día corresponden al de las dos años (2014 y 2015). Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 8 frutos.

La producción de etileno en la tercera temporada (año 2016) difirió con el tratamiento aplicado, siendo significativa la interacción Tratamiento x Días a  $20^\circ\text{C}$  ( $p < 0,0001$ ). Los frutos tratados con KPhi, principalmente KPhi<sub>Fru</sub>-C (aplicación en precosecha), mostraron un climaterio retrasado y menor producción de etileno respecto a los controles (C-C, sin KPhi en precosecha ni en poscosecha) (Figura 17).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para tasa respiratoria ( $p = 0,7159$ ), ni en su evolución en el tiempo (efecto de interacción Tratamiento x Días a 20°C;  $p = 0,9882$ ).



**Figura 17.** Producción de etileno ( $\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) transformada por Log, en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha y/o en poscosecha en el año 2016. Los frutos analizados fueron incubados a 20°C, y previamente habían sido almacenados durante 4 meses a  $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , 95%HR. Las letras indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 8 frutos.

### 3.4. Evaluación sensorial.

No hubo efectos de interacción Tratamiento x Año ( $p > 0,05$ ) ni diferencias estadísticas entre los tratamientos con KPhi para ninguno de los atributos analizados, al finalizar el almacenamiento en frío y la vida comercial. Los panelistas detectaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) para el factor Año, en la textura y acidez de la fruta al finalizar el almacenamiento en frío, y en los tres atributos, al finalizar la vida comercial. Los frutos analizados al finalizar el almacenamiento en frío fueron valorados por el panel con un mayor valor de textura, similar sabor característico y menor valor de acidez en el año 2014 respecto del 2015 (Tabla 10). Al finalizar la vida comercial, los panelistas percibieron mayor textura, sabor característico y acidez en los frutos del

año 2014 respecto del año 2015, independientemente del tratamiento con KPhi aplicado (Tabla 10).

**Tabla 10.** Textura, sabor característico y acidez de frutos de kiwi al finalizar el almacenamiento refrigerado (4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR) y vida comercial (4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR + 7 días a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR), según un panel de jueces semi-entrenados (6 a 8 jueces).

Años	Tratamientos <sup>1</sup>	Atributos sensoriales		
		Textura <sup>2</sup>	Sabor característico <sup>3</sup>	Acidez <sup>4</sup>
<b>Salida de frío</b>				
2014	KPhi <sub>PrFl</sub>	2,9±0,1 a	2,8±0,1 a	2,8±0,1 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	3,0±0,1 a	2,7±0,2 a	2,8±0,1 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	2,9±0,1 a	2,7±0,1 a	2,8±0,1 a
	C	3,0±0,1 a	2,8±0,2 a	2,8±0,1 a
	Promedio	<b>3,0±0,1 A</b>	<b>2,8±0,2 A</b>	<b>2,8±0,1 B</b>
2015	KPhi <sub>PrFl</sub>	2,8±0,1 a	2,6±0,2 a	3,1±0,1 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	2,8±0,1 a	2,6±0,2 a	2,8±0,1 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	2,7±0,1 a	2,8±0,2 a	2,9±0,1 a
	C	2,7±0,1 a	2,4±0,2 a	3,1±0,1 a
	Promedio	<b>2,8±0,1 B</b>	<b>2,6±0,2 A</b>	<b>3,0±0,1 A</b>
<b>Vida comercial</b>				
2014	KPhi <sub>PrFl</sub>	3,0±0,1 a	3,1±0,1 a	2,9±0,1 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	3,0±0,1 a	3,4±0,1 a	3,1±0,1 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	3,0±0,1 a	3,4±0,1 a	3,2±0,1 a
	C	2,9±0,1 a	3,4±0,1 a	2,7±0,1 a
	Promedio	<b>3,0±0,1 A</b>	<b>3,3±0,1 A</b>	<b>3,0±0,1 A</b>
2015	KPhi <sub>PrFl</sub>	2,7±0,1 a	2,4±0,2 a	2,7±0,1 a
	KPhi <sub>Fru</sub>	2,5±0,1 a	2,2±0,2 a	2,4±0,1 a
	KPhi <sub>PrFl+Fru</sub>	2,7±0,1 a	2,3±0,1 a	3,0±0,2 a
	C	2,6±0,1 a	2,4±0,2 a	2,6±0,1 a
	Promedio	<b>2,6±0,1 B</b>	<b>2,4±0,2 B</b>	<b>2,7±0,1 B</b>

<sup>1</sup>Tratamientos con KPhi en precosecha en distintos estados fisiológicos: KPhi<sub>PrFl</sub>: una aplicación en prefloración, KPhi<sub>Fru</sub>: 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, KPhi<sub>PrFl+Fru</sub>: una aplicación en prefloración y 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, C: plantas no tratadas (Control).

<sup>2</sup>Textura: 1: extremadamente blando; 2: ligeramente blando a blando; 3: agradable; 4: ligeramente duro a duro.

<sup>3</sup>Sabor característico: 1: escaso o alcohólico; 2: bueno; 3: satisfactorio; 4: muy satisfactorio.

<sup>4</sup>Acidez: 1: muy poco ácido; 2: poco ácido; 3: agradable; 4: algo ácido; 5: extremadamente ácido.

Letras minúsculas diferentes en una misma columna y momento de evaluación (salida de frío o vida comercial) indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Letras mayúsculas diferentes en una misma columna y momento de evaluación (salida de frío o vida comercial) indican diferencias significativas entre años (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ).

Tampoco se encontraron diferencias entre tratamientos en la tercera temporada, cuando se evaluó la aplicación precosecha, poscosecha y su combinación, tanto al finalizar el almacenamiento en frío como la vida comercial ( $p > 0,05$ ) (Tabla 11).

**Tabla 11.** Textura, sabor característico y acidez de frutos de kiwi al finalizar el almacenamiento refrigerado (4 meses a  $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , 95% HR) y vida comercial (4 meses a  $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , 95% HR + 7 días a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 90% HR), según un panel de jueces semi-entrenados (6 a 8 jueces) (año 2016).

Tratamientos <sup>1</sup>	Atributos sensoriales		
	Textura <sup>2</sup>	Sabor característico <sup>3</sup>	Acidez <sup>4</sup>
	<b>Salida de frío</b>		
<b>KPhi<sub>Fru</sub> - C</b>	2,9±0,1 a	2,2±0,1 a	2,7±0,2 a
<b>C - KPhi<sub>Pos</sub></b>	3,1±0,1 a	2,2±0,1 a	3,1±0,2 a
<b>KPhi<sub>Fru</sub> - KPhi<sub>Pos</sub></b>	2,7±0,1 a	2,3±0,1 a	2,9±0,2 a
<b>C - C</b>	2,9±0,1 a	2,2±0,1 a	3,1±0,2 a
	<b>Vida comercial</b>		
<b>KPhi<sub>Fru</sub> - C</b>	2,8±0,09 a	2,3±0,2 a	2,5±0,1 a
<b>C - KPhi<sub>Pos</sub></b>	2,7±0,09 a	2,3±0,2 a	2,4±0,1 a
<b>KPhi<sub>Fru</sub> - KPhi<sub>Pos</sub></b>	3,0±0,10 a	2,4±0,2 a	2,6±0,1 a
<b>C - C</b>	2,6±0,09 a	2,4±0,2 a	2,5±0,1 a

<sup>1</sup>Tratamientos con fosfito: **KPhi<sub>Fru</sub>-C**: seis aplicaciones foliares durante el desarrollo del fruto; **C-KPhi<sub>Pos</sub>**: sin fosfito en precosecha y tratada en una solución de fosfito en poscosecha; **KPhi<sub>Fru</sub>-KPhi<sub>Pos</sub>**: fruta tratada en precosecha y en poscosecha; **C-C**: sin KPhi precosecha o poscosecha.

<sup>2</sup>Textura: 1: extremadamente blando; 2: ligeramente blando a blando; 3: agradable; 4: ligeramente duro a duro.

<sup>3</sup>Sabor característico: 1: escaso o alcohólico; 2: bueno; 3: satisfactorio; 4: muy satisfactorio.

<sup>4</sup>Acidez: 1: muy poco ácido; 2: poco ácido; 3: agradable; 4: algo ácido; 5: extremadamente ácido.

Letras diferentes en una misma columna y momento de evaluación (salida de frío o vida comercial) indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ).

#### 4. DISCUSIÓN.

El asperjado de las plantas de kiwi con KPhi en prefloración o durante el crecimiento del fruto y su combinación no afectó el contenido de materia seca, firmeza y color de pulpa en los frutos analizados al momento de la cosecha en ninguna de las dos temporadas (cosechas de los años 2014 y 2015). Tampoco se encontró un efecto del asperjado con KPhi durante el crecimiento del fruto sobre estos índices evaluados

a cosecha en el 2016. En los tres años de experimentos, el contenido de materia seca alcanzó al menos 16%, valor que estuvo relacionado con el mínimo contenido de SST aceptable en el fruto maduro para consumo (cerca a 13°Brix). El año 2015 presentó características particulares que permitieron una mayor acumulación de materia seca, alcanzando un valor de alrededor de 18,8% en promedio de los tratamientos de precosecha, que se correlacionó con un valor más alto de contenido de SST en el fruto maduro (16,5°Brix).

Esta falta de efecto debido a los tratamientos con KPhi en el contenido de materia seca y contenido de SST indicaría que este bioestimulante no modificó la tasa de acumulación de materia seca o el metabolismo de los carbohidratos en los frutos. En particular, el KPhi mostró efecto sobre el contenido de SST y la AT sólo en la temporada de cosecha 2014, sobre todo cuando las plantas se asperjaron en prefloración, alcanzando menores valores respecto al resto de los tratamientos. Probablemente, este efecto se haya manifestado por una combinación entre los tratamientos y las condiciones ambientales particulares de ese año. En la Figura I del APÉNDICE se muestran los registros de temperaturas media, máxima y mínima media mensual, heliofanía relativa media mensual de todo el ciclo del cultivo (desde noviembre a mayo), correspondientes a las temporadas 2013-2014 y 2014-2015. Es difícil identificar cuál de estas variables podría explicar la menor acumulación de SST y AT en los frutos tratados con KPhi en la temporada 2013-2014. Probablemente la respuesta observada se deba a una combinación de más de una variable climática en interacción con otros factores no contemplados en este trabajo de Tesis.

Burdon y Lallu (2011) mencionaron que las condiciones ambientales propias de cada lugar y de cada año y las prácticas productivas pueden modificar la tasa de acumulación de SST, y con ello, el estado de madurez del fruto. Es decir que en el efecto de interacción entre las condiciones climáticas propias de cada año y los tratamientos con KPhi, estarían involucrados otros factores relacionados con las características propias de la plantación y del lote, y el manejo agronómico particular de cada año.

Como el efecto del asperjado precosecha con KPhi sobre algunos índices de madurez de los frutos fue observado en el momento de cosecha sólo en una temporada de un total de tres, no hay suficientes evidencias para demostrar que los Phi pudieran modificar la dinámica de la maduración organoléptica de los frutos de kiwi cv. 'Hayward' mientras se encuentran en la planta.

Independientemente de los tratamientos con KPhi, las condiciones del año modificaron la firmeza, el color de la pulpa y la materia seca acumulada a cosecha. En los meses de noviembre, diciembre y enero se registraron temperaturas máximas y mínimas más altas en el 2014 respecto al 2015 (Figuras I y III del APENDICE), lo que está asociado con una menor acumulación de materia seca y menor firmeza de la fruta, debido a que los fotosintatos son derivados mayormente a crecimiento vegetativo y no a los frutos (Snelgar *et al.*, 2005). Estos autores sugirieron que las temperaturas diurnas promueven la fotosíntesis, pero si la temperatura se mantiene elevada por la noche, ello se asocia con una mayor tasa respiratoria y una menor acumulación de materia seca. Esta es una de las razones por las que las zonas que presentan noches con temperaturas templadas a frescas fundamentalmente en verano, por lo general cercanas a la costa marítima, son las más aptas para la producción de kiwi porque se promueve una alta acumulación de materia seca que se asocia con un fruto de muy buen sabor cuando alcance la madurez de consumo.

Según Hopkirk *et al.* (1989), un aumento de la temperatura en los meses de otoño retrasa la degradación del almidón y la acumulación de sólidos solubles, prolongándose el ciclo productivo. En esta situación y si las condiciones del cultivo son propicias, la materia seca puede seguir aumentando en el fruto (Hall y Snelgar, 2008). Comparando las temperaturas de marzo y abril de ambas temporadas (Figuras I, IV y V del APÉNDICE) surge que hubo temperaturas algo superiores durante el año 2015, lo cual también explicaría el mayor contenido de materia seca detectado en los frutos respecto al año 2014. Similares condiciones de temperatura máxima y mínima se registraron en el año 2016 respecto al 2014 (Figura I del APÉNDICE), siendo similar el contenido de materia seca que alcanzaron los frutos a cosecha.

Como se mencionó en la INTRODUCCIÓN GENERAL, el calcio es uno de los micronutrientes que más relación tiene con la firmeza y el ablandamiento de los frutos en poscosecha. En la planta, el calcio es transportado desde la raíz hacia las hojas y frutos por el xilema (Clark y Smith, 1991). Estos autores demostraron que su acumulación en el fruto de kiwi ocurre mayoritariamente (hasta el 75% del total) durante las primeras ocho semanas desde el cuajado, en coincidencia con el cese de la división celular. Tal lo discutido anteriormente, las condiciones climáticas inciden sobre la acumulación de materia seca y también podrían influir sobre la acumulación de éste y de otros nutrientes, modificando la composición mineral del fruto y su comportamiento poscosecha. Este tema de estudio, relacionado con el efecto tanto de las variables climáticas preponderantes en el sudeste de la provincia de Buenos Aires,

como de la nutrición mineral, sobre el contenido de micronutrientes del fruto de kiwi, principalmente calcio, y su asociación con el comportamiento en poscosecha, podría ser abordado en futuras investigaciones.

En los frutos climatéricos, el inicio de los cambios físicos y bioquímicos relacionados con la maduración organoléptica, que incluyen el ablandamiento, es inducido por un marcado aumento de la producción de etileno, por activación de su autocatálisis (Giovanoni, 2004; Pech *et al.*, 2013; Tucker, 2017). Es decir que un fruto pre-climatérico pasa de tener una producción de etileno basal o imperceptible (“Sistema 1”) a una producción exponencial de la hormona por activación de la autocatálisis (“Sistema 2”), lo cual dispara la maduración organoléptica (McMurchie *et al.*, 1972; Pech *et al.*, 2013).

A diferencia de la mayoría de los frutos, el kiwi tiene la particularidad de ablandarse (pérdida de alrededor del 80% de la firmeza de cosecha) durante el almacenamiento en frío aún mientras no produce niveles detectables de etileno (Hewett *et al.*, 1999; Antunes, 2007; Atkinson *et al.*, 2011; Mitalo *et al.*, 2019). El incremento en la producción de etileno asociado al climaterio (producción autocatalítica) ocurre en la tercera fase de la curva de ablandamiento, cuando la maduración organoléptica se encuentra en estado avanzado y el fruto presenta madurez de consumo (entre 6 y 8 N) (Schröder y Atkinson, 2006; Atkinson *et al.*, 2011).

Aunque el etileno pareciera no ser indispensable en el proceso de ablandamiento del kiwi, Atkinson *et al.* (2011) demostraron que frutos de kiwi en madurez de consumo (fase 3), mutantes para la ACC oxidasa, se mantenían firmes en ausencia de etileno y se ablandaban si eran tratados con etileno exógeno. De esta manera se comprobó que el etileno tiene un rol fundamental en la regulación de la transcripción de las enzimas que actúan en las últimas fases de la curva de ablandamiento (fases 3 y 4, Figura 3 de la INTRODUCCIÓN GENERAL).

La modulación del ablandamiento en el fruto de kiwi fue estudiada en profundidad recientemente. Mworira *et al.* (2012) reportaron que las bajas temperaturas (4°C) y también el etileno inducen la transcripción de las enzimas de ablandamiento PGs, PLs y EXP. Asiche *et al.* (2018) concluyeron que la maduración organoléptica en el kiwi está gobernada por tres conjuntos de genes diferentes: los que responden al estímulo del etileno, los que responden a las bajas temperaturas y los que responden a ambos estímulos. Mitalo *et al.* (2019) demostraron que las bajas temperaturas (5°C) inducen la expresión de genes codificantes para las enzimas PME, PG y EXP, pero no para la xiloglucano endotransferasa (XET2) en frutos de kiwi cv. ‘Hayward’.

En este trabajo de Tesis probablemente la baja temperatura durante el almacenamiento indujo la síntesis de las enzimas involucradas en la degradación de almidón ( $\alpha$  y  $\beta$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa) (Hu *et al.*, 2016; Asiche *et al.*, 2018) y las que actúan en el ablandamiento del fruto durante las primeras fases (PME, PG, galactosidasa) (Schröder y Atkinson, 2006). No obstante, en la segunda y tercera temporada (años 2015 y 2016) se detectó menor ablandamiento en algunos tratamientos con KPhi respecto al control a la salida de frío, en frutos que por su firmeza se encontraban próximos a madurez de consumo. Estas diferencias no pueden ser explicadas sólo por la menor producción de etileno de los frutos tratados con KPhi, ya que en el muestreo inicial (día 1 a 20°C) realizado en los frutos almacenados por 4 meses en frío no se detectaron diferentes niveles respecto al control, mostrando los frutos de todos los tratamientos y el control una producción extremadamente baja (Figuras 15b y 17).

En vida comercial (7 días a 20°C), la mayor firmeza en los frutos en los que se aplicó KPhi, fundamentalmente por asperjado de las plantas durante el desarrollo del fruto o en combinación con la inmersión en poscosecha respecto al control, tampoco podría adjudicarse sólo a la menor tasa de producción de etileno medida a los 7 días, ya que ello sólo ocurrió en una de tres temporadas (Figuras 15 y 17). Al igual que a la salida de frío, la tasa de producción de etileno fue extremadamente baja en vida comercial en todas las temporadas evaluadas, tanto en los frutos tratados con KPhi como en los frutos control.

Los resultados de esta Tesis indican que el KPhi retrasa el incremento respiratorio asociado al climaterio (detectado en 2 de 3 años de experimentación). También deprime la producción de etileno, ya que los frutos de al menos alguno de los tratamientos con KPhi produjeron menos etileno que los controles en las tres temporadas, con un retraso en los días en los que se detectó el incremento asociado a la maduración organoléptica. Si bien parece haber un cierto desfasaje entre la causa (retraso en el climaterio, con reducción en la tasa de producción de etileno) y el efecto (menor ablandamiento), no se puede descartar que a nivel celular el KPhi y su efecto sobre el etileno afecte la síntesis o la actividad de enzimas específicas del fruto de kiwi involucradas en su ablandamiento como la PG (Atkinson *et al.*, 2011), PL1 y XET1, que son inducidas sólo por el etileno (Mitalo *et al.*, 2019).

Un reciente estudio realizado en kiwi ha mostrado que la tasa de ablandamiento del fruto también puede diferir con la composición de la pared celular (Fullerton *et al.*, 2020). Un mayor contenido de xiloglucanos (hemicelulosa) embebidos en las fibras de

celulosa, dándole mayor integridad estructural a la pared y un acceso más dificultoso a los sustratos de las enzimas, fueron asociados con genotipos con una tasa de ablandamiento más baja.

Para Fullerton (2015), las células del pericarpio del fruto de kiwi en su estado maduro generalmente no presentan pared secundaria con deposición de lignina. Sin embargo, se ha demostrado que el contenido de lignina en las células del pericarpio externo del fruto de kiwi puede aumentar hasta 9 veces en el período comprendido entre la cosecha y los 100 días de almacenamiento refrigerado, debido a que las bajas temperaturas promueven su síntesis (Li *et al.*, 2017). En ese sentido, se podría proponer que la deposición de lignina y suberina relacionada con una de las respuestas a estreses abióticos (Bhardwaj *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2017) y a la aplicación de KPhi (Olivieri *et al.*, 2012; Lobato *et al.*, 2018) podrían aumentar la integridad de la pared celular. Por tanto, la mayor firmeza en los frutos tratados con KPhi también podría estar debida al mayor contenido de lignina depositado en las células del tejido del pericarpio externo (Capítulo 2).

Los mecanismos por los cuales el Phi puede tener una función bioestimulante aún no han sido totalmente dilucidados. Los compuestos inorgánicos como los Phi pueden modificar el potencial osmótico, el pH y el potencial redox de las células; también disparar diferentes rutas metabólicas en respuesta a estrés (du Jardin, 2015). En papa, los Phi mostraron efectos positivos sobre parámetros fisiológicos asociados a rendimiento y calidad del cultivo, y la respuesta se relacionó en parte con la inducción de la sobreexpresión de genes involucrados en el metabolismo primario (Guzzo, 2016). En su trabajo de Tesis, reportó que los Phi fueron los responsables de provocar cambios en los Fotosistema I y II, en el Ciclo de Calvin, en el metabolismo del carbono y de aminoácidos y en la síntesis de proteínas, lo que fue publicado recientemente por Feldman *et al.* (2020).

Estudios transcriptómicos realizados en papa demuestran que los Phi modifican la expresión de cientos de genes (Burra *et al.*, 2014). Como ocurre con otros bioestimulantes con efecto elicitor, los Phi producen un efecto *priming*, dependiente de las señales inducidas por el SA, con un aumento de su concentración que es promovido y regulado por la PAL, enzima que aumenta su actividad hasta 10 veces durante el *priming* (Massoud *et al.*, 2012; Burra *et al.*, 2014).

Se ha demostrado que el KPhi induce vías de síntesis de etileno, con aumento de la expresión de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato oxidasa (ACC oxidasa) y que el etileno es necesario para inducir la síntesis de JA (Guzzo, 2016). El KPhi induce

un efecto tipo *priming* que depende de la vía JA/etileno y de la resistencia sistémica, dependiente de la vía del SA. El etileno regula la intercomunicación (*crosstalk*, según la sigla en inglés) entre las vías JA/etileno y SA vía NPR1 (*Non expressor of pathogenesis-related genes1* o *NPR1*), que es co-activador de la transcripción de genes de respuesta de defensa (Fu y Dong, 2013).

El aumento de la concentración de SA debido al efecto *priming* también podría estar contribuyendo con el mantenimiento de la calidad poscosecha. Algunos trabajos demuestran que la aplicación de SA mantiene la calidad en frutillas (Babalar *et al.*, 2007), mejora el color en pimientos (Jimenez García *et al.*, 2018) y retrasa la maduración organoléptica y la senescencia en banana (Srivastava y Dwivedi, 2000), durazno (Tareen *et al.*, 2012, 2017; Razavi *et al.*, 2014), frutilla (Shafiee *et al.*, 2010), kiwi (Zhang *et al.*, 2003; Yin *et al.*, 2013), manzana (Mo *et al.*, 2008), mango (Hong *et al.*, 2014) y uva (Marzouk y Kassem, 2011; Champa *et al.*, 2015). El SA contribuye con la integridad de la membrana celular, reduce la síntesis de etileno, aumenta la actividad del sistema antioxidante, la acumulación de proteínas de choque térmico (HSP) y alivia la ocurrencia del daño por frío regulando la actividad de las enzimas PAL y polifenoloxidasas (PPO) (Aghdam *et al.*, 2016). Esos podrían ser algunos mecanismos por los cuales el SA mantiene la calidad poscosecha. Además, el SA reduce la incidencia de podredumbres y mejora las propiedades nutraceuticas de diferentes frutas y hortalizas, lo cual será ampliado en los Capítulos 2 y 3, respectivamente.

En ese sentido, Massoud *et al.* (2012) determinaron en *Arabidopsis* que la aplicación de bajas concentraciones de fosfito (<10 mM) activan la ruta de defensa dependiente del SA, con aumento del mismo. Coincidentemente, Lovatt y Mikkelsen (2006) sugirieron que el Phi, así como otros elicitores, promoverían la ruta del ácido shikimico, y con ello, un aumento del nivel de SA, entre otras respuestas. El aumento en la concentración del SA en los frutos de las plantas tratadas con Phi podrían justificar la menor producción de etileno respecto al control, ya que Zhang *et al.* (2003) reportaron que la aplicación de ácido acetil-salicílico (ASA) en kiwi produjo una disminución de la actividad de las enzimas relacionadas con la síntesis de etileno (ACC sintasa y ACC oxidasa). Yin *et al.* (2013) demostraron que el ASA, derivado del SA, inhibe la síntesis de etileno en kiwi y también su percepción. En su trabajo, demostraron que el ASA reprime la expresión de receptores de etileno que se inducen por la presencia de etileno (genes *AdER1*, *AdETR1*, *AdETR2*, *AdETR3*), reduciendo en consecuencia la percepción del mismo.

Si bien el efecto difirió con la temporada, el asperjado de las plantas con KPhi durante el desarrollo del fruto mostró una buena efectividad, al resultar los frutos de este tratamiento más firmes que los controles en las tres temporadas, cuando se fueron evaluados en vida comercial luego de 4 meses de almacenamiento refrigerado.

## 5. CONCLUSIONES.

Hay evidencias para rechazar la hipótesis que sostenía que *el fosfito de potasio retrasa el ablandamiento y promueve la acumulación de sólidos solubles y de materia seca en frutos de kiwi y esa mejora se relaciona con una mayor calidad sensorial durante el almacenamiento prolongado.*

La aplicación de fosfito tanto en precosecha como en poscosecha disminuyó el ablandamiento de la fruta al finalizar la vida comercial, luego del almacenamiento refrigerado, sin afectar significativamente otros índices de madurez y de calidad como color de pulpa, contenido de sólidos solubles totales y de materia seca o acidez titulable. Los tratamientos no afectaron ni mejoraron la calidad sensorial del producto almacenado.

Hay evidencias para rechazar parcialmente la hipótesis que sostenía que *las aplicaciones de fosfito durante el crecimiento del fruto producen una mejora de las características sensoriales y nutraceuticas.*

El asperjado con KPhi durante el crecimiento del fruto de kiwi no produjo una mejora de sus características sensoriales cuando fue evaluado al finalizar el almacenamiento en frío y en vida comercial.

Hay evidencias para aceptar parcialmente la hipótesis que sostenía que *el tratamiento con fosfito deprime la producción de etileno y la respiración en el fruto y dispara respuestas bioquímicas asociadas a la inducción de defensas.*

El tratamiento con fosfito deprimió la producción de etileno en los tres años de evaluación y también redujo la tasa respiratoria de los frutos de kiwi (en dos de tres temporadas).

## **CAPITULO 2: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FOSFITO DE POTASIO SOBRE EL DESARROLLO DE BOTRYTIS EN FRUTOS ALMACENADOS EN FRÍO.**

Este capítulo responde a las siguientes hipótesis de trabajo:

**H2.** El fosfito de potasio induce respuestas en el fruto que se asocian con una mayor tolerancia al desarrollo de podredumbre gris.

**H4.** El efecto protector del fosfito es mayor cuando son aplicados en floración y en poscosecha.

**H6.** El tratamiento con fosfito deprime la producción de etileno y la respiración en el fruto y dispara respuestas bioquímicas asociadas a la inducción de defensa.

Los resultados (temporada 2014-2015) se presentaron en el VIII International Symposium of Kiwifruit (18-22 de septiembre del 2014, Duijiangyan, China) y en el XV Congreso Latinoamericano de Fisiología Vegetal – XXX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal (Mar del Plata). Los resultados de la última temporada de cosecha (2016) se han presentado en el II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha, realizado en octubre 2019, en Santiago del Estero, Argentina.

- Presentaciones a Congresos:

Yommi, A., M. Feldman, F. Olivieri, M.C. Guzzo, P. Suarez, V. Quillehauquy and A. Andreu. 2014. Phosphites improve tolerance to gray mold and induce defense mechanisms in the 'Hayward' kiwifruit. VIII International Symposium of Kiwifruit, Duijiangyan, Chengdu, China, 18/9 al 22/9 del 2014, p. 93.

Yommi, A., M. Feldman, F. Olivieri, M.C. Guzzo, P. Suarez, V. Quillehauquy and A. Andreu. 2014. Los fosfitos mejoran la tolerancia a la podredumbre gris e inducen mecanismos de defensa en el kiwi 'Hayward'. Resúmenes de trabajos presentados en el XV Congreso Latinoamericano de Fisiología Vegetal – XXX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, Mar del Plata. p 79.

Yommi, A., M.C. Baeza, M.C. Sánchez, V. Quillehauquy, C. Paz, P.A. Gómez y A.B. Andreu. 2019. Efectos del fosfito sobre Botrytis cinerea en frutos de kiwi 'Hayward'. Libro de Resúmenes II Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha: libro de resúmenes /compilado por Silvia del C. Rodriguez... [et. al.]. - 1a ed.- Santiago del Estero: Universidad Nacional de Santiago del Estero - UNSE. Facultad de Agronomía y Agroindustrias. ISBN 978-987-1676-88-0. p. 19.

- Capítulo de libro:

Yommi, A., F.P. Olivieri, M.L. Feldman, P.A. Suarez, M.C. Guzzo, Quillehauquy, V., Casanovas, E.M., G. Fasciglione, Baeza, C. y A. Andreu. 2016. Vol IV. La aplicación de fosfito en Kiwi como herramienta tecnológica para el agregado de valor. En: Vinculación Tecnológica: de la Universidad al Medio Socio-Productivo. Ed. EUDEM, UNMDP. Mar del Plata. pp. 67-72. ISBN 978-987-544-724-0.

## 1. INTRODUCCIÓN.

*B. cinerea* es un hongo que causa la podredumbre gris o podredumbre peduncular del fruto de kiwi y crece en un rango amplio de temperaturas (0 a 30°C), adaptándose a las condiciones de refrigeración (Romanazzi y Feliziani, 2014). En el kiwi almacenado, la incidencia de la podredumbre gris aumenta con el tiempo, asociado a un aumento de la susceptibilidad del fruto a la enfermedad.

Si bien la incidencia de pudriciones por *B. cinerea* puede variar con el manejo agronómico y con las condiciones ambientales de cada temporada (Pennycook, 1985), el hongo es omnipresente y puede ocasionar cuantiosas pérdidas de producto, además de elevar los costos por la necesidad de re-empaque de la fruta en destino (Droby y Lichter, 2007).

La infección primaria proviene de los conidios que ingresan por la herida de cosecha durante o después de la cosecha. La infección secundaria se produce cuando el micelio de un fruto enfermo ingresa a otros que se encuentren alrededor (Romanazzi y Feliziani, 2014). *B. cinerea* es un hongo necrotrófico que libera enzimas, toxinas y compuestos que inducen la muerte de la célula infectada y de esa manera, va colonizando el tejido del hospedante (Williamson *et al.*, 2007; Romanazzi y Feliziani, 2014; González-Fernández *et al.*, 2015).

Como ya fue mencionado en la INTRODUCCIÓN GENERAL, el manejo de la podredumbre gris causada por *B. cinerea* debe basarse en una combinación de diferentes estrategias (Droby y Lichter, 2007). Estos autores mencionan que con algunas prácticas culturales, el uso de algún método de predicción temprano y haciendo un buen curado de la fruta en poscosecha, se ha logrado reducir la incidencia de *Botrytis* en kiwi en Nueva Zelanda.

Para que haya enfermedad es necesario que el hospedante sea susceptible. En su trabajo, Wurms (2005) comparó la susceptibilidad de los frutos de kiwi cv. 'Hayward' y cv. 'Hort16A' a la podredumbre gris, inoculando los frutos con *B. cinerea*. Luego del curado, la mayor tolerancia del cv. 'Hort16A' respecto al cv. 'Hayward' se asoció con la presencia de fenoles con actividad fungitóxica y con un aumento de la actividad de quitinasas en el pericarpio de los frutos, expresadas mayormente luego de tres meses de almacenamiento refrigerado que inmediatamente después del curado. Por otro lado, este autor encontró en el cv. 'Hayward' presencia de compuestos fenólicos con actividad fungitóxica, así como un aumento de la actividad de glucanasas, no de quitinasas, al finalizar los tres meses de almacenamiento. Ello indica que las respuestas inducidas por el curado se mantienen durante el almacenamiento, lo que

otorga un cierto grado de tolerancia al desarrollo de la podredumbre gris. Ippolito *et al.* (1997) encontraron que la actividad de las enzimas PAL y PPO aumentó (de 7 a 3 veces, respectivamente) en los frutos durante los primeros 4 días de curado a 15°C en comparación con los que habían sido almacenados a 0°C sin previo curado. Como respuesta a esta mayor actividad enzimática en los frutos curados, determinaron un aumento del contenido de ácidos fenólicos de entre el 10 y el 50%.

En el mismo sentido, otros autores reportaron que el aumento de los compuestos fenólicos y su polimerización podría ser uno de los mecanismos de resistencia del fruto al impedir la invasión del patógeno a los tejidos del mismo (Ruiz-García y Gómez-Plaza, 2013). Por consiguiente, una estrategia de control podría basarse en el aumento de la resistencia de las plantas al desarrollo fúngico mediante el uso de inductores de defensa como el Phi. El Phi tiene efectos sobre el metabolismo primario y secundario de la planta (Guzzo, 2016; Feldman *et al.*, 2020). Aplicado durante el cultivo de papa, promovió la acumulación de compuestos secundarios, fitoalexinas, la inducción de proteínas relacionadas con la patogénesis (proteínas-PR) como  $\beta$ -1,3-glucanasas y quitinasas, así como de la PPO y peroxidasas (POD), reduciendo la susceptibilidad a patógenos (Lobato *et al.*, 2008, 2011). También se ha demostrado en papa que el Phi ha disparado una respuesta hipersensible y un efecto *priming*, preparando a la planta o al tubérculo para la defensa ante la infección de un patógeno (Huang *et al.*, 2018). Además, otros autores han comprobado que el KPhi induce la síntesis de compuestos fenólicos (Araujo *et al.*, 2015).

Todas estas respuestas de defensa están mediadas por el SA, JA y etileno. Se demostró que ambas hormonas, JA y SA, junto con el etileno, inducen una respuesta tipo *priming*, evidenciado por un aumento del contenido de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en los frutos tratados respecto a los controles luego de haber sido inoculados con hongos patógenos (Glowacz y Rees, 2016). Este aumento del contenido de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es la señal para comenzar la inducción de la resistencia, con la expresión de genes que codifican las proteínas-PR y enzimas relacionadas con la patogénesis. Guzzo (2016) también demostró que la aplicación de Phi en papa indujo la expresión de genes PR, de genes que participan en la síntesis de la pared celular, en la síntesis de flavonoides y en la regulación de las especies reactivas del oxígeno (EROs) y el mantenimiento de la homeostasis celular, interviniendo la vía del JA/etileno.

Varios autores estudiaron y describieron el efecto *priming* del KPhi en papa (Lobato *et al.*, 2008; Machinandiarena *et al.*, 2012; Guzzo, 2016; Feldman *et al.*, 2020) infectadas con *Phytophthora infestans*. El *priming* es seguido por una serie de

respuestas de defensa de tipo SAR, con síntesis de proteínas relacionadas con la patogénesis, reforzamiento celular y síntesis de flavonoides (Guzzo, 2016).

Las respuestas ante la infección de *B. cinerea* dependen de un mecanismo hormonal en el que intervienen e interactúan distintas vías como la del SA, JA y etileno. El rol del SA en la resistencia a *B. cinerea* aún no está claro (Abuqamar *et al.*, 2017), aunque varios trabajos científicos revisados por Dixon *et al.* (2002) sugieren que actúa como una señal regulando la transcripción de genes relacionados con la patogénesis y en la muerte celular del hospedante inducida por el patógeno. En cultivares de uva resistentes a *B. cinerea*, la acumulación de EROs y la activación de la síntesis de compuestos antioxidantes ha sido relacionado como parte de la respuesta de defensa (Wan *et al.*, 2015).

El patosistema *Botrytis*-tomate fue estudiado por Guzzo (2016). El asperjado de las plantas con KPhi indujo *priming* y una mayor resistencia a la enfermedad. En base a resultados de estudios proteómicos demostró que la inducción de resistencia en tomate requiere las vías de señalización del JA/etileno y del SA. La vía de señales del JA es esencial en la inducción de resistencia a *Botrytis* spp., mientras que el etileno puede tener un rol y una respuesta variable según la especie (Abuqamar *et al.*, 2017). Estos autores reportaron que la infección de un patógeno necrotrófico como *Botrytis* spp. activa la vía JA/etileno, con inducción de la síntesis de enzimas relacionadas con la producción de compuestos fúngicos (fitoalexinas) y de defensa, como fenoles, flavonoides y terpenoides, muchos de ellos asociados al reforzamiento de la pared celular.

El aumento de la resistencia de un cultivar a *B. cinerea* podría alcanzarse mediante la sobreexpresión de diferentes genes relacionados con la síntesis de: 1) proteínas de defensa y fitoalexinas; 2) proteínas inhibidoras de poligalacturonasas liberadas por el patógeno para degradar los componentes de la pared celular; 3) peroxidasa y lignina, que aumenten la defensa estructural de la célula; 4) genes que regulan la síntesis de JA y etileno y su vía de señales relacionada con la defensa (Abuqamar *et al.*, 2017).

Las plantas frutales están repetidamente sometidas a condiciones que predisponen a estreses bióticos y abióticos durante diferentes épocas del año. La ocurrencia de estos estreses en los cultivos podría ser cada vez más frecuente y causados por distintos factores del ambiente (fundamentalmente por temperaturas del aire excesivamente altas o bajas y por exceso o escasez de agua en el suelo, excesiva intensidad de radiación solar, entre otras). Los cambios en el ambiente también conducen a cambios en el tipo y presión de plagas y enfermedades que podrían

afectar a los cultivos. Esta situación representa un desafío para la producción sostenible de alimentos y es una oportunidad para el desarrollo de sustancias amigables con el ambiente aplicadas a la agricultura, entre ellas, los bioestimulantes (Polo y Mata, 2018).

Los bioestimulantes alivian a las plantas de las condiciones adversas de crecimiento, contribuyendo con la captación de nutrientes y con su desarrollo (Tanou *et al.*, 2017). Como se mencionó anteriormente, los bioestimulantes y entre ellos, el Phi, puede contribuir con el control de enfermedades en un esquema de manejo de cultivos más sustentable con el ambiente. No obstante, los antecedentes del uso de Phi como protector de enfermedades en frutales son muy escasos y sólo se reportaron en cítricos (Smilanick, 2011) y manzano (Lutz *et al.*, 2017).

En este capítulo se muestran los efectos de los tratamientos con KPhi, tanto por asperjado foliar de las plantas (tratamientos precosecha) como por inmersión de los frutos (tratamientos poscosecha), sobre la incidencia y severidad de desarrollo de podredumbre gris producida por *Botrytis cinerea* en los frutos de kiwi cv. 'Hayward', al finalizar 3 meses de almacenamiento refrigerado y luego de incubados por 21 días a 20°C. También se muestran los cambios físicos en la piel del fruto y composicionales de los tejidos del pericarpio inducidos por el tratamiento con KPhi.

Los experimentos realizados responden a los siguientes objetivos específicos:

- Determinar el efecto de la aplicación de fosfito de potasio sobre el desarrollo de podredumbre gris.
- Determinar algunos mecanismos de acción del fosfito mediante estudios del metabolismo respiratorio, la producción de etileno, los cambios en el espesor de la piel y el reforzamiento de la pared de los tejidos, como parte de la inducción de defensa.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **2.1. Condiciones de cultivo y descripción de los tratamientos.**

Los tratamientos y condiciones de los experimentos fueron los mismos que los descritos en la sección 2.1. del Capítulo 1.

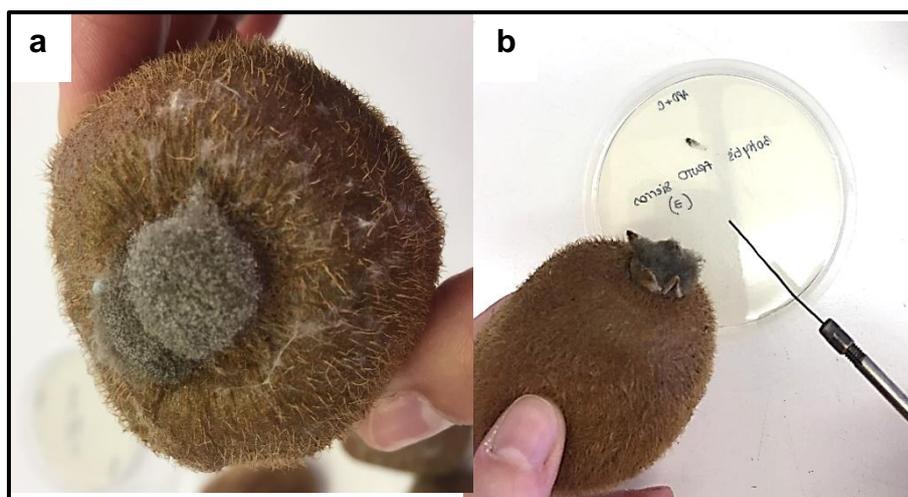
### **2.2. Cosecha, acondicionamiento y condiciones de almacenamiento.**

La cosecha, acondicionamiento y condiciones de almacenamiento fueron los mismos que los descritos en la sección 2.2. del Capítulo 1. El efecto de los tratamientos sobre el desarrollo de podredumbre gris se evaluó mediante inoculación

del patógeno en los frutos previamente almacenados durante 3 meses en cámara de frío a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR.

### 2.3. Obtención del aislamiento, identificación, preparación del inóculo.

Frutos de kiwi con desarrollo de podredumbre gris fueron obtenidos de un empaque de la zona de Batán (Figura 18a). Parte del micelio y esporas del hongo que se desarrollaron en los frutos, fueron sembrados y cultivados en placas de Petri conteniendo medio de cultivo Agar Papa Dextrosa al 2% (APÉNDICE) acidificado con ácido láctico (pH 4,5-5) para inhibir el crecimiento de bacterias contaminantes (Figura 18b). Las placas de Petri fueron incubadas a  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , en oscuridad, durante 3 a 5 días (Barnes, 1978). A partir del crecimiento obtenido se realizaron 12 cultivos monospóricos para obtener colonias purificadas (Figura 19), y de allí se seleccionó el aislamiento monospórico Bat2013-M3, por desarrollar síntomas de la enfermedad más rápidamente cuando se hicieron pruebas de patogenicidad en frutos de kiwi. La identidad de este aislamiento fue confirmada por secuenciación de la región del Espaciador Transcrito Interno (ITS), amplificada por PCR con los iniciadores ITS1 e ITS4 (White *et al.*, 1990), en el Instituto de Genética del INTA Castelar. Luego, por análisis de búsqueda de alineación local o BLAST, comparadas con secuencias del GenBank, utilizando la herramienta del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) (Altschul *et al.*, 1997) se comprobó homología del 99% con la especie *Botrytis cinerea* (GenBank #MN088689.1). El aislamiento Bat2013-M3 fue el utilizado en las inoculaciones de los frutos durante los 3 años de estudio.



**Figura 18.** Fruto con presencia de micelio y esporulación del hongo *Botrytis cinerea* (a); siembra de esporas e hifas del hongo en placa de Petri conteniendo medio de agar papa dextrosa (b).

Para obtener el inóculo, las esporas del aislamiento Bat2013-M3 se sembraron en placas de Petri conteniendo medio de cultivo Agar Extracto de Malta (APÉNDICE), acidificado con ácido láctico (pH 4,5 a 5,0), siguiendo el método publicado por Barnes (1978), con algunas modificaciones. Las placas fueron incubadas a  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , en oscuridad durante 48 h, para que desarrollen micelio, y luego se expusieron durante 15 días a  $18 \pm 2^\circ\text{C}$  en condiciones de alternancia de fotoperíodo de 12 h luz/ 12 h oscuridad, para favorecer la esporulación del hongo.

El crecimiento obtenido en las placas sembradas con el aislamiento Bat2013-M3 y sometidas a esporulación, fue barrido superficialmente con un rastrillo de vidrio estéril, previo agregado de 5mL de agua estéril. La suspensión de esporas obtenida fue filtrada en un recipiente de vidrio esterilizado, cubierto por una malla de tela fina. La concentración de la suspensión fue ajustada en Cámara de Neubauer entre 1,5 a  $2,0 \cdot 10^6$  esporas  $\text{mL}^{-1}$ . Para lograr mayor estabilidad de la suspensión se agregó 10  $\mu\text{L}$  de Tween 80 (0,05%).



**Figura 19.** Obtención de cultivos monospóricos.

#### **2.4. Inoculación de los frutos con *B. cinerea*.**

Los frutos fueron desinfectados por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio (200 ppm) durante 2 minutos, enjuagados con agua y colocados sobre papel absorbente hasta su secado. Posteriormente, se colocaron en bandejas de cartón

alveolares, dentro de bandejas plásticas apilables. Cada unidad experimental contó con 30 frutos y cada tratamiento se realizó por triplicado.

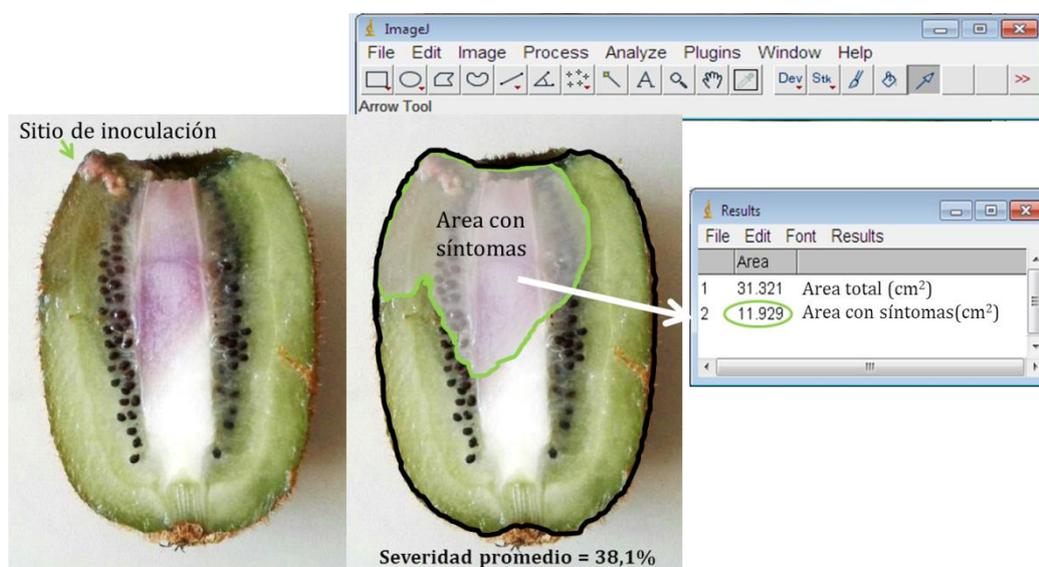
Cada fruto de kiwi se inoculó con 10  $\mu$ L de la suspensión de esporas de *B. cinerea* (15000 a 20000 esporas). El sitio de inoculación fue cercano a la herida peduncular. En el primer año (cosecha 2014), la inoculación del patógeno se realizó sin herir el fruto. Este método de inoculación sin previa herida de la zona a inocular no fue efectivo porque causó enfermedad en un bajo porcentaje de frutos.

Ante la necesidad de lograr un mayor porcentaje de frutos enfermos, en el segundo y tercer año, la inoculación se hizo sobre una herida. La misma fue realizada con la punta de un *tip* recubierto por papel metalizado que permitió esterilizar cada vez que se fue inoculando fruto por fruto. Se contó con un control con herida al que se le agregó agua estéril en lugar de inóculo (Control<sub>(+h-i)</sub>) y un control sin herida y sin inocular (Control<sub>(-h-i)</sub>).

La incubación se realizó a 20°C y alta humedad relativa (alrededor del 90%). En el primer año la incidencia y severidad se evaluó a los 14 días. En los años subsiguientes y debido al diferente grado de avance de la enfermedad, se agregó una evaluación antes o después de los 14 días post-inoculación. En el año 2015 se determinó la incidencia y severidad a los 14 y 21 días post-inoculación, mientras ambas variables se evaluaron a los 10 y 14 días post-inoculación en el año 2016.

## **2.5. Estimación de incidencia y severidad.**

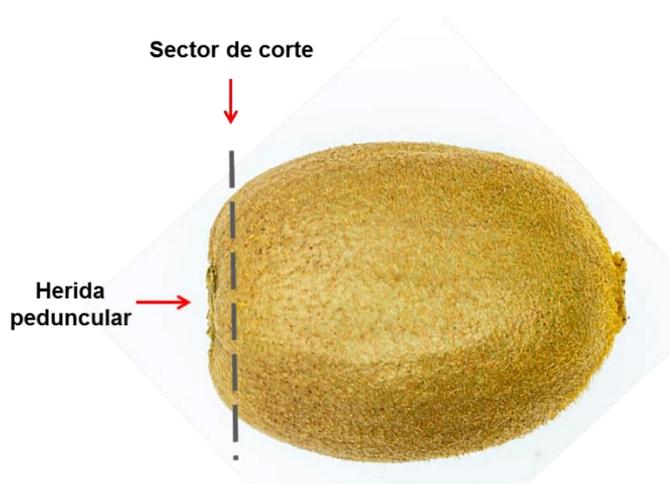
Sobre cada unidad experimental de 30 frutos se calculó la incidencia como el número de frutos enfermos en relación al total, resultado que se expresó en porcentaje. Posteriormente, cada fruto enfermo fue cortado longitudinalmente atravesando la zona inoculada y luego se tomó una imagen con una cámara fotográfica de una de las mitades de cada uno. Se estimó el área con síntomas de la enfermedad y el área total de cada fruto por la interpretación de la imagen con el programa ImageJ (Rasband, 2016). Para ello, como ambas áreas presentaban diferente tonalidad, se señaló el perímetro total del fruto y el perímetro del área enferma mediante un recurso gráfico del programa y se calculó la severidad en base al área de tejido enfermo respecto al área total en porcentaje. En la Figura 20 se muestra un ejemplo de estimación de la severidad del 38,1%.



**Figura 20.** Fruto con síntomas de podredumbre gris y sitio de inoculación (izq.). Cálculo del área o porcentaje afectado con el programa ImageJ (der.).

## 2.6. Medición del espesor de la piel de los frutos de kiwi.

Esta medición se realizó sólo en frutos correspondientes a la tercera temporada (año 2016). Para observar cambios en el espesor de la piel, diez frutos de cada tratamiento tomados al finalizar los 3 meses de almacenamiento en frío, fueron cortados transversalmente alrededor de la zona peduncular (Figura 21). A partir de esa sección del fruto se hicieron cortes de la piel con micrótopo para hacer observaciones de su espesor, utilizando un microscopio Leica Modelo DM500 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania), equipado con una cámara Leica ICC50 HD y software de adquisición de imágenes Leica LAS EZ. La escala interna seteada en el software para la adquisición de imágenes era  $1 \mu\text{m} = 1 \text{mm}$ . La imagen tomada con un aumento de 400 veces permitió analizar secciones de la piel de alrededor de 1,5 mm de largo. Debido a cierta heterogeneidad observada a lo largo de la muestra, el espesor de la piel se midió en 8 a 10 diferentes tramos de la imagen. Cada fruto se evaluó por duplicado. Se presenta el valor promedio de espesor de la piel de cada tratamiento y su error estándar expresado en mm e imágenes representativas de cada tratamiento.



**Figura 21.** Sector de corte a partir del cual se tomó la muestra de piel con un micrótopo para determinar su espesor por microscopía.

### **2.7. Medición de contenido de pared celular y de lignina en el pericarpio externo (reforzamiento del tejido).**

En frutos correspondientes a las temporadas de cosecha 2015 y 2016 se evaluó el contenido de pared celular y lignina en el pericarpio externo, debido a que fue el tejido expuesto a las esporas inoculadas del patógeno.

En el momento de la cosecha y al finalizar los 3 meses de almacenamiento se tomaron de cada fruto alrededor de 2 g de tejido del pericarpio de la zona que rodea la cicatriz peduncular, en un total de 5 frutos por repetición. Las muestras fueron congeladas en nitrógeno líquido y luego conservadas en ultrafreezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ . El tejido se molió agregando nitrógeno líquido hasta su total pulverización.

Para la extracción de lignina se siguió la metodología de Li *et al.* (2017). En una primera etapa, 1 g de tejido molido se mezcló con 4 mL de solución buffer de extracción (100 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 7,8, 0,5% Triton X-100, 0,5% PVP), se agitó durante 30 min y se centrifugó con una Fuerza Centrífuga Relativa (FCR) de 12000 x g durante 15 min a  $4^{\circ}\text{C}$ . El precipitado se resuspendió y enjuagó tres veces en 95% etanol (V/V) y tres veces en una solución 1:2 (V/V) etanol:n-hexano y posteriormente, se secó a  $65^{\circ}\text{C}$  por 12 h en un deshidratador. El peso seco obtenido corresponde al contenido de pared celular, aunque en las muestras del momento de la cosecha, el precipitado también contiene almidón.

En la segunda etapa, 10 mg del extracto seco obtenido se mezcló con 100  $\mu\text{L}$  de ácido tioglicólico y 1 mL de HCl 2M y se llevó a ebullición en baño térmico por 8 h. Los

extractos se enfriaron en agua con hielo, se centrifugaron a 12000 x g durante 20 min a 4°C, al residuo se le agregó 2 mL de NaOH 1M y se incubó por 18 h a temperatura ambiente. Luego de centrifugar nuevamente a 12000 x g por 20 min, se agregó 9,5 mL de NaOH 1 M. Para medir el contenido de lignina, se midió la absorbancia de la muestra a 280 nm con un espectrofotómetro UV-Vis Bio-Rad SmartSpec™ 3000 (Bio-Rad Laboratories Inc., California, USA), usando NaOH 1M como blanco. Cada tratamiento se evaluó por triplicado. Los resultados se expresaron en  $\text{Abs}_{280} \text{ g}^{-1} \text{ PF}$ .

## 2.8. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos.

El diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado con tres repeticiones de cada tratamiento. Debido a la diferente metodología de inoculación utilizada en el año 2014 respecto de 2015, los datos de incidencia y severidad de cada año se analizaron por separado. El factor analizado en todos los casos fue Tratamiento, con 4 niveles:  $\text{KPhi}_{\text{PrFl}}$ ,  $\text{KPhi}_{\text{Fru}}$ ,  $\text{KPhi}_{\text{PrFl+Fru}}$  y C (temporadas 2014 y 2015) y  $\text{KPhi}_{\text{Fru}} - \text{C}$ , C -  $\text{KPhi}_{\text{Pos}}$ ,  $\text{KPhi}_{\text{Fru}} - \text{KPhi}_{\text{Pos}}$  y C - C (2016).

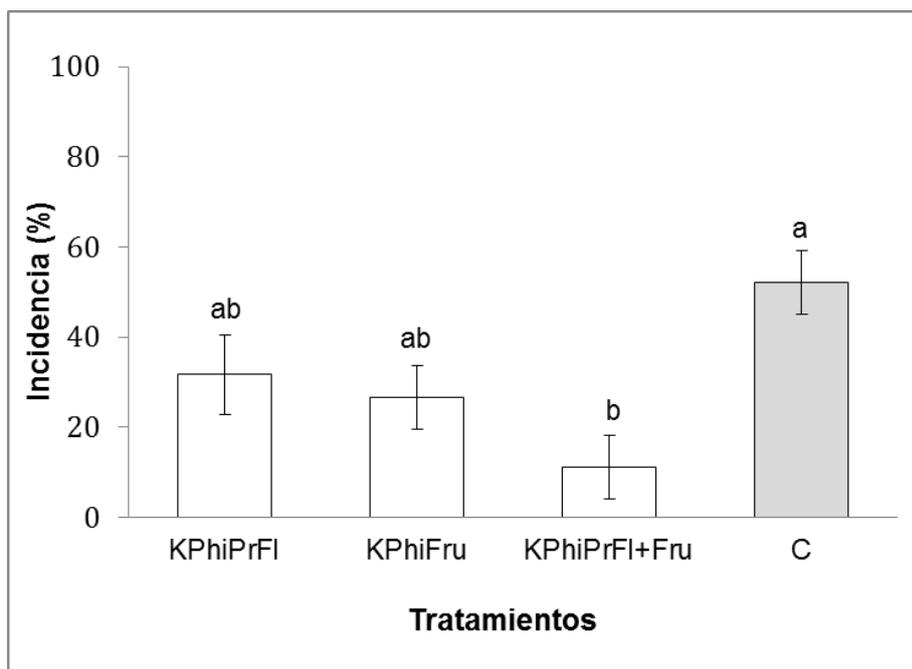
Los datos de todas las variables en estudio fueron analizados mediante ANOVA, determinando la significancia del factor Tratamiento. Ante una significancia menor o igual al 5%, las medias fueron separadas utilizando el test de Tukey-Kramer ( $\alpha = 0,05$ ).

Todos los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico R versión 3.2.3. (R Core Team, 2015).

## 3. RESULTADOS.

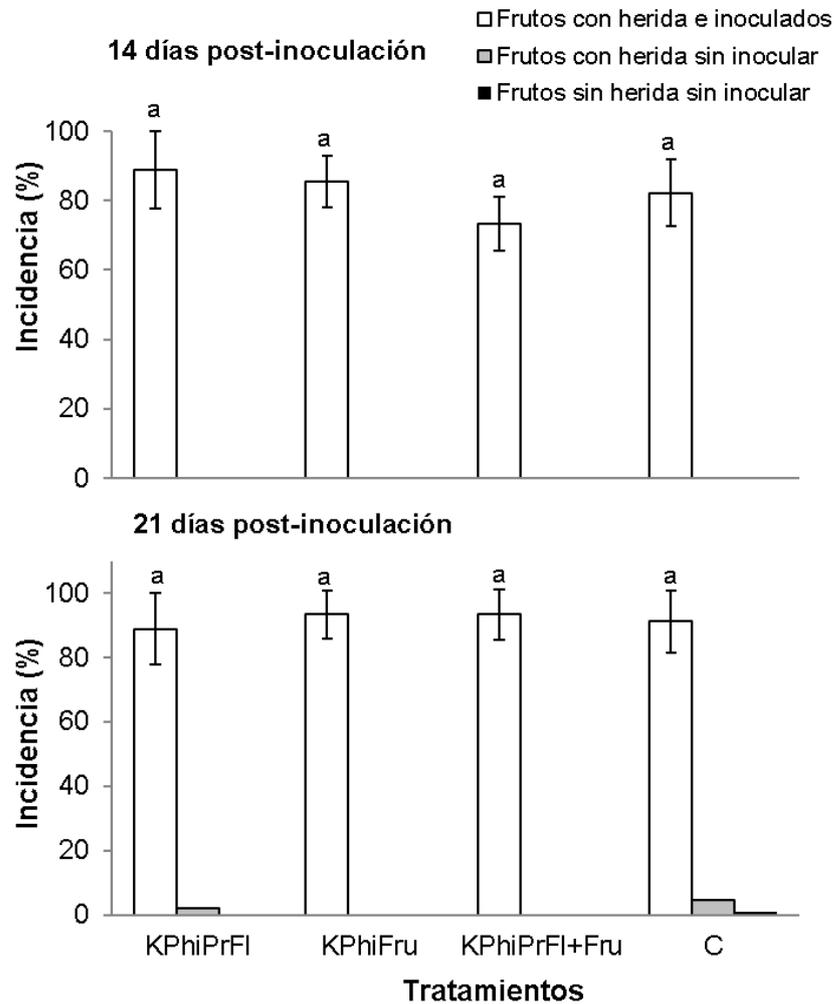
### 3.1. Incidencia y severidad.

Los resultados de los años 2014 y 2015, en los que se evaluaron los tratamientos con KPhi en precosecha, son presentados por separado debido al diferente método de inoculación de *B. cinerea* utilizado en uno y otro año. Para el año 2014, la incidencia de podredumbre gris fue baja en todos los tratamientos, alcanzando un máximo de alrededor del 50% en el Control inoculado a los 14 días post-inoculación (Figura 22). La fruta que recibió el tratamiento con KPhi combinando la aplicación en prefloración y durante el desarrollo del fruto ( $\text{KPhi}_{\text{PrFl+Fru}}$ ) presentó una incidencia significativamente ( $p < 0,05$ ) menor respecto al Control, mientras que  $\text{KPhi}_{\text{PrFl}}$  y  $\text{KPhi}_{\text{Fru}}$  presentaron un comportamiento intermedio entre el Control y  $\text{KPhi}_{\text{PrFl+Fru}}$ . No se detectó podredumbre gris en los frutos controles no inoculados ( $\text{Control}_{(-h-i)}$ ) en ninguno de los tratamientos.



**Figura 22.** Incidencia (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' con diferentes tratamientos de asperjado con KPhi en precosecha (temporada 2013-2014). Frutos almacenados 3 meses ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR) fueron inoculados, incubados a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90%HR, y evaluados a los 14 días post-inoculación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos.

Un elevado porcentaje de frutos inoculados desarrollaron la enfermedad en la temporada de cosecha 2015, sin diferencias significativas entre los tratamientos con KPhi y el Control ( $p > 0,05$ ) (Figuras 23 y 24). En la Figura 25 se muestra un fruto inoculado y el signo del hongo luego de 14 días posteriores a la inoculación. Por otra parte, los frutos con herida y sin inóculo (Control<sub>(+h-i)</sub>) desarrollaron la enfermedad en menos del 5% de los frutos, demostrando la patogenicidad del aislamiento inoculado.



**Figura 23.** Incidencia (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' con diferentes tratamientos de asperjado con KPhi en precosecha (temporada 2014-2015). Los frutos fueron almacenados previamente 3 meses en frío ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR). Se muestran los resultados en frutos inoculados con y sin herida y controles sin inocular y sin herir a los 14 y 21 días post-inoculación a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90% HR. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo post-inoculación (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos.

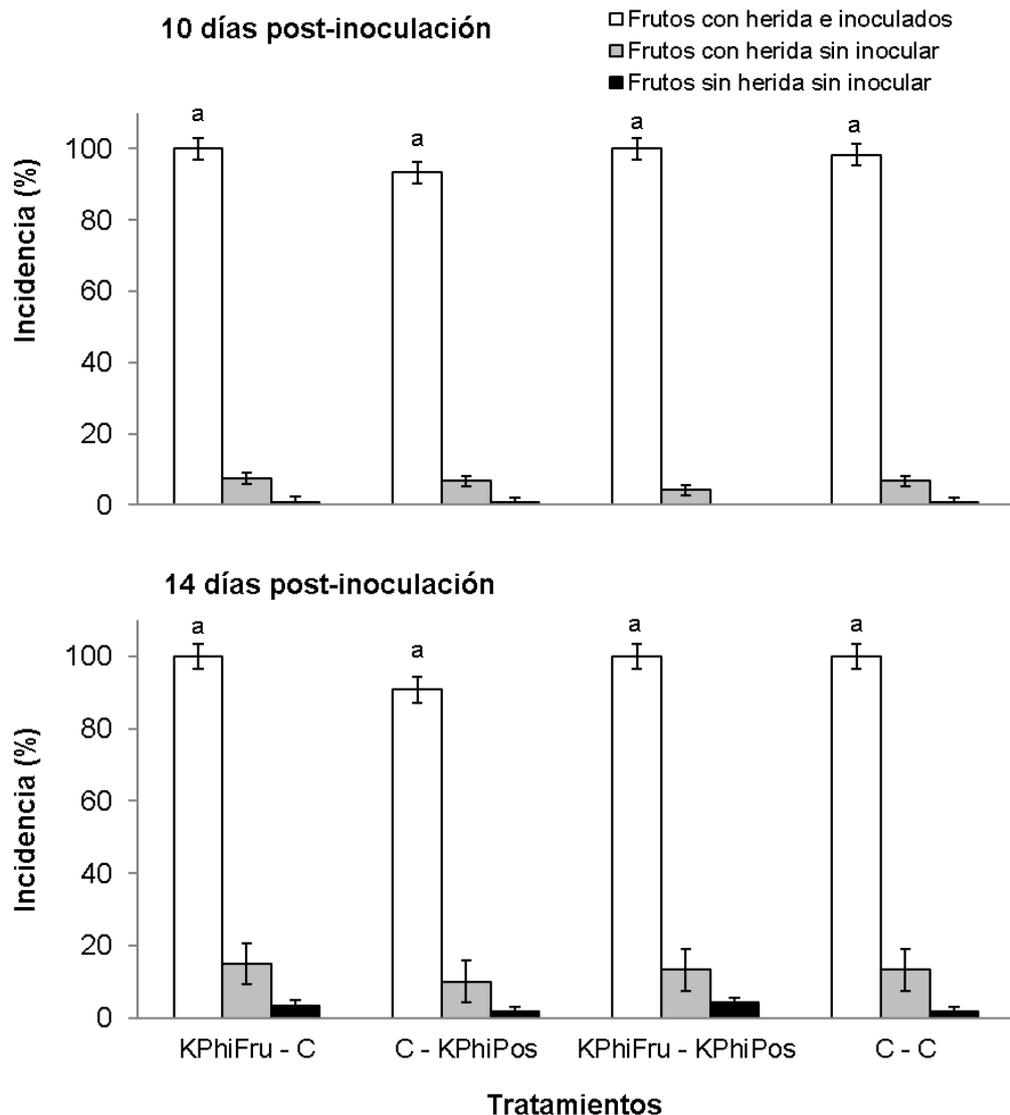


**Figura 24.** Frutos de kiwi cv. 'Hayward' controles inoculados con 15000 a 20000 esporas de *B. cinerea* sobre una herida. La imagen corresponde a los 7 días post-inoculación e incubación a 20°C y 90% HR.



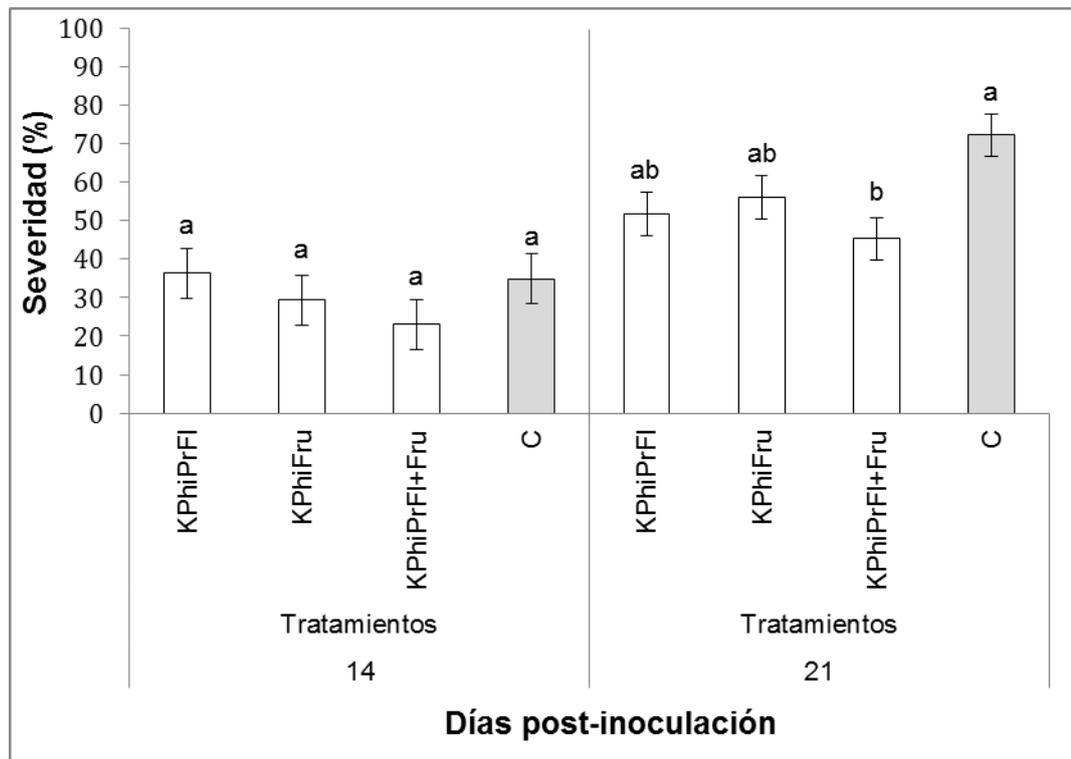
**Figura 25.** Fruto de kiwi cv. 'Hayward' control inoculado con 15000 a 20000 esporas de *B. cinerea* sobre una herida. Se muestra el desarrollo del signo del hongo en la zona inoculada. La imagen corresponde a los 14 días post-inoculación e incubación a 20°C, 90% HR.

En la temporada 2015-2016, la incidencia de podredumbre gris en los frutos heridos e inoculados fue muy alta (alcanzando valores entre 90 y 100%), a los 10 y 14 días post-inoculación, sin diferencias entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). Hasta un 15% de los frutos controles con herida y no inoculados ( $\text{Control}_{(+h-i)}$ ) desarrollaron la enfermedad, mientras que en los controles sin herir y sin inóculo ( $\text{Control}_{(-h-i)}$ ), la incidencia no superó el 5% (Figura 26).



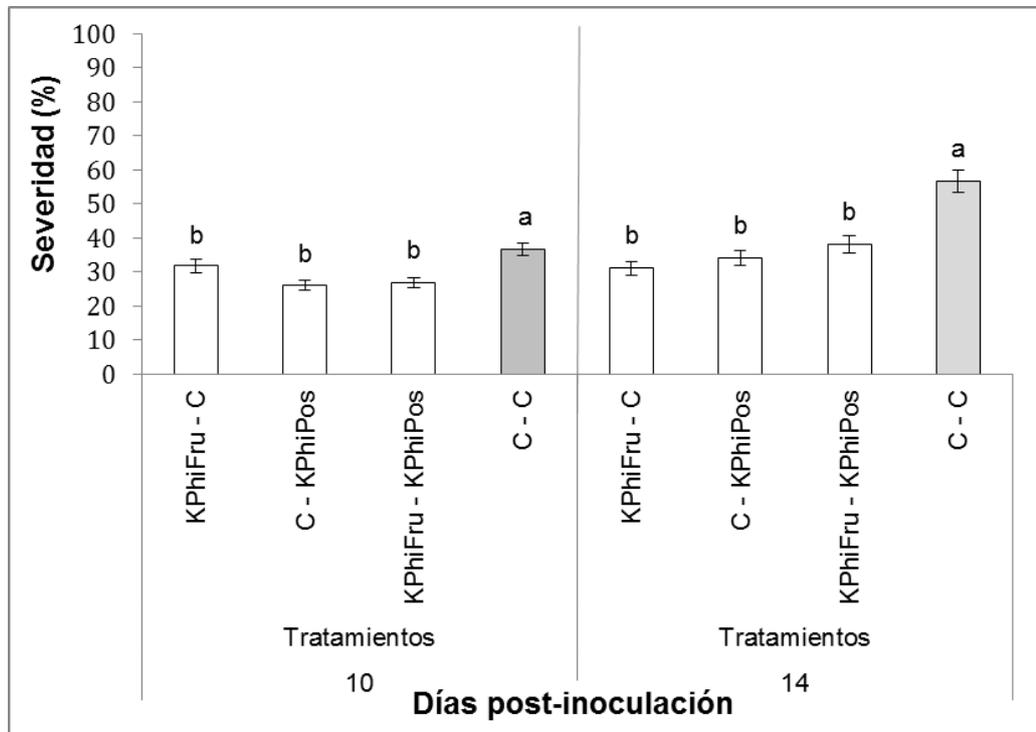
**Figura 26.** Incidencia (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha y/o en poscosecha en la temporada 2016. Los frutos fueron almacenados previamente 3 meses en frío ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR). Se muestran los resultados en frutos inoculados con y sin herida y controles sin inocular y sin herir a los 10 y 14 días post-inoculación a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90% HR. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tiempo post-inoculación (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos.

En el primer año se encontraron bajos valores de severidad (5 a 10%) de la enfermedad, sin diferencias estadísticas entre los tratamientos de KPhi y el control ( $p > 0,05$ ). En el año 2015, hubo un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) de los tratamientos a los 21 días post-inoculación, con un desarrollo de la pudrición menor en el tratamiento combinado con KPhi ( $KPhi_{PrFI+FrU}$ ) respecto al control, resultando  $KPhi_{PrFI}$  y  $KPhi_{FrU}$  similar al resto de los tratamientos (Figura 27).



**Figura 27.** Severidad (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' con diferentes tratamientos de asperjado con KPhi en precosecha (temporada 2014-2015). Los frutos fueron almacenados previamente 3 meses en frío ( $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  y 95% HR). Se muestran los resultados en frutos inoculados con herida a los 14 y 21 días post-inoculación a  $20^\circ\text{C}$  y 90% HR. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día post-inoculación (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos.

En la Figura 28 se muestran los resultados para severidad en los frutos correspondientes a la cosecha 2016. El efecto de los tratamientos con fosfito fue significativo ( $p = 0,0012$ ). Tanto a los 10 como a los 14 días post-inoculación, hubo mayor severidad de la enfermedad en los frutos controles sin fosfito (C-C) comparado con los tratados en precosecha ( $KPhi_{FrU-C}$ ), en poscosecha (C- $KPhi_{Pos}$ ) o en el tratamiento combinado ( $KPhi_{FrU-KPhi_{Pos}}$ ).



**Figura 28.** Severidad (%) de podredumbre gris en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con fosfitos en precosecha y/o en poscosecha en la temporada 2016. Los frutos fueron almacenados previamente 3 meses en frío ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR). Se muestran los resultados en frutos inoculados con herida, a los 10 y 14 días post-inoculación a  $20^{\circ}\text{C}$  y 90% HR. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo día de inoculación (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones de 30 frutos.

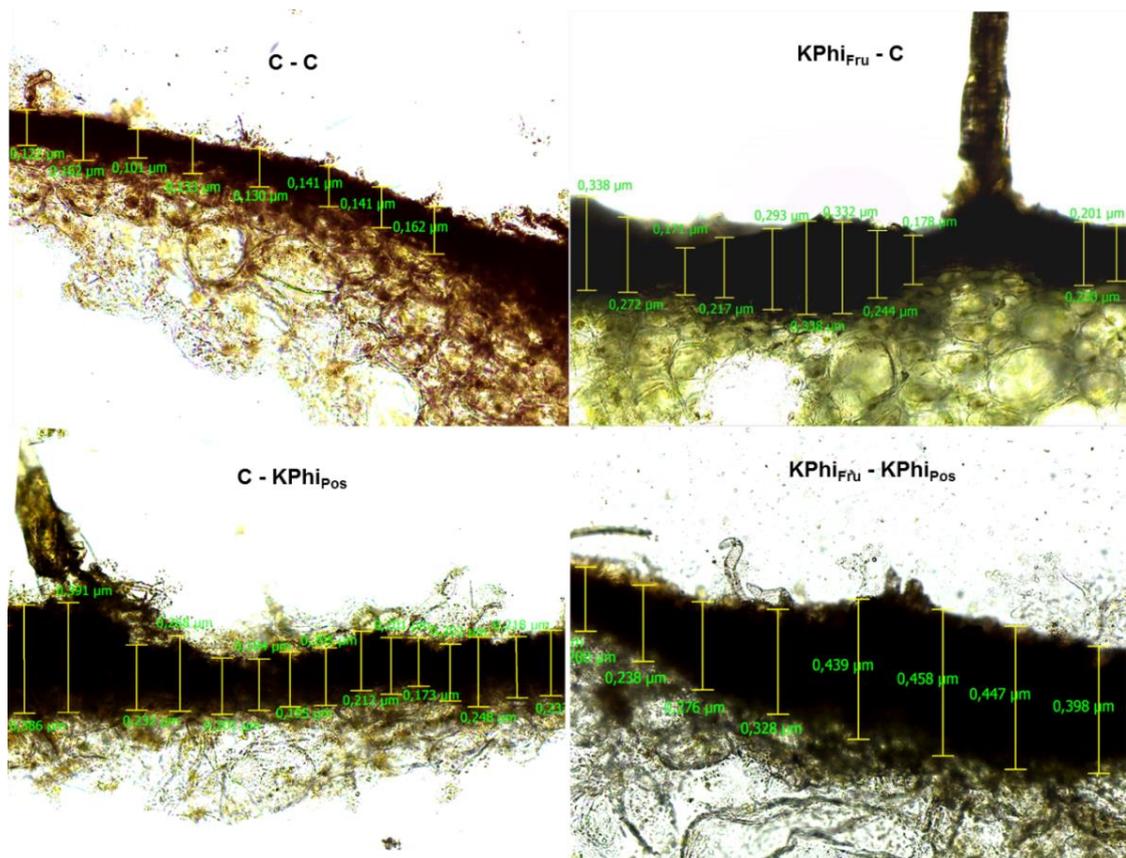
### 3.2. Cambios en el espesor de la piel de los frutos.

El análisis de las imágenes permitió observar diferencias en el espesor de la piel entre los frutos tratados con KPhi y el control, tanto en precosecha como en poscosecha, correspondientes a la temporada de cosecha 2016. El mayor espesor de piel se observó en los frutos del tratamiento combinado  $\text{KPhi}_{\text{Fru}} - \text{KPhi}_{\text{Pos}}$ , seguido por los tratamientos con KPhi asperjado en precosecha ( $\text{KPhi}_{\text{Fru}} - \text{C}$ ) o en poscosecha ( $\text{C} - \text{KPhi}_{\text{Pos}}$ ) (Tabla 12). En la Figura 29 se muestran las imágenes tomadas de cada tratamiento.

**Tabla 12.** Espesor de la piel de frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados y no tratados con KPhi en precosecha y poscosecha (año 2016), luego de 3 meses de almacenamiento a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR. Media  $\pm$  E.E. en base al promedio de 10 medidas por fruto en un total de 10 frutos por tratamiento.

Tratamientos	Espesor de la piel (mm)
KPhi <sub>Fru</sub> - C	$0,223 \pm 0,014$ b
C - KPhi <sub>Pos</sub>	$0,198 \pm 0,023$ b
KPhi <sub>Fru</sub> - KPhi <sub>Pos</sub>	$0,349 \pm 0,010$ a
C - C	$0,136 \pm 0,007$ c

KPhi<sub>Fru</sub>-C: seis aplicaciones foliares durante el desarrollo del fruto y sin aplicación en poscosecha; C-KPhi<sub>Pos</sub>: aplicación de KPhi sólo en poscosecha; KPhi<sub>Fru</sub>-KPhi<sub>Pos</sub>: fruta tratada en precosecha y en poscosecha; C-C: sin KPhi precosecha o poscosecha. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ).



**Figura 29.** Imágenes de un corte transversal de la piel tomadas por microscopía. Corresponde a frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi en precosecha y/o en poscosecha en la temporada 2016. Los frutos fueron analizados al finalizar 3 meses de almacenamiento ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  y 95% HR). C-C: sin KPhi precosecha o poscosecha; KPhi<sub>Fru</sub>-C: seis aplicaciones foliares durante el desarrollo del fruto y sin aplicación en poscosecha; C-KPhi<sub>Pos</sub>: aplicación de KPhi sólo en poscosecha; KPhi<sub>Fru</sub>-KPhi<sub>Pos</sub>: fruta tratada en precosecha y en poscosecha. Escala  $1\mu\text{m} = 1\text{mm}$ .

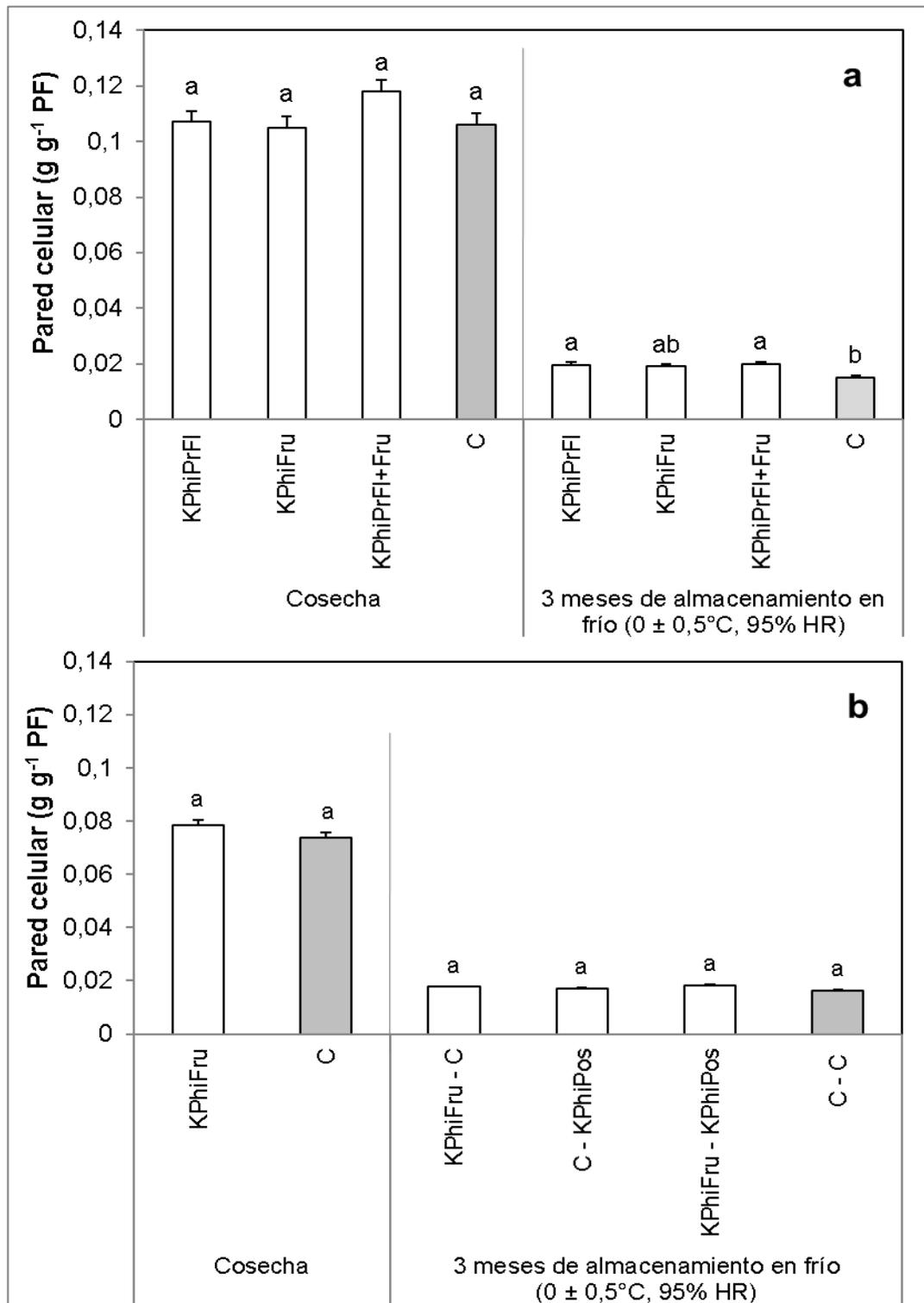
### 3.3. Cambios en el contenido de pared celular y lignina en el pericarpio externo.

No se detectaron diferencias significativas debidas a los tratamientos en el contenido de pared celular en el tejido del pericarpio externo de los frutos de kiwi analizados en el momento de la cosecha del año 2015 ni 2016 ( $p = 0,2108$  y  $p = 0,4025$ , respectivamente).

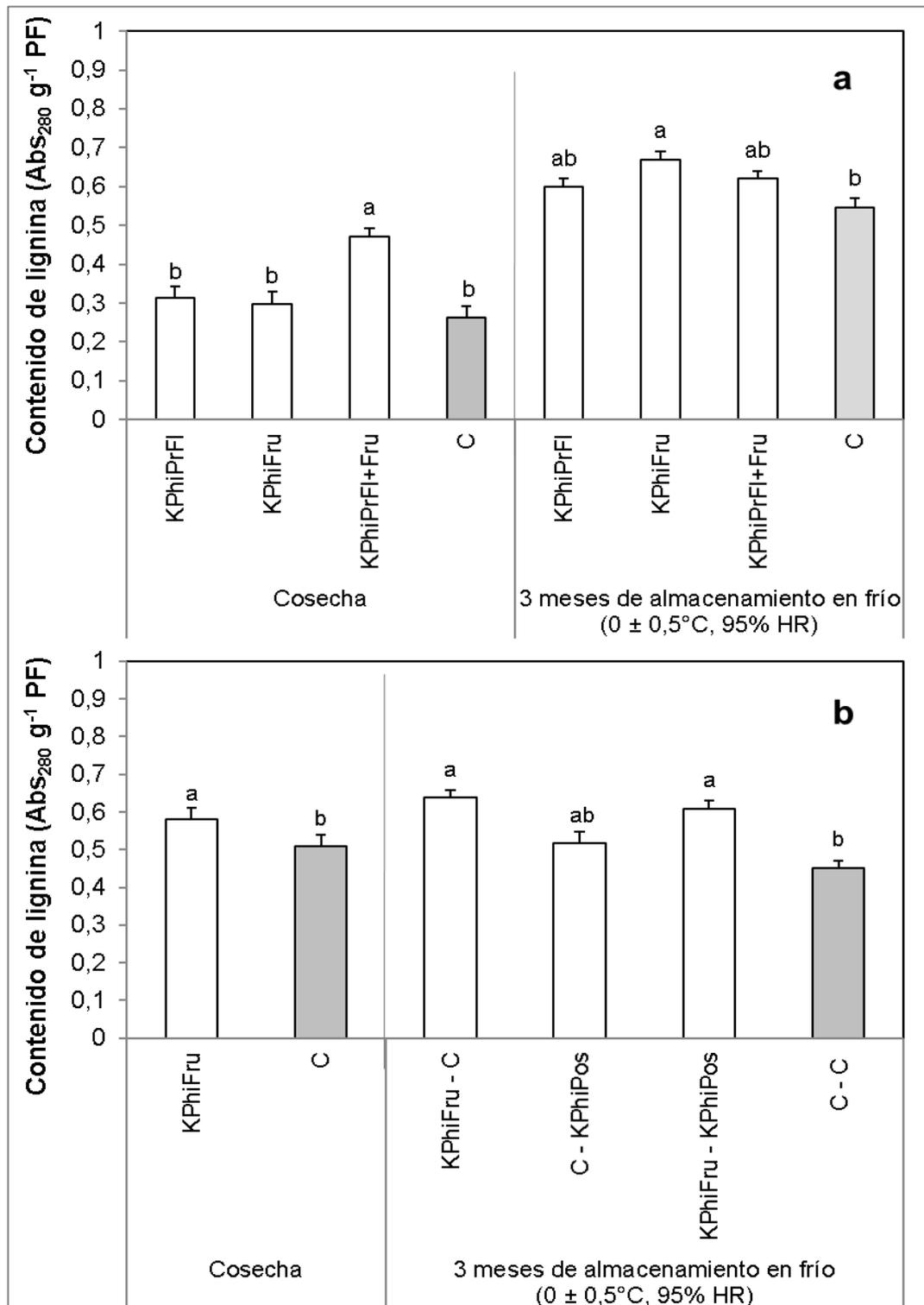
En el año 2015, al finalizar el almacenamiento en frío, se detectaron efectos significativos ( $p = 0,0251$ ) debido a los tratamientos precosecha con KPhi. Los frutos de los tratamientos  $KPhi_{PrFI}$  y  $KPhi_{PrFI+FRu}$  almacenados en frío durante 3 meses fueron los que mostraron mayor contenido de componentes de pared celular respecto a los controles sin KPhi (Figura 30a). En el año 2016, en cambio las diferencias debidas a los tratamientos sobre el contenido de pared celular al finalizar los 3 meses de almacenamiento en frío no pudieron ser detectadas ( $p = 0,2266$ ) (Figura 30b).

Para el contenido de lignina del pericarpio externo, los resultados indican que hubo efecto significativo ( $p < 0,05$ ) de los tratamientos con KPhi, tanto a cosecha como al finalizar el almacenamiento en frío en los dos años de cosecha evaluados (2015 y 2016). Cuando se probaron los diferentes tratamientos pre-cosecha, hubo mayor contenido de lignina a cosecha en todos los tratamientos con KPhi, aunque sólo  $KPhi_{PrFI+FRu}$  fue estadísticamente diferente al control (Figura 31a). Asimismo,  $KPhi_{FRu}$  presentó a cosecha un contenido de lignina significativamente mayor al control cuando se evaluó en la temporada 2016 (Figura 31b).

En los frutos analizados al finalizar el almacenamiento en frío, se encontraron diferencias significativas ( $p = 0,0324$ ) para el contenido de lignina en el pericarpio externo sólo entre el tratamiento  $KPhi_{FRu}$  y control, con un contenido 20% superior (Figura 31a). En el 2016, todos los tratamientos con KPhi fueron superiores al control, aunque  $C - KPhi_{Pos}$  no fue estadísticamente diferente al control (Figura 31b).



**Figura 30.** Contenido de pared celular ( $\text{g g}^{-1}$  PF) en tejido de pericarpio externo en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con fosfitos: a) en precosecha (2015), b) en precosecha y/o en poscosecha (2016), analizado en el momento de la cosecha y al finalizar la salida de frío (3 meses a  $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , 95% HR). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones.



**Figura 31.** Contenido de lignina ( $Abs_{280} g^{-1} PF$ ) en tejido de pericarpio externo en frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con fosfitos: a) en precosecha (2015), b) en precosecha y/o en poscosecha (2016), analizado al momento de la cosecha y al finalizar la salida de frío (3 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}C$ , 95% HR). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey-Kramer,  $\alpha=0,05$ ). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones.

#### 4. DISCUSIÓN.

La baja incidencia de la enfermedad en el experimento del primer año, en el que *B. cinerea* se inoculó sin herir previamente el sitio de inoculación del fruto, indica que la piel es una eficaz barrera para el ingreso del patógeno. Con ese método de inoculación la incidencia de la enfermedad fue baja, llegando al 50% en los controles. No obstante, los resultados del primer año muestran que el tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{PrFI}+\text{Fru}}$  fue el más efectivo, con un mayor efecto de protección del KPhi, aún ante la presencia de una alta carga de inóculo sobre la piel.

La alta proporción de frutos enfermos en el segundo y tercer año cuando la inoculación se hizo sobre una herida, aún en los tratamientos con KPhi, confirma que la piel es una barrera estructural muy importante que debe superar el patógeno para desarrollar enfermedad. Sin esta barrera, *B. cinerea* fue capaz de infectar el tejido del pericarpio externo y producir pudrición en prácticamente todos los frutos inoculados sobre la herida, aún a los 10 días desde la inoculación, como se observó en el experimento del año 2016.

Tanto en la temporada de cosecha 2015 como en la del año 2016, se pudo demostrar que el tratamiento con KPhi redujo la severidad de la enfermedad. Entre las aplicaciones precosecha, el tratamiento combinado  $K\text{Phi}_{\text{PrFI}+\text{Fru}}$  seguido de  $K\text{Phi}_{\text{Fru}}$  fueron los más efectivos. Posiblemente este resultado esté relacionado con un mayor número de aplicaciones realizadas durante el crecimiento del fruto, con el consiguiente aumento de la concentración de Phi en los tejidos del fruto. Dalio *et al.* (2014) mencionaron que el Phi se moviliza muy rápidamente en la planta junto a los fotoasimilados e ingresa a las células acumulándose en las vacuolas.

Con una sola aplicación de KPhi por inmersión de los frutos en poscosecha se logró reducir la severidad de la podredumbre gris de similar manera que haciendo las 6 aplicaciones en precosecha del tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{Fru}}$ . Este resultado posiblemente se deba a la mayor dosis utilizada (1%, en lugar de 0,3%), a que la aplicación fue en el fruto en vez de a la planta, con lo cual toda la superficie estuvo en contacto con la solución de KPhi, a que el período transcurrido entre el tratamiento y la inoculación con el patógeno fue menor o a una combinación de estos factores. El tratamiento que combina la aplicación de KPhi en precosecha y poscosecha ( $K\text{Phi}_{\text{Fru}} - K\text{Phi}_{\text{Pos}}$ ) no logró reducir la severidad de la enfermedad en mayor medida que cada tratamiento individual ( $K\text{Phi}_{\text{Fru}} - C$  o  $C - K\text{Phi}_{\text{Pos}}$ ), por lo que no se encontró un efecto sinérgico.

En la actualidad, los frutos de kiwi son cosechados, colocados en bins, trasladados a un sector de curado, en algunos casos son preenfriados, y luego

conservados en cámara de frío o seleccionados y tamañados mecánicamente y envasados en cajas que pueden diferir en su tamaño (5 a 10 kg). Los frutos no son mojados en ningún momento del proceso actualmente utilizado por la industria del kiwi. Incluir la práctica de inmersión en una solución de KPhi implica un cambio en la logística de la fruta en el empaque, contemplando posiblemente un proceso de secado previo al ingreso a la cámara.

Una menor severidad en los frutos tratados con KPhi implica un menor avance de la pudrición debido a algún mecanismo de defensa relacionado con el tratamiento. El Phi actúa indirectamente induciendo resistencia en las plantas (Deliopoulos *et al.*, 2010; Eshraghi *et al.*, 2011), con genes que se activan y otros que se apagan (Feldman *et al.*, 2020), coordinado por un complejo sistema hormonal en el que interactúan el SA, JA y etileno (Dalio *et al.*, 2014).

Se ha demostrado que una de las respuestas a la aplicación de KPhi en papa es el reforzamiento de la pared celular por deposición de suberina y lignina, con aumento en el número de capas de células que componen la peridermis del tubérculo (Lobato *et al.*, 2018). Una respuesta similar fue encontrada en frutos de naranja tratados con quitosano, con aumento de la tolerancia a antracnosis debido a las paredes celulares más reforzadas y a la síntesis de proteínas-PR (Zhao *et al.*, 2018).

Hallett y Sutherland (2005) describieron la estructura de la piel de frutos de diferentes especies de kiwi. En frutos fisiológicamente maduros (147 días después de caída de pétalos) de *A. chinensis* var. *deliciosa* cv. 'Hayward' encontraron que la piel estaba formada por una región externa con dos a cuatro capas de células de forma achatada, muertas, con paredes delgadas que presentaban deposiciones de suberina, y tricomas con alto contenido de lignina. Por debajo de ésta se encontraba la hipodermis, formada por dos o tres capas de células pequeñas, muy comprimidas, conteniendo almidón y compuestos fenólicos condensados.

Los cambios en el espesor de la piel en los frutos de kiwi tratados con KPhi indicarían que el tratamiento activaría algunos mecanismos de reforzamiento de la cutícula, promoviendo un aumento del número de capas de células que la conforman como se demostró en papa (Lobato *et al.*, 2018) o una mayor deposición de suberina en el tejido epidérmico, considerando el estudio de Hallett y Sutherland (2005). Este reforzamiento de la piel constituye una barrera al ingreso de los patógenos, evitando principalmente las infecciones durante el almacenamiento.

Además de la piel, los resultados demuestran que el KPhi también reforzó las células del pericarpio externo, con aumento del contenido de lignina y de componentes

de la pared celular, probablemente, celulosa y hemicelulosa. Esto indica que el tratamiento con KPhi aumentó las defensas y la protección ante la invasión del patógeno. Estos cambios composicionales de la pared celular encontrados en el pericarpio externo, sobre todo el aumento del contenido de lignina, se detectaron en los frutos tratados con KPhi en el momento de la cosecha y finalizado el almacenamiento, en ambas temporadas analizadas (2015 y 2016), aún sin haber sido inoculados con el patógeno. El estudio proteómico realizado por Guzzo (2016) en hojas de papa asperjadas con KPhi e inoculadas a las 72 h con *B. cinerea* muestra que el KPhi indujo la expresión de un gen que codifica una proteína involucrada en la síntesis de lignina (sgn-u584206), lo que también podría haber ocurrido en el fruto de kiwi en este trabajo de Tesis. Ello explicaría el aumento de lignina en los frutos tratados con KPhi respecto al control.

El mayor contenido de lignina en las células del tejido del pericarpio externo en frutos de kiwi tratados con KPhi respecto al control también podría explicar el menor avance de la enfermedad. *B. cinerea* es un hongo necrotrófico que segrega enzimas pectinolíticas para degradar la pared celular de las células del hospedante (ten Have *et al.*, 1998; Kars *et al.*, 2005). Como este patógeno requiere cierto grado de degradación de la pared celular para invadir la célula y los tejidos, una mayor integridad estructural de la pared celular dada por la deposición de lignina le confiere una mayor resistencia. Por otro lado, el aumento en el contenido de lignina en el tejido del pericarpio ha sido también asociado a las bajas temperaturas. Li *et al.* (2017) han reportado un aumento del contenido de lignina en el tejido del pericarpio del cultivar de kiwi de pulpa verde 'Xuxiang' de alrededor de 10 veces durante los primeros 100 días de almacenamiento a 0°C. Este aumento del contenido de lignina relacionado a las bajas temperaturas ha sido reportado también en otras frutas (Cai *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2019; Torres *et al.*, 2020).

En un reciente estudio proteómico quedó demostrado que el asperjado con KPhi en papa promovió la expresión de 70 genes, muchos de ellos relacionados con la defensa, como los codificantes de las proteínas quitinasa ácida de 26 kDa, PR1 y PR2 (Feldman *et al.*, 2020). Estos autores también encontraron que el tratamiento con KPhi indujo genes relacionados con las EROs y las proteínas vinculadas con el sistema secuestrante para mantener la homeostasis en la célula. De esa manera, el KPhi actuaría regulando el sistema rédox preparando un múltiple mecanismo de defensa antes del ataque del patógeno.

En su estudio, Feldman *et al.* (2020) encontraron que el KPhi aplicado a plantas de papa activó genes relacionados a peroxidasa clase III, enzima vinculada con procesos de lignificación, cicatrización, y defensa ante estrés del tipo biótico. Se ha determinado que la deposición de calosa, compuesta esencialmente por lignina, alrededor de la hifa del hongo mientras intenta ingresar a la célula hospedante es una respuesta de defensa. La producción de calosa es promovida por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> liberado por la célula hospedante ante la presencia del patógeno. Se ha reportado que esta respuesta se produce más rápidamente en plantas que previamente fueron tratadas con KPhi respecto a plantas control sin tratar, lo que ha sido observado en papa y también en *Arabidopsis* (McComb *et al.*, 2008; Lim *et al.*, 2013). Estos autores remarcaron que el tratamiento con KPhi prepara el mecanismo de defensa del hospedante, de manera que ante la presencia del patógeno e incluso de otros tipos de estrés, las respuestas son más rápidas y de mayor magnitud. Este efecto del KPhi, conocido como *priming*, ha sido reportado por varios autores (Eshraghi *et al.*, 2011; Olivieri *et al.*, 2012; Machinandiarena *et al.*, 2012; Dalio *et al.*, 2014).

En su trabajo, Guzzo (2016) demostró que cuando *Phytophthora infestans* infecta el tejido, las papas pretratadas con KPhi presentan una mayor resistencia que los controles, porque hay un efecto de preactivación de resistencia o *priming* por el KPhi, que es seguido por una serie de respuestas de defensa que se desencadenan del tipo SAR, lo cual es regulado por la vía del SA.

El efecto *priming* del Phi en papa también fue descrito por Lobato *et al.* (2008) y Machinandiarena *et al.* (2012). Las respuestas asociadas al *priming* de cierta manera son almacenadas en la planta hasta que ésta es expuesta a estrés (Martinez-Medina *et al.*, 2016). La duración del *priming* puede ser relativamente larga. En tomate, se ha observado una mayor resistencia a *Botrytis* spp. transcurridas ocho semanas del tratamiento de las plantas con JA (Worrall *et al.*, 2012). En *Arabidopsis*, este estado *priming* pudo ser identificado por un aumento en los niveles de receptores de patrones de reconocimiento (por ej. FLS2 y CERK1), aumento en las proteínas MPK3 y MPK6, aumento de la expresión génica de factores de transcripción (por ej. WRKYs y MYC2), entre otros cambios (Conrath *et al.*, 2015, citado por Martinez-Medina *et al.*, 2016). Cuando una planta ha sido previamente inducida, activará más rápidamente su sistema de defensa cuando se exponga a un estrés biótico o abiótico y la respuesta será mayor respecto a una planta no pretratada (Martinez-Medina *et al.*, 2016).

Otro posible mecanismo por el cual los frutos de kiwi provenientes de plantas tratadas con KPhi o tratados por inmersión en poscosecha presentaron menor

severidad de la enfermedad podría también relacionarse con un mayor contenido de compuestos fenólicos totales respecto al control (Capítulo 3), muchos de los cuales podrían actuar en el mecanismo de defensa interrumpiendo la señalización del patógeno o interviniendo en el sistema antioxidante, entre otros mecanismos (Ramírez Gómez *et al.*, 2019). En papa se ha demostrado que el KPhi indujo la expresión de los genes de las enzimas clave en la ruta de la síntesis de fenilpropanoides (específicamente la flavonona-3-beta hidroxilasa y calcona isomerasa), lo cual confirma su relación con el aumento de compuestos fenólicos observados en las plantas tratadas (Feldman *et al.*, 2020). Probablemente, una similar respuesta bioquímica ha ocurrido en los frutos tratados con KPhi.

El asperjado de las plantas o la inmersión de los frutos en una solución de KPhi redujo la producción de etileno y retrasó el climaterio. Como resultado, los frutos de kiwi tratados con KPhi se mantuvieron más firmes en vida comercial que los controles sin tratar (Capítulo 1), lo que podría indicar una mayor integridad de la membrana celular en la última fase de ablandamiento y con ello, una menor susceptibilidad a *B. cinerea*. La mayor integridad de membrana en los frutos tratados con KPhi, dada por una menor degradación celular de su estructura y por deposición de compuestos que refuerzan la pared celular, podría ser uno de los principales mecanismos de defensa inducidos por el KPhi que aumentan la tolerancia a la podredumbre gris en el fruto.

Posiblemente otras respuestas inducidas por el fosfito que no han podido ser medidas en este trabajo de Tesis, como por ejemplo, las relacionadas con la expresión y aumento de la actividad de enzimas de defensa, contribuyeron con la mayor tolerancia a la podredumbre gris en los frutos.

## **5. CONCLUSIONES.**

Hay evidencias para no rechazar la hipótesis que sostenía que *el fosfito de potasio induce respuestas en el fruto que se asocian con una mayor tolerancia al desarrollo de podredumbre gris*, mientras que hay evidencias para rechazar la hipótesis que sostenía que *el efecto protector del fosfito es mayor cuando son aplicados en floración y en poscosecha*.

El fosfito aplicado en precosecha (por asperjado de las plantas) aumentó la tolerancia a la podredumbre gris en fruta inoculada con el patógeno, con una menor severidad de la enfermedad, fundamentalmente cuando el tratamiento se realizó durante el desarrollo del fruto o en forma combinada en ambas etapas del cultivo: prefloración y desarrollo del fruto.

La aplicación de fosfito en poscosecha (por inmersión) ha mostrado ser tan efectiva como en precosecha (asperjado durante el desarrollo del fruto), reduciendo la severidad de la enfermedad. La combinación del asperjado de las plantas y la inmersión de los frutos no mostró ser superior a los tratamientos individuales.

Hay evidencias para no rechazar la hipótesis que sostenía que *el tratamiento con fosfito reduce la producción de etileno y la respiración en el fruto y dispara respuestas bioquímicas asociadas a la inducción de defensas*.

El tratamiento con fosfito de potasio se asoció con un aumento en el espesor de la piel y del contenido de pared celular y de lignina en el tejido del pericarpio externo de los frutos, como parte de las respuestas asociadas a la inducción de defensa.

### **CAPÍTULO 3: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE FOSFITO DE POTASIO SOBRE EL CONTENIDO DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN EL FRUTO A COSECHA Y DESPUÉS DEL ALMACENAMIENTO EN FRÍO.**

La investigación que se desarrolla en este capítulo responde a las siguientes hipótesis planteadas:

**H3.** El fosfito de potasio induce la producción de ácido ascórbico, carotenos y compuestos fenólicos en frutos de kiwi, aumentando el valor nutracéutico del producto.

**H5.** Las aplicaciones de fosfito durante el crecimiento del fruto producen una mejora de las características sensoriales y nutracéuticas.

#### **1. INTRODUCCIÓN.**

En la INTRODUCCIÓN GENERAL se describió la composición y el contenido de diferentes compuestos nutricionales que contiene el fruto de kiwi. Como se ha mencionado, estos compuestos son metabolitos secundarios y de defensa, vinculados con el sistema antioxidante, que pueden ser inducidos por diferentes estimulantes, entre ellos, el fosfito, resultando una estrategia para incrementar el valor funcional de esta fruta.

Debido a que el almacenamiento del fruto se puede extender hasta 6 meses en frío, resulta de interés no sólo conocer cuáles son los cambios que ocurren en el contenido de compuestos nutricionales al momento de la cosecha sino también al finalizar el período de guarda y en la vida comercial.

En general, la actividad antioxidante de las frutas y hortalizas durante el almacenamiento puede mantenerse y en algunos casos hasta puede registrarse un aumento debido a la síntesis de compuestos fenólicos (Vicente *et al.*, 2009). Estos autores mencionan que en muchos casos la pérdida de calidad comercial ocurre antes que la pérdida de calidad nutricional.

En relación al kiwi, los cambios en el contenido de ácido ascórbico durante el almacenamiento refrigerado se relacionan con el estado de madurez en que fueron cosechados los frutos, con mayor pérdida relativa de ascórbico cuanto menor sea la madurez de cosecha (Gullo *et al.*, 2016).

En el kiwi, la capacidad antioxidante puede disminuir si el almacenamiento en frío se prolonga a 6 meses, pero aumenta nuevamente cuando la fruta es posteriormente transferida a temperatura ambiente por 7 días (Tavarini *et al.*, 2008). Estos autores también reportaron que el contenido de fenoles puede mantenerse o aumentar durante

el almacenamiento prolongado, dependiendo de la madurez de cosecha. Algunos antecedentes coinciden en que la exposición de la fruta al frío durante la conservación induce un aumento del contenido de fenoles (Fisk *et al.*, 2006; Krupa *et al.*, 2011; Gullo *et al.*, 2016). Además, durante el almacenamiento en frío también puede haber cambios en la composición fenólica del fruto (Krupa *et al.*, 2011) lo que podría modificar la actividad antioxidante.

Los compuestos fenólicos intervienen en el sistema antioxidante, secuestrando los radicales libres y protegiendo a las células de la oxidación lipídica (Jiao *et al.*, 2018). El poder antioxidante está en relación con las características químicas del compuesto, con la cantidad de grupos aromáticos e hidroxilos y de su posición de enlace (Rice-Evans *et al.*, 1996; Kim y Lee, 2004; Jiao *et al.*, 2018). En su trabajo, Jiao *et al.* (2018) estimaron la contribución al poder reductor de diferentes compuestos fenólicos, siendo máxima para la epicatequina, seguida por los ácidos vanílico, protocatecuico, p-cumárico, ferúlico, siríngico, cafeico, y catequina y galato de epicatequina.

Los experimentos realizados responden al siguiente objetivo específico:

- Determinar el efecto de la aplicación de fosfito de potasio sobre el contenido de compuestos nutraceuticos, al momento de cosecha y luego del almacenamiento prolongado en frío.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **2.1. Condiciones de cultivo y descripción de los tratamientos.**

Los tratamientos y condiciones de los experimentos fueron los mismos que los descritos en la sección 2.1. del Capítulo 1.

### **2.2. Cosecha, acondicionamiento y condiciones de almacenamiento.**

La cosecha, acondicionamiento y condiciones de almacenamiento fueron los mismos que los descritos en la sección 2.2. del Capítulo 1.

### **2.3. Determinación de la calidad nutricional.**

Todas las determinaciones que se describen a continuación se realizaron por triplicado en el momento de la cosecha, al finalizar el almacenamiento en frío (4 meses a  $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR) y en su posterior vida comercial (7 días a  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 90% HR). En cada momento de análisis, 5 frutos de un mismo tratamiento fueron pelados en la zona que rodea a la cicatriz de cosecha. Aproximadamente 5 g del pericarpio externo de cada uno se extrajo con un cuchillo de cerámica, procediendo rápidamente al

congelado del tejido con nitrógeno líquido. Las muestras fueron conservadas en ultrafreezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización. Previo a la extracción de los compuestos de interés, cada muestra compuesta fue molida en un molinillo de café De'Longhi KG-40, con 170 W de potencia (De'Longhi Appliances S.R.L., Treviso, Italia), agregando permanentemente  $\text{N}_2$  líquido hasta pulverizar los tejidos, manteniendo la temperatura de congelamiento en todo momento.

### 2.3.1. Extracción y determinación del contenido de ácido ascórbico.

La técnica utilizada para la extracción del ácido ascórbico (AA) fue descrita por Ke *et al.* (1994), utilizada por Quillehauquy (2016), a la que se le hicieron algunas modificaciones. Brevemente, se tomaron 0,15 g de la muestra de pulpa (pericarpio externo) molida y congelada y se agregaron 4,5 mL de una solución acuosa de ácido oxálico al 1%. La muestra fue agitada durante 30 min a 185 rpm a  $4^{\circ}\text{C}$  y mantenida a dicha temperatura y oscuridad durante 1,5 h. Posteriormente, se centrifugó durante 30 min a  $7500 \times g$  (6000 rpm) a  $4^{\circ}\text{C}$ . El sobrenadante fue recuperado y conservado en ultrafreezer hasta su utilización.

La determinación de AA se realizó utilizando el método colorimétrico descrito por Leipner *et al.* (1997), el cual se basa en el seguimiento de la reducción del compuesto 2,6-diclorofenolindofenol (DCFIF). Para la medición, 200  $\mu\text{L}$  de extracto se pusieron en contacto con 200  $\mu\text{L}$  de una solución de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  al 45%, permaneciendo la mezcla en incubación a temperatura ambiente y oscuridad por 15 minutos. Posteriormente, se agregaron 670  $\mu\text{L}$  de buffer citrato-fosfato pH 2,3 e inmediatamente antes de la lectura de absorbancia, se agregaron 670  $\mu\text{L}$  de una solución acuosa de DCFIF al 0,0059%. Se realizó una curva de calibración de AA en un rango de 0 a 14  $\mu\text{g}$  de AA. La preparación de las soluciones estándares se realizó tomando alícuotas crecientes de una solución madre de AA 0,007% m/V. Se midió la absorbancia del blanco (solución ácido oxálico 1%), de las soluciones estándar de AA y de las muestras por triplicado a 524 nm con un espectrofotómetro Bio-Rad SmartSpec<sup>TM</sup> 3000 (Bio-Rad Laboratories Inc., California, USA). El contenido de ácido ascórbico se calculó como  $\text{mg AA } 100 \text{ g}^{-1}$  PF.

### 2.3.2. Determinación capacidad antioxidante por diferentes métodos.

#### 2.3.2.1. *Obtención de los extractos.*

El extracto etanólico se obtuvo a partir 0,1 g de polvo de  $\text{N}_2$  del pericarpio externo que se homogeneizó en 5 mL de etanol absoluto (manteniendo en frío y oscuridad),

dejando que la extracción tuviera lugar durante 20 min en un agitador orbital a 140 rpm, seguida de 2 h a 4°C y ulterior centrifugación a 4°C y 7500 x g durante 30 min. Posteriormente se recuperó el sobrenadante (extracto etanólico) que fue conservado en ultrafreezer hasta su utilización.

#### 2.3.2.2. Medición por el método del DPPH (*radical libre 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo*).

La medición de la capacidad antioxidante por el método del DPPH ( $CA_{DPPH}$ ) fue descrito por Brand-Williams *et al.* (1995) y se fundamenta en el seguimiento de la decoloración progresiva del color púrpura del DPPH, cuando se le añade un extracto etanólico conteniendo sustancias antioxidantes capaces de captar el radical DPPH. Para la cuantificación, se utilizó la técnica adaptada a microplaca, en la que 240  $\mu$ L de DPPH 100  $\mu$ M se pusieron en contacto con alícuotas de 30, 40, 50 y 60  $\mu$ L del extracto etanólico, llevando a un volumen final de 300  $\mu$ L con etanol en todos los casos. Se dejó reaccionar durante 20 min a temperatura ambiente y oscuridad y se midió la absorbancia de las muestras y del blanco (300  $\mu$ L DPPH 100 mM) a 515 nm con un espectrofotómetro de microplacas UV-Vis Epoch<sup>®</sup> Biotek (Biotek Instruments Inc., USA) (Figura VI del APENDICE). Todas las muestras se hicieron por triplicado. La capacidad antioxidante se expresó como mg equivalentes de ácido ascórbico por gramo de peso fresco (mg eq AA g<sup>-1</sup> PF). Para ello, se realizó una curva de calibración utilizando como estándares soluciones de AA conteniendo 0,2 a 1,0  $\mu$ g de AA en el *mix* de reacción.

#### 2.3.2.3. Medición por el método FRAP (*Ferric reducing ability of plasma*).

La medición de la capacidad antioxidante por el método FRAP ( $CA_{FRAP}$ ) fue descrita por Benzie y Strain (1996) para plasma, adaptado por Stratil *et al.* (2006) para la medición de extractos de diferentes hortalizas y por Du *et al.* (2009), para medir los antioxidantes en kiwi. El método mide la capacidad del conjunto de sustancias antioxidantes presentes en el extracto, capaces de reducir al ion hierro (III) en un pH ácido. Se forma un color azul intenso cuando el complejo férrico-tripiridiltriazina ( $Fe^{3+}$ -TPTZ) se reduce a la forma ferrosa, que posee una absorción máxima a 593 nm.

Para la cuantificación de la  $CA_{FRAP}$ , se utilizó la técnica adaptada a microplaca, en la que 250  $\mu$ L de reactivo FRAP (0,83 mM TPTZ y 1,67 mM  $FeCl_3$  en *buffer* acetato de sodio/ácido acético pH 3,6) se pusieron en contacto con una alícuota de 25  $\mu$ L del extracto etanólico. Se incubó durante 40 min a 37°C y se midió la absorbancia de las muestras y del blanco (250  $\mu$ L FRAP+ 25  $\mu$ L etanol) a 593 nm con un

espectrofotómetro de microplacas UV-Vis Epoch® Biotek (Biotek Instruments Inc., USA). Las mediciones se hicieron por triplicado. Los resultados se referenciaron a una curva estándar de Trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), que abarcaron un rango de concentraciones de 25 a 150  $\mu\text{M}$ . Para la medición de absorbancia de las soluciones estándar se procedió de la misma manera que para las muestras. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de peso fresco ( $\mu\text{mol eq. Trolox g}^{-1}$  PF).

#### 2.3.3. Determinación de los fenoles totales.

El método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) es el de mayor uso para la determinación de fenoles totales y se fundamenta en el carácter reductor del reactivo utilizado. El reactivo está compuesto por una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) y molibdeno ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). La metodología se adaptó a su medición en microplaca. Para ello, a 90  $\mu\text{L}$  de extracto etanólico se agregaron 70  $\mu\text{L}$  de agua ultrapura y 70  $\mu\text{L}$  de reactivo de Folin–Ciocalteu (20%). Después de agitar y de 6 min de incubación en oscuridad, se agregaron 140  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio (5%) y se dejó reaccionar durante 1,5 h en oscuridad. La absorbancia se midió a 760 nm en un espectrofotómetro de microplacas UV-Vis Epoch® Biotek (Biotek Instruments Inc., USA). Las mediciones se realizaron por triplicado. Los resultados se calcularon en base a una curva de calibración de soluciones estándar de ácido gálico (AG), que abarcaron un rango de concentraciones de 10 a 40  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , y se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso fresco ( $\text{mg eq. AG } 100 \text{ g}^{-1}$  PF).

#### 2.3.4. Determinación del contenido de flavonoides.

Para la cuantificación de flavonoides contenidos en la muestra se utilizó el método colorimétrico descrito por Zhishen *et al.* (1999) y revisado por Pękal y Pyrzynska (2014), con algunas modificaciones y adaptándolo a microescala. Debido al bajo contenido de flavonoides en la pulpa de los frutos de kiwi evaluados, el extracto preparado según el apartado 2.3.2.1 debió ser concentrado. Para ello, se tomó 1 mL del extracto etanólico y se evaporó a sequedad a 65°C. Al extracto seco se agregaron 88,1  $\mu\text{L}$  de agua ultrapura, 20  $\mu\text{L}$   $\text{NaNO}_2$  (1,5% m/V) y se dejó reaccionar durante 5 min. Se agregaron 17  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  (2,4% m/V) y luego de 6 minutos, 74,9  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  2,67 M e inmediatamente se midió la absorbancia a 510 nm con un espectrofotómetro de microplacas UV-Vis Epoch® Biotek (Biotek Instruments Inc., USA). Las mediciones

se hicieron por triplicado. Los resultados se referenciaron a una curva de calibración de soluciones estándar de catequina, partiendo de una solución patrón de 0,068 mg L<sup>-1</sup>, y obteniendo 5 soluciones estándar en un rango de concentraciones de 0 a 0,026 mg L<sup>-1</sup>. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de catequina por cada 100 gramos de peso fresco (mg eq. catequina 100 g<sup>-1</sup> PF).

### 2.3.5. Extracción y determinación del contenido de clorofila (a y b) y carotenoides totales.

La determinación del contenido de clorofila y carotenos se realizó siguiendo la metodología de extracción de Ramazzina *et al.* (2015) y de cuantificación de Lichtenthaler y Wellburn (1983), con pequeñas modificaciones. Para ello, se homogeneizó 0,1 g de polvo de nitrógeno de kiwi con 0,5 mL de acetona al 80%. La muestra fue agitada a 135 rpm durante 15 min y a 4°C. Luego se mantuvo a esa temperatura durante 2 h y se centrifugó a 10000 x g por 15 min a 4°C. El sobrenadante fue utilizado para medir la absorbancia por espectrofotometría, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Epoch<sup>®</sup> Biotek (Biotek Instruments Inc., USA) a 662, 645 y 470 nm. El cálculo de clorofila *a* se realizó mediante la siguiente fórmula:  $C_a = 11,75 \times A_{662} - 2,350 \times A_{645}$ ; el contenido de clorofila *b*, se calculó como  $C_b = 18,61 \times A_{645} - 3,960 \times A_{662}$  y el contenido de carotenoides totales, mediante la fórmula:  $C_c = (1000 \times A_{470} - 2,270 C_a - 81,4 C_b) / 227$ . Las mediciones se hicieron por triplicado. Las concentraciones se expresaron en µg g<sup>-1</sup> PF.

## **2.4. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos.**

Durante las dos primeras temporadas en las que se evaluó el efecto del asperjado de las plantas con KPhi en diferentes estados fenológicos sobre el contenido de compuestos nutricionales, el diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado con arreglo factorial 4 x 2, con tres repeticiones de cada tratamiento. Los factores evaluados fueron: Tratamiento, con 4 niveles: KPhi<sub>PrFl</sub>, KPhi<sub>Fru</sub>, KPhi<sub>PrFl+Fru</sub>, C y Año, con 2 niveles: 2014 y 2015. El diseño experimental utilizado en la temporada 2015-2016 fue completamente aleatorizado con Tratamiento (con 4 niveles) como factor fijo.

Los datos obtenidos en los muestreos de cosecha, salida de frío (4 meses de almacenamiento a 0 ± 0,5°C, 95% HR) y en vida comercial (7 días a 20 ± 2°C, 90% HR) fueron analizados mediante ANOVA. En el set de datos de las temporadas de cosecha 2014 y 2015, se determinó la significancia de la interacción Tratamiento x Año

y los efectos principales de cada factor para cada variable. En el set de datos de la temporada de cosecha 2016, se analizó el efecto del factor Tratamiento. Ante una significancia menor o igual al 5%, las medias fueron separadas utilizando el test de Tukey-Kramer ( $\alpha = 0,05$ ).

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa R versión 3.2.3 (R Core Team, 2015).

### 3. RESULTADOS.

#### 3.1. Al momento de la cosecha.

Los resultados para todas las variables medidas al momento de la cosecha se muestran en la Tabla 13.

El asperjado con KPhi en precosecha tuvo un efecto significativo sobre el contenido de ácido ascórbico en los frutos analizados luego de la cosecha, que fue diferente según el año de estudio (interacción Tratamiento x Año significativa,  $p = 0,0495$ ). En el 2014, los frutos del tratamiento  $KPhi_{Fr}$  presentaron un contenido de ácido ascórbico significativamente mayor al resto de los tratamientos incluyendo al control. En el 2015, el contenido de ácido ascórbico resultó significativamente mayor al control sólo en los frutos del tratamiento combinado con KPhi ( $KPhi_{PrFI+Fr}$ ). En la tercera temporada, no se encontraron diferencias estadísticas para el contenido de ácido ascórbico entre  $KPhi_{Fr} - C$  y control ( $C - C$ ) ( $p = 0,3438$ ).

El análisis estadístico para el conjunto de datos de las cosechas 2014 y 2015 indican que no hubo un efecto significativo de interacción Tratamiento x Año, ni efectos principales ( $p > 0,05$ ) para la capacidad antioxidante medida por el método de DPPH (Tabla 13). Tampoco hubo diferencias para  $CA_{DPPH}$  entre los tratamientos  $KPhi_{Fr} - C$  y control ( $C - C$ ) para el año 2016 ( $p = 0,3509$ ).

Para la capacidad antioxidante medida por el método FRAP, el efecto de los tratamientos con KPhi también difirió con los años ( $p = 0,0363$  para la interacción Tratamiento x Año). Mientras que en el 2014 todos los tratamientos resultaron similares al control, en el 2015 la mayor capacidad antioxidante se detectó en el  $KPhi_{PrFI+Fr}$ , con diferencias estadísticas con el tratamiento  $KPhi_{PrFI}$ , resultando ambos similares al control y a  $KPhi_{Fr}$ . En la tercera temporada, la  $CA_{FRAP}$  resultó significativamente ( $p = 0,0027$ ) mayor en el control ( $C - C$ ) respecto al tratamiento con KPhi realizado en precosecha ( $KPhi_{Fr} - C$ ).

La interacción Tratamiento x Año también resultó significativa ( $p = 0,0001$ ) para el contenido de fenoles totales. En el 2014, el contenido de fenoles totales fue similar en

todos los tratamientos, mientras que en el 2015, el mayor valor se determinó en los frutos tratados con  $K\text{Phi}_{\text{PrFl}+\text{Fru}}$ , seguido por  $K\text{Phi}_{\text{Fru}}$ , resultando ambos significativamente superiores al control. En el tercer año, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de fenoles totales entre los tratamientos  $K\text{Phi}_{\text{Fru}}-\text{C}$  y  $\text{C}-\text{C}$  ( $p = 0,3954$ ).

En relación al contenido de flavonoides, en las temporadas de cosecha 2014 y 2015 se encontró un efecto principal del factor Tratamiento ( $p = 0,0049$ ) y Año ( $p = 0,0003$ ). El mayor contenido de flavonoides fue detectado en el tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{Fru}}$  respecto de  $K\text{Phi}_{\text{PrFl}}$ , aunque estos tratamientos y el combinado ( $K\text{Phi}_{\text{PrFl}+\text{Fru}}$ ) no resultaron estadísticamente diferentes del control. En el año 2014, hubo una menor acumulación de flavonoides totales respecto al 2015. En el año 2016, no se encontraron diferencias estadísticas para el contenido de flavonoides entre  $K\text{Phi}_{\text{Fru}}-\text{C}$  y  $\text{C}-\text{C}$  ( $p = 0,6042$ ).

En las primeras dos temporadas (2014 y 2015), no hubo efectos significativos debidos a los tratamientos con  $K\text{Phi}$  ( $p = 0,4519$ ), ni tampoco efecto de interacción entre los factores en estudio ( $p = 0,6148$ ) sobre el contenido de clorofila total. El efecto del año fue altamente significativo, siendo el contenido de clorofila total mayor en el año 2014 respecto al 2015 (Tabla 13). En el tercer año, las diferencias entre los tratamientos tampoco resultaron estadísticamente significativas para contenido de clorofila total ( $p = 0,4399$ ).

No hubo efectos de los factores Tratamiento, Año o su interacción para el contenido de carotenoides totales en las primeras dos temporadas ( $p > 0,05$ ). Tampoco hubo efecto de los tratamientos en la tercera temporada de experimentos.

**Tabla 13.** AA, CA<sub>DPPH</sub>, CA<sub>FRAP</sub>, fenoles totales, flavonoides totales, clorofila total y carotenoides totales en pericarpio externo de frutos de kiwi Haywardanalizados al momento de la cosecha.

Años	Tratamientos	Capacidad antioxidante			Fenoles totales (mg Ag 100 g <sup>-1</sup> PF)	Flavonoides totales (mg eq. catequina 100 g <sup>-1</sup> PF)			Clorofila Total (µg g <sup>-1</sup> PF)	Carotenoides Totales (µg g <sup>-1</sup> PF)
		AA (mg 100 g <sup>-1</sup> PF)	DPPH (mg eq. AA g <sup>-1</sup> PF)	FRAP (µmol eq. Trolox g <sup>-1</sup> PF)						
2014	KPh <sub>i</sub> Fr <sub>i</sub>	99,4±5,0 b	1,12±0,1 a	7,01±0,4 a	135,5±7,9 a	2,44±0,6 b	15,12±0,9 a	1,99±0,3 a		
	KPh <sub>i</sub> Fr <sub>ru</sub>	116,4±5,0 a	1,35±0,1 a	8,49±0,4 a	155,1±7,9 a	5,04±0,5 a	15,45±0,9 a	2,75±0,2 a		
	KPh <sub>i</sub> Fr <sub>i</sub> Fr <sub>ru</sub>	95,2±5,0 b	1,12±0,1 a	7,00±0,4 a	134,7±7,9 a	4,47±0,5 ab	15,34±0,9 a	2,56±0,2 a		
	C	98,6±5,0 b	1,19±0,1 a	7,83±0,4 a	147,8±7,9 a	3,46±0,5 ab	15,45±0,8 a	2,83±0,2 a		
	<b>Promedio 2014</b>	<b>102,4±5,0</b>	<b>1,20±0,1</b>	<b>7,58±0,3</b>	<b>143,3±3,4</b>	<b>3,85±0,2 B</b>	<b>15,34±0,4 A</b>	<b>2,53±0,1</b>		
2015	KPh <sub>i</sub> Fr <sub>i</sub>	90,2±5,0 c	1,11±0,1 a	8,33±0,6 b	147,4±5,4 bc	4,95±0,3 b	9,68±0,8 a	3,08±0,2 a		
	KPh <sub>i</sub> Fr <sub>ru</sub>	115,6±5,0 ab	1,18±0,1 a	9,19±0,6 ab	167,3±5,4 b	5,85±0,3 a	10,11±0,9 a	2,65±0,2 a		
	KPh <sub>i</sub> Fr <sub>i</sub> Fr <sub>ru</sub>	127,3±5,0 a	1,36±0,1 a	11,08±0,6 a	207,9±5,4 a	5,20±0,3 ab	10,77±0,8 a	2,80±0,2 a		
	C	101,0±5,0 bc	1,13±0,1 a	9,81±0,6 ab	139,3±5,4 c	5,01±0,3 ab	12,06±0,9 a	2,80±0,2 a		
	<b>Promedio 2015</b>	<b>108,5±5,0</b>	<b>1,19±0,1</b>	<b>9,75±0,3</b>	<b>165,5±3,4</b>	<b>5,25±0,2 A</b>	<b>10,66±0,4 B</b>	<b>2,85±0,1</b>		
<b>FV</b>										
2014-2015		Tratamientos	0,0392	0,5446	0,0872	0,0010	0,0049	0,4519	0,7246	
		Años	<0,0001	0,9777	<0,0001	0,0003	0,0003	<0,0001	0,0612	
		Tratamientos x Años	0,0495	0,3583	0,0363	0,0001	0,1710	0,6148	0,0612	
2016	KPh <sub>i</sub> Fr <sub>ru</sub> -C		98,1±2,9 a	1,66±0,1 a	9,45±0,2 b	162,5±5,3 a	4,64±0,5 a	11,26±0,7 a	1,84±0,2 a	
		C-C	93,8±2,9 a	1,58±0,1 a	10,60±0,1 a	155,9±4,6 a	4,23±0,5 a	10,48±0,7 a	1,58±0,2 a	
		<b>Promedio 2016</b>	<b>96,0±2,9</b>	<b>1,62±0,1</b>	<b>10,10±0,2</b>	<b>158,7±3,4</b>	<b>4,43±0,4</b>	<b>10,87±0,5</b>	<b>1,72±0,1</b>	
<b>FV</b>										
		Tratamientos	0,3438	0,3509	0,0027	0,3954	0,6042	0,4399	0,2763	

<sup>1</sup>Tratamientos evaluados en el año 2014 y 2015: **KPh<sub>i</sub>Fr<sub>i</sub>**: una aplicación en prefloración, **KPh<sub>i</sub>Fr<sub>ru</sub>**: 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **KPh<sub>i</sub>Fr<sub>i</sub>Fr<sub>ru</sub>**: una aplicación en prefloración y 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **C**: plantas no tratadas (Control). <sup>2</sup>Tratamientos evaluados en el año 2016: **KPh<sub>i</sub>Fr<sub>ru</sub>-C**: seis aplicaciones foliares durante el desarrollo del fruto; **C-KPh<sub>i</sub>Fr<sub>ru</sub>**: sin fosfito en pre cosecha y tratada en pos cosecha. Letras minúsculas diferentes para un mismo año de evaluación indican diferencias entre tratamientos, y las mayúsculas, diferencias debidas al efecto principal del año (Tukey-Kramer, α=0,05). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones.

### 3.2. Al finalizar el almacenamiento refrigerado.

En la Tabla 14 se muestran los resultados de las mediciones realizadas al finalizar los 4 meses de almacenamiento refrigerado ( $0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , 95% HR).

No se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos con KPhi para el contenido de AA,  $CA_{DPPH}$ ,  $CA_{FRAP}$  durante las primeras dos temporadas (años 2014 y 2015), ni tampoco en la tercera (2016) ( $p > 0,05$ ). En los experimentos en los que se evaluaron los diferentes momentos de asperjado de las plantas con KPhi en precosecha tampoco hubo efecto significativo de los años (2014 y 2015) para el contenido de AA ni para  $CA_{DPPH}$  ( $p > 0,05$ ), mientras que si lo hubo para  $CA_{FRAP}$  ( $p < 0,0001$ ), resultando significativamente mayor el valor promedio de todos los tratamientos en el año 2015 respecto al 2014.

Respecto a los fenoles totales, mientras que en el año 2014 todos los tratamientos resultaron similares, los valores alcanzados por los frutos de los tratamientos  $KPhi_{Fru}$  y  $KPhi_{PrFI+Fru}$  resultaron significativamente superiores al control en el año 2015 (interacción Tratamiento  $\times$  Año significativa;  $p = 0,0234$ ). En la tercera temporada no se detectaron efectos significativos debidos a los tratamientos sobre el contenido de fenoles totales ( $p = 0,5190$ ).

Para el contenido de flavonoides totales hubo diferencias significativas debidas a los tratamientos con KPhi precosecha dependiendo del año de evaluación (interacción Tratamiento  $\times$  Año significativa;  $p = 0,0101$ ). En las temporadas de los años 2014 y 2015, los frutos tratados con KPhi presentaron en general menor contenido de flavonoides totales respecto a los no tratados, siendo estas diferencias estadísticamente significativas en ambos años cuando se comparó  $KPhi_{PrFI}$  con el control. Siguiendo la misma tendencia que la observada en las determinaciones a cosecha, hubo menor contenido de flavonoides en los frutos analizados al finalizar la salida de frío en el 2014 respecto al 2015, independientemente de los tratamientos. En el año 2016 no se detectaron diferencias estadísticas para flavonoides totales debidas a los tratamientos de precosecha y poscosecha con KPhi ( $p = 0,5897$ ).

Para clorofila total se encontró un efecto significativo debido a la interacción entre los tratamientos y los años ( $p = 0,0269$ ). El contenido de clorofila en los frutos del tratamiento  $KPhi_{Fru}$  fue significativamente mayor a los controles en el año 2014, aunque no se encontraron diferencias entre ambos tratamientos en el año 2015. Los valores de clorofila total determinados en la tercera temporada no difirieron estadísticamente entre tratamientos ( $p = 0,1376$ ).

Para el contenido de carotenoides totales, se detectaron efectos principales de los tratamientos y de los años en las primeras dos temporadas (ambos con  $p < 0,01$ ). El contenido de carotenoides totales resultó significativamente mayor en los frutos de kiwi del tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{FRU}}$  que en los controles, en ambos años (2014 y 2015). Independientemente del tratamiento, en el año 2014 se determinó un mayor contenido de carotenoides en la pulpa (pericarpio) de los frutos respecto al 2015. En relación a la tercera temporada, las diferencias entre los tratamientos resultaron significativas ( $p = 0,0189$ ), con mayor contenido de carotenoides en los frutos del tratamiento combinado  $K\text{Phi}_{\text{FRU}} - K\text{Phi}_{\text{POS}}$  respecto a los frutos control (C – C).

### 3.3. Al finalizar la vida comercial.

La Tabla 15 muestra los resultados para cada una de las variables medidas al finalizar la vida comercial (7 días a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 90% HR) de frutos de kiwi almacenados por 4 meses en frío ( $0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , 95% HR).

En los experimentos realizados en las primeras dos temporadas se encontraron efectos principales debidos a los tratamientos ( $p = 0,0059$ ) y a los años ( $p = 0,0048$ ) para el contenido de AA. Los valores de AA determinados en el pericarpio externo de los frutos del tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{FRU}}$  resultaron significativamente mayores al de los controles y al tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{PRFI}}$  en el año 2014. En el año 2015, los frutos del tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{PRFI}+\text{FRU}}$  acumularon mayor contenido de AA que los frutos del tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{PRFI}}$  y C, aunque no hubo diferencias estadísticas con  $K\text{Phi}_{\text{FRU}}$ . Respecto al efecto debido al año, en 2015 se determinó mayor contenido de AA que en 2014, independientemente del tratamiento realizado con KPhi. En la tercera temporada, también hubo un efecto significativo debido a los tratamientos ( $p = 0,0016$ ). Para el año 2016, los resultados muestran que los frutos del tratamiento combinado  $K\text{Phi}_{\text{FRU}} - K\text{Phi}_{\text{POS}}$  presentaron mayor contenido de AA que el control (C – C) y que el tratamiento C –  $K\text{Phi}_{\text{POS}}$ , aunque sin diferencias estadísticas con  $K\text{Phi}_{\text{FRU}} - C$ .

En el caso de la  $\text{CA}_{\text{DPPH}}$  el efecto debido a los tratamientos no fue significativo ( $p = 0,6779$ ) y tampoco lo fue el efecto del factor año ( $p = 0,7252$ ) o su interacción ( $p = 0,5566$ ) para los años 2014 y 2015. En la tercera temporada, tampoco hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos para esta variable ( $p = 0,3919$ ).

En las dos primeras temporadas, no se encontró efecto significativo debido a los tratamientos para la  $\text{CA}_{\text{FRAP}}$  ( $p = 0,3442$ ), aunque sí para el efecto Año ( $p = 0,0001$ ), resultando mayor el valor medido en el año 2015 respecto del 2014 al igual que lo observado en la salida de frío. En la tercera temporada, las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas ( $p = 0,2325$ ).

Durante las dos primeras temporadas, el contenido de fenoles totales resultó significativamente mayor en los frutos del tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{Fru}}$  respecto al control y a  $K\text{Phi}_{\text{PrFI}}$ , independientemente del año (efecto principal de los tratamientos;  $p = 0,0201$ ). En el año 2015 se determinó mayor contenido de fenoles totales que en el 2014 (efecto principal de los años;  $p = 0,0424$ ). En la tercera temporada, no se encontraron efectos significativos debido a los tratamientos ( $p = 0,4054$ ), aunque el tratamiento combinado  $K\text{Phi}_{\text{Fru}} - K\text{Phi}_{\text{Pos}}$  muestra un aumento del 12% en el contenido de fenoles totales respecto al C-C.

Para flavonoides totales se encontró efecto significativo debido a los tratamientos ( $p = 0,0423$ ) y al año ( $p < 0,0001$ ). Los resultados muestran que ninguno de los tratamientos con KPhi difirió estadísticamente del control; las diferencias estadísticas en el contenido de flavonoides totales se encontraron entre el tratamiento combinado  $K\text{Phi}_{\text{PrFI}+\text{Fru}}$  que presentó un menor valor promedio respecto al tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{PrFI}}$ . En relación al año, los frutos de kiwi cosechados en el año 2014 presentaron menor contenido de flavonoides totales respecto al 2015. No hubo efecto significativo debido a los diferentes tratamientos con KPhi en los frutos evaluados en el año 2016 ( $p = 0,1499$ ), aunque el valor promedio del tratamiento  $K\text{Phi}_{\text{Fru}}$  resultó 33% superior al del C-C.

No hubo efecto significativo debido a los tratamientos ( $p = 0,3679$ ) para clorofila total en las primeras dos temporadas, mientras si hubo un efecto debido al año ( $p < 0,0001$ ), resultando mayor el contenido en el año 2014 que en 2015. Las diferencias entre los tratamientos para clorofila total tampoco fueron significativas en la tercera temporada ( $p = 0,1640$ ).

Para el contenido de carotenoides totales, las diferencias entre los tratamientos variaron con el año (interacción tratamiento x año significativa;  $p = 0,0011$ ). En el 2014, el contenido de carotenoides totales de  $K\text{Phi}_{\text{Fru}}$  fue estadísticamente menor al de  $K\text{Phi}_{\text{PrFI}}$ , resultando ambos similares al control. En el 2015, ambos tratamientos con KPhi presentaron un contenido de carotenoides totales significativamente menor al control. En la tercera temporada no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos para esta variable ( $p = 0,7904$ ).

**Tabla 14. AA, CA<sub>DPPH</sub>, CA<sub>FRAP</sub>, fenoles totales, flavonoides totales, clorofila total y carotenoides totales en pericarpio externo de frutos de kiwi Hayward analizados luego de 4 meses de almacenamiento refrigerado (0 ± 0,5°C, 95% HR).**

Años	Tratamientos	AA (mg 100 g <sup>-1</sup> PF)	Capacidad antioxidante			Fenoles totales (mg Ag 100 g <sup>-1</sup> PF)	Flavonoides totales (mg eq. catequina 100 g <sup>-1</sup> PF)	Clorofila Total (µg g <sup>-1</sup> PF)	Carotenoides Totales (µg g <sup>-1</sup> PF)
			DPPH (mg eq. AA g <sup>-1</sup> PF)	FRAP (µmol eq. Trolox g <sup>-1</sup> PF)					
2014	KPhi <sub>Fru</sub>	99,65±4,9 a	1,04±0,1 a	5,72±0,7 a	137,2±6,2 a	2,58±0,3 c	9,76±0,6 ab	3,41±0,1 b	
	KPhi <sub>Fru</sub>	100,70±4,9 a	1,32±0,1 a	7,38±0,7 a	158,6±6,2 a	3,24±0,3 ab	11,39±0,6 a	3,86±0,1 a	
	KPhi <sub>Fru</sub>	111,27±4,9 a	1,15±0,1 a	7,33±0,7 a	146,7±6,2 a	2,98±0,3 bc	10,96±0,6 ab	3,92±0,1 ab	
	C	97,36±4,9 a	1,21±0,1 a	6,83±0,7 a	149,8±6,2 a	3,60±0,3 a	8,77±0,6 b	3,54±0,1 b	
	<b>Promedio 2014</b>	<b>102,3±2,4</b>	<b>1,18±0,1</b>	<b>6,82±0,4 B</b>	<b>148,1±2,5</b>	<b>3,10±0,2 B</b>	<b>10,22±0,2</b>	<b>3,68±0,1 A</b>	
2015	KPhi <sub>Fru</sub>	93,84±4,9 a	1,09±0,1 a	11,74±0,7 a	160,0±3,4 b	4,16±0,3 c	7,99±0,2 ab	1,68±0,1 b	
	KPhi <sub>Fru</sub>	110,86±4,9 a	1,10±0,1 a	11,64±0,7 a	178,2±3,4 a	4,67±0,3 bc	8,68±0,2 a	2,01±0,1 a	
	KPhi <sub>Fru</sub>	107,95±4,9 a	1,37±0,1 a	11,86±0,7 a	184,9±3,4 a	5,47±0,3 ab	7,50±0,2 b	1,62±0,1 ab	
	C	114,95±4,9 a	1,04±0,1 a	11,02±0,7 a	153,0±3,4 b	6,16±0,3 a	8,08±0,2 ab	1,52±0,1 b	
	<b>Promedio 2015</b>	<b>106,9±2,4</b>	<b>1,15±0,1</b>	<b>11,57±0,4 A</b>	<b>169,0±2,5</b>	<b>5,12±0,2 A</b>	<b>8,06±0,2</b>	<b>1,71±0,1 B</b>	
<b>FV</b>									
Tratamientos		0,0914	0,3727	0,5608	0,0017	< 0,0001	0,0104	0,0054	
Años		0,1943	0,7401	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
Tratamientos x Años		0,0867	0,2189	0,5563	0,0234	0,0101	0,0269	0,1398	
2016	KPhi <sub>Fru</sub> - C	121,77±3,3 a	2,14±0,1 a	11,67±0,7 a	172,2±10,9 a	4,59±0,6 a	7,31±0,6 a	3,53±0,1 ab	
	C - KPhi <sub>Fru</sub>	115,08±3,3 a	2,22±0,1 a	11,60±0,7 a	180,8±10,9 a	4,44±0,6 a	7,73±0,5 a	3,70±0,1 ab	
	KPhi <sub>Fru</sub> - KPhi <sub>Fru</sub>	121,20±3,3 a	2,06±0,1 a	12,64±0,7 a	189,6±10,9 a	3,55±0,6 a	6,19±0,5 a	3,98±0,1 a	
	C - C	108,19±3,3 a	1,90±0,1 a	10,53±0,7 a	168,6±9,4 a	3,75±0,6 a	7,91±0,6 a	3,32±0,1 b	
	<b>Promedio 2016</b>	<b>116,56±2,2</b>	<b>2,08±0,1</b>	<b>11,68±0,4</b>	<b>177,1±5,1</b>	<b>4,20±0,2</b>	<b>7,23±0,3</b>	<b>3,64±0,1</b>	
<b>FV</b>									
Tratamientos		0,0658	0,5461	0,2696	0,5190	0,5897	0,1376	0,0189	

<sup>1</sup>Tratamientos evaluados en el año 2014 y 2015: **KPhi<sub>Fru</sub>**: una aplicación en prefloración, **KPhi<sub>Fru</sub>**: 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **KPhi<sub>Fru</sub>**: una aplicación en prefloración y 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **C**: plantas no tratadas (Control). <sup>2</sup>Tratamientos evaluados en el año 2016: **KPhi<sub>Fru</sub>-C**: seis aplicaciones foliares durante el desarrollo del fruto; **C-KPhi<sub>Fru</sub>**: sin fosfito en precosecha y tratada en una solución de fosfito en poscosecha; **KPhi<sub>Fru</sub>-KPhi<sub>Fru</sub>**: fruta tratada en precosecha y en poscosecha; **C-C**: sin fosfito en precosecha o poscosecha. Letras minúsculas diferentes para un mismo año de evaluación indican diferencias entre tratamientos, y las mayúsculas, diferencias de medias al efecto principal del año (Tukey-Kramer, α=0,05). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones.

**Tabla 15.** AA, CA<sub>DPH</sub>, CA<sub>FRAP</sub>, fenoles totales, flavonoides totales, clorofila total y carotenoides totales en pericarpio externo de frutos de kiwi Hayward analizados en vida comercial (7 días a 20 ± 2°C, 90% HR), luego de 4 meses de almacenamiento refrigerado (0 ± 0,5°C, 95% HR).

Años	Tratamientos	AA (mg 100 g <sup>-1</sup> P <sub>F</sub> )	Capacidad antioxidante			Fenoles totales (mg Ag 100g <sup>-1</sup> P <sub>F</sub> )	Flavonoides totales (mg eq. catequina 100 g <sup>-1</sup> P <sub>F</sub> )	Clorofila Total (µg g <sup>-1</sup> P <sub>F</sub> )	Carotenoides Totales (µg g <sup>-1</sup> P <sub>F</sub> )
			DPPH (mg eq. AA g <sup>-1</sup> P <sub>F</sub> )	FRAP (µmol eq. Trolox g <sup>-1</sup> P <sub>F</sub> )					
2014	KPh <sub>Fu</sub> P <sub>F</sub>	100,83±5,4 b	0,90±0,1 a	7,79±0,8 a	129,7±7,2 b	5,65±0,4 a	12,85±0,5 a	3,01±0,1 a	
	KPh <sub>Fu</sub>	111,17±5,4 ab	1,15±0,1 a	10,14±0,8 a	160,5±7,2 a	5,44±0,4 ab	11,50±0,5 a	2,52±0,1 b	
	KPh <sub>Fu</sub> P <sub>H</sub> F <sub>Fu</sub>	108,43±5,4 a	1,05±0,1 a	8,02±0,8 a	147,5±7,2 ab	3,09±0,4 b	12,03±0,5 a	2,58±0,1 ab	
	C	98,69±5,4 b	1,06±0,1 a	7,55±0,8 a	145,6±7,2 b	4,31±0,4 ab	11,31±0,5 a	2,67±0,1 ab	
	<b>Promedio 2014</b>	<b>104,8±2,7 B</b>	<b>1,04±0,1</b>	<b>8,37±0,4 B</b>	<b>145,8±3,6 B</b>	<b>4,62±0,2 B</b>	<b>11,92±0,3 A</b>	<b>2,69±0,1 A</b>	
2015	KPh <sub>Fu</sub> P <sub>F</sub>	108,93±5,4 b	1,08±0,1 a	11,08±0,8 a	155,6±7,2 b	8,20±0,6 a	8,28±0,5 a	1,91±0,1 b	
	KPh <sub>Fu</sub>	118,27±5,4 ab	1,07±0,1 a	11,08±0,8 a	168,4±7,2 a	7,92±0,6 ab	7,74±0,5 a	2,12±0,1 b	
	KPh <sub>Fu</sub> P <sub>H</sub> F <sub>Fu</sub>	137,06±5,4 a	1,08±0,1 a	11,27±0,8 a	169,6±8,9 ab	7,56±0,6 b	7,86±0,5 a	2,21±0,1 ab	
	C	105,15±5,4 b	1,01±0,1 a	11,04±0,8 a	140,2±7,2 b	8,60±0,6 ab	8,86±0,5 a	2,77±0,1 a	
	<b>Promedio 2015</b>	<b>117,4±2,7 A</b>	<b>1,06±0,1</b>	<b>11,12±0,4 A</b>	<b>158,4±3,8 A</b>	<b>8,07±0,3 A</b>	<b>8,79±0,3 B</b>	<b>2,25±0,1 B</b>	
<b>FV</b>									
2014-2015	Tratamientos	0,0056	0,6779	0,3442	0,0201	0,0423	0,3679	0,0310	
Años		0,0048	0,7252	0,0001	0,0424	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	
Tratamientosx Años		0,1631	0,5566	0,3275	0,1742	0,1563	0,2310	0,0011	
2016	KPh <sub>Fu</sub> - C	107,82±4,4 ab	1,32±0,1 a	9,93±0,9 a	168,2±9,7 a	5,87±0,5 a	7,23±0,3 a	3,23±0,1 a	
	C - KPh <sub>Fu</sub> P <sub>Pos</sub>	102,54±4,4 b	1,23±0,1 a	10,74±0,9 a	179,6±8,5 a	4,48±0,5 a	6,58±0,3 a	3,31±0,1 a	
	KPh <sub>Fu</sub> - KPh <sub>Fu</sub> P <sub>Pos</sub>	125,31±4,4 a	1,38±0,1 a	11,66±0,9 a	185,5±9,7 a	4,99±0,5 a	7,40±0,2 a	3,11±0,1 a	
	C - C	92,41±4,4 b	1,29±0,1 a	8,74±0,9 a	165,5±8,5 a	4,39±0,5 a	7,09±0,2 a	3,25±0,1 a	
	<b>Promedio 2016</b>	<b>107,02±3,7</b>	<b>1,31±0,1</b>	<b>10,27±0,5</b>	<b>174,4±4,5</b>	<b>4,97±0,3</b>	<b>7,10±0,1</b>	<b>3,22±0,1</b>	
<b>FV</b>									
Tratamientos		0,0016	0,3919	0,2325	0,4054	0,1499	0,1640	0,7904	
<b>valor p</b>									

<sup>1</sup>Tratamientos evaluados en el año 2014 y 2015: **KPh<sub>Fu</sub>P<sub>F</sub>**: una aplicación en prefloración, **KPh<sub>Fu</sub>**: 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **KPh<sub>Fu</sub>P<sub>H</sub>F<sub>Fu</sub>**: una aplicación en prefloración y 6 aplicaciones durante el desarrollo del fruto, **C**: plantas no tratadas (Control). <sup>2</sup>Tratamientos evaluados en el año 2016: **KPh<sub>Fu</sub> - C**: seis aplicaciones foliares durante el desarrollo del fruto; **C-KPh<sub>Fu</sub>P<sub>Pos</sub>**: sin fosfito en precosecha y tratada en una solución de fosfito en poscosecha; **KPh<sub>Fu</sub> - KPh<sub>Fu</sub>P<sub>Pos</sub>**: fruta tratada en precosecha y en poscosecha; **C-C**: sin KPh<sub>Fu</sub> precosecha o poscosecha. Letras minúsculas diferentes para un mismo año de evaluación indican diferencias entre tratamientos, y las mayúsculas, diferencias debidas al efecto principal del año (Tukey-Kramer, α=0,05). Los valores representan las medias y las barras de error indican el error estándar de la media de 3 repeticiones.

#### 4. DISCUSIÓN.

Si bien hay importantes variaciones entre los valores de referencia informados para el fruto de kiwi cv. 'Hayward' (Tabla 2, INTRODUCCIÓN GENERAL), las medias estimadas para el contenido de ácido ascórbico en este trabajo de Tesis son similares a los datos publicados por Castaldo *et al.* (1992), citado por McGhie (2013) y por Latocha *et al.* (2010), estos últimos utilizando la técnica de cromatografía líquida de alta performance.

La aplicación de KPhi promovió un aumento del contenido de ácido ascórbico en los frutos de kiwi analizados en el momento de la cosecha. Este incremento se encontró en dos de un total de tres años de experimentación. Aunque con diferencia entre años, los resultados indican que la aplicación durante el crecimiento del fruto (KPhi<sub>Fru</sub>) y el tratamiento combinado (KPhi<sub>PrFI+Fru</sub>) promovieron el aumento del contenido de ácido ascórbico en el pericarpio externo en los frutos de kiwi. Si bien las diferencias entre los tratamientos y el control no fueron estadísticas al finalizar el almacenamiento, si lo fueron al analizar la fruta en la vida comercial en ambas temporadas (2014 y 2015). Se encontró una similar tendencia a la observada en el momento de la cosecha, con mayor contenido de AA en el tratamiento KPhi<sub>PrFI+Fru</sub> seguido por KPhi<sub>Fru</sub>.

En la tercera temporada, el contenido de AA en los frutos del tratamiento KPhi<sub>Fru</sub> - C y KPhi<sub>Fru</sub> - KPhi<sub>Pos</sub> fue 12,0 a 12,5% superior al control al finalizar la salida de frío, aunque estas diferencias no fueron estadísticas. Asimismo, el tratamiento combinado KPhi<sub>Fru</sub> - KPhi<sub>Pos</sub> promovió un aumento de alrededor del 17% en el contenido de ácido ascórbico en la pulpa de los frutos de kiwi analizados en vida comercial, aunque la evidencia estadística no fue suficiente para demostrar la superioridad de este tratamiento. La detección de estas diferencias entre tratamientos y el control posiblemente se hubiera logrado si el contenido de AA se hubiese determinado mediante alguna técnica analítica de mayor precisión respecto a la colorimétrica utilizada en este trabajo de Tesis. Esta tendencia general que presentan los frutos tratados con KPhi a tener mayor contenido de AA en el pericarpio externo del fruto de kiwi debería ser estudiado más profundamente en futuras investigaciones.

Dos formas químicas tienen actividad biológica como vitamina C: el ácido ascórbico y su forma oxidada (ácido dehidroascórbico). Entre el 84 y 92% de la vitamina C contenida en el fruto de kiwi se encuentra en su forma reducida (ácido ascórbico) (Agar *et al.*, 1999; Nishiyama *et al.*, 2004). El ácido ascórbico está involucrado en los procesos de fotosíntesis, división y expansión celular (Smirnoff, 1996), siendo esencial

para el crecimiento y desarrollo y para el mantenimiento de la actividad metabólica de la célula (Foyer *et al.*, 2019).

Mientras el fruto se encuentra en la planta, parte del ascórbico es importado a partir de las hojas, pero en el kiwi se ha comprobado que la síntesis también ocurre en el fruto, fundamentalmente durante los estadios tempranos de crecimiento (Bulley *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010) y posiblemente permanezca activa aún durante el almacenamiento del fruto. Se han propuesto varias vías de síntesis de ácido ascórbico, todas teniendo a la glucosa como precursor. La más importante es la llamada ruta de Smirnoff-Wheeler o de la D-mannosa/L-galactosa. La síntesis está regulada en el kiwi a nivel de transcritos por la enzima GDP-galactosa fosforilasa (GGP) (Bulley *et al.*, 2009).

El aumento de los niveles de ascórbico en los frutos puede estar dado por una mayor síntesis y/o por un mayor reciclado de las formas oxidadas a las reducidas (ciclo de ascorbato-glutati6n). Jiang *et al.* (2018) han demostrado que el elevado contenido de ácido ascórbico característico en el fruto de kiwi *Actinidia eriantha* cv 'White', aún durante la poscosecha, es debido fundamentalmente a la síntesis mediante la ruta de Smirnoff-Wheeler, suplementada por la actividad de la enzima dehidroascorbato reductasa o ascórbico deshidrogenasa, que interviene en la reducci6n del ácido L-dehidroascórbico a L-ascórbico. Estos autores también determinaron que el contenido total de vitamina C (L-ascórbico + L-dehidroascórbico) se mantuvo en los frutos durante la poscosecha, con aumentos del L-ascórbico y concomitante disminuci6n de su forma oxidada.

Zhang *et al.* (2018) establecieron que la ruta de síntesis del L-galactosa (ruta de Smirnoff-Wheeler) y el ciclo de reciclado ascorbato-glutati6n fueron los responsables de la acumulaci6n de ácido ascórbico en frutos de kiwi *A. chinensis* var. *chinensis* 'Hongyang'. Probablemente, el aumento en el contenido de ascórbico observado en este trabajo de Tesis en los frutos de kiwi cv. 'Hayward' tratados con KPhi podría deberse a la mayor expresi6n de genes vinculados con estas rutas de síntesis o de reciclado.

Otra funci6n del ácido ascórbico es la de mantener el potencial redox de la célula, secuestrando EROs producto de la fotosíntesis y de la respiraci6n. El ácido ascórbico reduce el  $H_2O_2$  a  $H_2O$ , proceso que en el que interviene la enzima ascorbato peroxidasa (Taiz y Zieger, 2002). Como ya se ha discutido en el Capítulo 2, el estado redox del apoplasto interviene en el conjunto de seÑales que disparan los procesos de senescencia, defensa y respuestas a estrés. El ascórbico es el antioxidante más

abundante en el apoplasto, por lo que un mayor contenido, mejoraría la homeostasis y aumentaría la tolerancia al estrés, tanto biótico como abiótico.

En un trabajo reciente, Feldman *et al.* (2020) demostraron que el tratamiento con KPhi en papa promovió la expresión de genes relacionados con las enzimas del ciclo ascorbato-glutatión que intervienen aliviando el estrés oxidativo. Estos autores sugirieron que, al alcanzar un nuevo estado de homeostasis, el Phi activaría diferentes rutas de señalización de defensa en las plantas tratadas. Ese nuevo estado de homeostasis, capaz de enfrentar y paliar una situación de mayor estrés, con aumento de las EROs, podría vincularse con un aumento del *pool* de ácido ascórbico que interviene en el ciclo ascorbato-glutatión. En ese mismo sentido, Fenech *et al.* (2019) propusieron en su revisión que el tamaño del *pool* de ácido ascórbico que interviene en el ciclo ascorbato-glutatión de detoxificación celular tiene alta relación con el estado oxidativo.

Si bien no se planteó como objetivo evaluar la evolución del contenido de ascórbico al finalizar del almacenamiento en frío y la vida comercial sino el efecto de los tratamientos con KPhi, los resultados indican que los niveles de ácido ascórbico determinados en los frutos en el momento de la cosecha se mantuvieron durante el almacenamiento. En su experimento, Tavarini *et al.* (2008) encontraron que la fruta cosechada con 8,3°Brix, mostró una pérdida significativa de ascórbico durante el almacenamiento refrigerado y observaron un aumento al finalizar la vida comercial (7 días a 25°C). Por su lado, Ghasemnezhad *et al.* (2013) cosecharon frutos de kiwi con diferente estado de madurez y evaluaron el contenido de ácido ascórbico al finalizar 4 meses de almacenamiento refrigerado, demostrando que los valores se mantuvieron e incluso aumentaron cuando los frutos se cosecharon con al menos 7,5 °Brix. Posiblemente los resultados informados por estos autores se relacionen con una alta pérdida de peso (alrededor del 5 y 6% en 4 meses de almacenamiento a 0°C) y a un efecto de concentración del ácido ascórbico como consecuencia de la deshidratación del fruto.

En relación a los resultados de esta Tesis, si bien pudo haber ocurrido cierta deshidratación del fruto durante los 4 meses de almacenamiento, las condiciones de alta humedad relativa en la cámara de frío, es decir, un ambiente relacionado con una baja deshidratación del fruto, parece indicar que otro factor y no la deshidratación, podría ser la causa por la cual no se observó pérdida del contenido de AA en el fruto almacenado. Similar tendencia fue reportada por Baeza *et al.* (2018), en kiwi procedente del sudeste de la provincia de Buenos Aires y almacenado por períodos

prolongados en frío. Estos autores expresaron los resultados de AA en base al peso seco del fruto, lo que confirma que el contenido de AA en el fruto se mantiene durante la poscosecha. Todos estos antecedentes muestran que ciertas características particulares del fruto, posiblemente relacionadas con la alta acidez de los tejidos, podrían otorgarle al AA una alta estabilidad en este fruto (Lee y Kader, 2000).

La aplicación de KPhi durante el desarrollo del fruto ( $K\text{Phi}_{\text{Fru}}$ ) y en menor medida, el tratamiento combinado ( $K\text{Phi}_{\text{PrFl+Fru}}$ ), promovieron un aumento en el contenido de fenoles totales en la cosecha del año 2015, resultando además mayor el contenido respecto al control al finalizar la vida comercial en ambas temporadas (años 2014 y 2015). Similar tendencia se observó en la tercera temporada, en la que el tratamiento precosecha promovió un aumento en el contenido de fenoles totales respecto al control. La falta de evidencia estadística para determinar diferencias debidas a los tratamientos en el año 2016 posiblemente se deba al grado de precisión que tiene la metodología utilizada y también a la variabilidad existente entre frutos de un mismo tratamiento.

Como ya se ha mencionado, los elicitores son sustancias que estimulan respuestas similares a las producidas por diferentes tipos de estrés. El Phi ha sido considerado por Gorelick y Bernstein (2014) como un elicitador del tipo abiótico, cuya aplicación apunta esencialmente a reducir la severidad de las enfermedades que afectan los cultivos. En su revisión, Baenas *et al.* (2014) presentaron una mirada diferente del uso de elicitores, planteando que pueden ser utilizados como una estrategia para aumentar el contenido de compuestos con valor nutricional.

En los trabajos científicos, la investigación del efecto de la aplicación de Phi en plantas está orientada en su gran mayoría a estudiar las respuestas de defensa, con menor atención al aumento de metabolitos de interés para el consumo humano relacionados con la salud, entre ellos los polifenoles. No obstante, en los últimos años se ha prestado mayor atención a este aspecto, por la importancia creciente que tiene la incorporación de compuestos antioxidantes a la dieta humana y sus efectos benéficos en la salud.

Achary *et al.* (2017) y Trejo-Téllez y Gómez-Merino (2018) en sus revisiones mencionaron algunos antecedentes que demuestran que los Phi promueven el aumento del contenido de ácido ascórbico, antocianinas, clorofila y de proteínas, con respuestas en su mayoría reportadas en papa, cítricos, frutilla o lechuga, con inducción de la actividad de enzimas antioxidantes como POD y superóxido dismutasa (SOD) y mayor síntesis de flavonoides.

Recientemente, Wu *et al.* (2019) demostraron a partir de un estudio metabólico que los Phi indujeron un aumento de la concentración de ácido clorogénico y cafeico, precursores de la síntesis de flavonoides y lignina. En su trabajo Guzzo (2016) encontró sobreexpresión de genes codificantes que intervienen en la síntesis de flavonoides por efecto del asperjado de Phi en hojas de papa. Anteriormente, Burra *et al.* (2014) habían reportado que los transcriptos que codifican a la enzima PAL, clave en la ruta de síntesis de compuestos fenólicos, habían sido inducidos más de 10 veces en hojas de papa tratadas con Phi respecto a controles sin tratar. En el mismo sentido, un aumento en el contenido de diferentes compuestos fenólicos en plantas de mango tratadas con Phi para el control del hongo *Ceratocystis fimbriata* también fue reportado por Araujo *et al.* (2015). No obstante, muchos de estos trabajos no reportan los cambios en el contenido de compuestos nutricionales en los órganos de cosecha debidos a la aplicación de Phi.

En este trabajo de Tesis, los resultados muestran que el aumento del contenido de fenoles totales como respuesta a la aplicación de KPhi en los frutos de kiwi en el momento de cosecha o al finalizar el almacenamiento fue dependiente de las condiciones agroclimáticas de la temporada. El asperjado con KPhi durante el crecimiento del fruto y, sobre todo en combinación con la aplicación en prefloración, promovió el aumento de compuestos fenólicos con ciertas condiciones climáticas del año 2015. No obstante, este efecto del KPhi fue observado en ambos años (2014 y 2015) cuando se analizó la fruta al finalizar la vida comercial. Una diferente acumulación de fenoles en plantas tratadas con bioestimulantes según el año también ha sido reportada en otras frutas como damasco (Tarantino *et al.*, 2018). Estos autores sugirieron que las condiciones climáticas pueden predisponer a una mayor o menor acumulación de antioxidantes.

Los tratamientos con KPhi no afectaron significativamente el contenido de clorofila total y carotenoides totales en los frutos a cosecha. El mayor contenido de clorofila en los frutos KPhi<sub>Fru</sub> comparado con el control al finalizar el almacenamiento refrigerado particularmente en el primer año, se podría relacionar con una menor degradación, asociado a una menor concentración de etileno en los tejidos del fruto. Esta hipótesis surge a partir de la menor producción de etileno medida en los frutos almacenados por 4 meses e incubados durante 14 días a 20°C (Figura 15 a y b, Capítulo 1).

En los frutos de *A. chinensis* var. *deliciosa* la clorofila queda retenida en los cloroplastos y no es mayormente degradada durante la maduración organoléptica, tal es el caso del cv. 'Hayward' (Montefiori *et al.*, 2009) que además tiene un bajo

contenido de carotenoides respecto a los frutos de kiwi *A. chinensis* var. *chinensis* de pulpa amarilla. Es posible que por ambas razones el contenido de clorofila y de carotenoides totales fueron poco afectados por los tratamientos de KPhi en precosecha y/o poscosecha, durante el almacenamiento en frío y posterior vida comercial. Asimismo, el análisis del color de pulpa realizado en este trabajo de Tesis mediante el índice de color calculado con los parámetros de un colorímetro tampoco mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos con KPhi y el control (Tablas 6, 7 y 8, Capítulo 1). Es importante aclarar que el grado de intensidad de color verde de la pulpa (pericarpio) de los frutos de kiwi 'verdes' (*A. chinensis* var. *deliciosa*) no es una característica considerada en la comercialización, tanto en la venta mayorista y minorista, como lo es la firmeza o el contenido de materia seca.

Los métodos utilizados para medir la capacidad antioxidante (DPPH y FRAP) en general no permitieron detectar diferencias estadísticas debidas a los tratamientos con KPhi, en ninguno de los tres años de estudio, a pesar de los aumentos en el contenido de ácido ascórbico y fenoles totales como respuesta a la aplicación de los diferentes tratamientos. La aplicación de KPhi durante el desarrollo del fruto (KPhi<sub>Fru</sub>) y los tratamientos combinados (KPhi<sub>PrFl+Fru</sub> y KPhi<sub>Fru</sub>-KPhi<sub>Pos</sub>) promovieron un aumento del contenido de uno o ambos de estos compuestos con poder antioxidante, principalmente en la vida comercial, lo que no pudo ser detectado por estas dos metodologías utilizadas para estimar la capacidad antioxidante.

Por el método FRAP, se pudo determinar un mayor contenido de antioxidantes en el 2015 respecto al 2014 posiblemente relacionado con las condiciones agroclimáticas propias del año 2015 que propiciaron una mayor acumulación de antioxidantes. Como ya se mencionó, las condiciones ambientales del año pueden afectar la acumulación de antioxidantes. Si bien aún está poco estudiado, la acumulación de AA en los órganos cosechables aumenta con la cantidad e intensidad de radiación durante el crecimiento y desarrollo de cultivo (Lee y Kader, 2000). Como el AA se sintetiza a partir de azúcares, todo factor que promueva la fotosíntesis posiblemente estimule también la síntesis de este compuesto. En ese sentido, la fertilización mineral (esencialmente con N, Zn y B) también pueden contribuir con una mayor acumulación de ácido ascórbico en frutos de kiwi (Vajari *et al.*, 2018).

En un experimento realizado en Nueva Zelanda, se ha demostrado que una mayor temperatura media (16,0 o 18,6°C respecto a 13,3°C) durante la primavera induce un aumento del AA en los frutos, mientras que si las temperaturas se elevan durante el verano y el otoño, ocurre lo contrario (Snelgar *et al.*, 2005). Por otro lado, Lee y Kader

(2000) reportaron que un exceso de contenido de agua en el suelo (por excesivas precipitaciones o riego) reduce la concentración de AA en los frutos. En relación a los compuestos fenólicos, Montanaro *et al.* (2007) han demostrado que el sombreado afecta su síntesis, por lo que toda práctica y manejo de la canopia que mejore la interceptación de la radiación durante las primeras 5 a 6 semanas de crecimiento del fruto aumentará su acumulación.

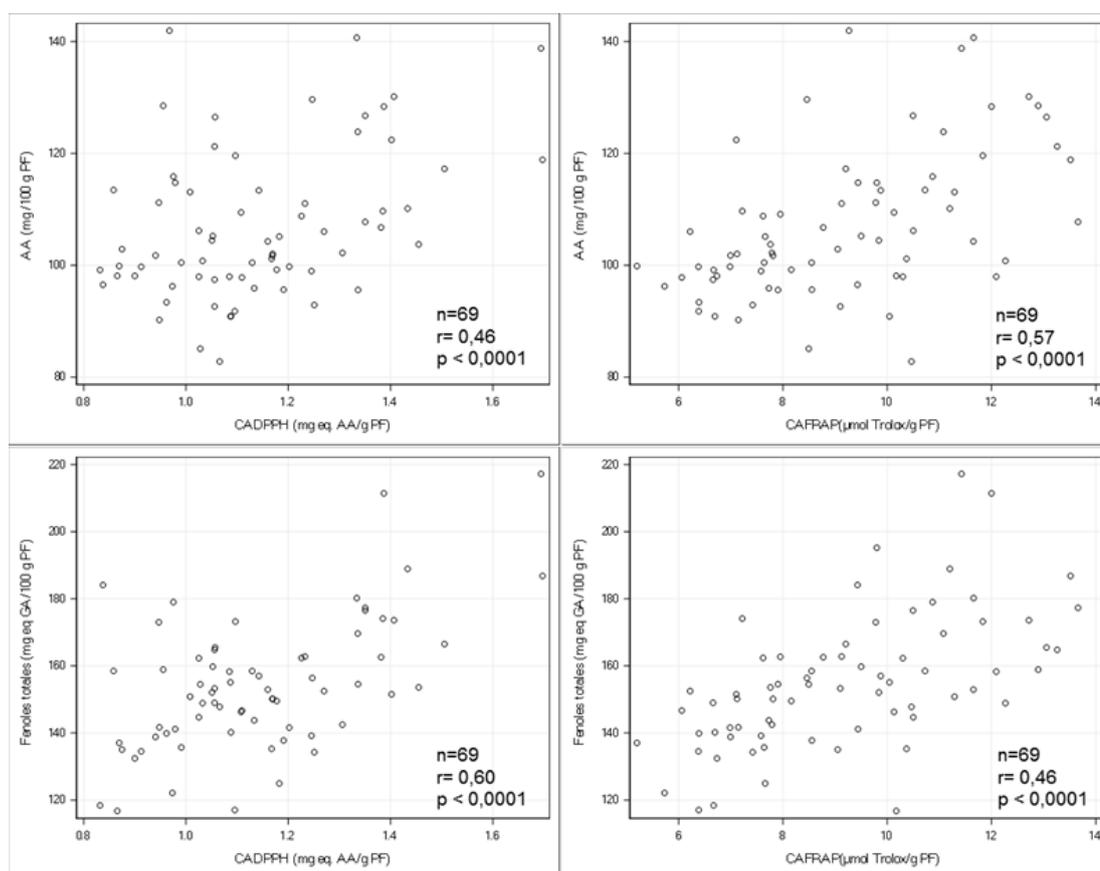
La temperatura media mensual, heliofanía media mensual, precipitación acumulada mensual de las temporadas 2013-2014 y 2014-2015 se muestran en las Figuras I y II del APÉNDICE. No es posible relacionar alguna de estas variables con las diferencias entre años observada para el contenido de ácido ascórbico, fenoles totales y capacidad antioxidante. Posiblemente, varios factores (climáticos y de manejo) hayan contribuido con las diferencias observadas entre años, incluyendo diferencias en la carga frutal relacionada negativamente con el contenido de ácido ascórbico (Thakur y Chandel, 2004).

Teniendo en cuenta los valores de referencia que figuran en la Tabla 2 de la INTRODUCCIÓN GENERAL, los resultados del contenido de fenoles totales reportados en este trabajo de Tesis son similares a los reportados por Park *et al.* (2011) y superiores al resto de las referencias. Estas diferencias pueden deberse a la metodología de extracción (a baja temperatura), que reduce la pérdida de ácido ascórbico y de otros compuestos que, al igual que los polifenoles, son extraídos con etanol. En ese sentido, cualquier compuesto con actividad antioxidante puede reaccionar con el reactivo Folin-Ciocalteu, sobrevaluando el resultado. Stratil *et al.* (2006) propusieron corregir el valor de la determinación de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu, midiendo concentraciones conocidas de ascórbico para sustraer el resultado en muestras de matrices con alto contenido de vitamina C.

Cuando se evaluaron las correlaciones entre los valores de CA (por el método de DPPH y FRAP) y el contenido de AA para el conjunto de datos del 2014 y 2015, sin discriminar los tratamientos, se encontraron que fueron significativas ( $p < 0,0001$ ), con coeficientes de Pearson de 0,46 y 0,52, respectivamente. Para la relación entre la CA y el contenido de fenoles, los coeficientes de Pearson fueron 0,60 y 0,46 (para  $CA_{DPPH}$  y  $CA_{FRAP}$ , respectivamente). Aunque la correlación entre la  $CA_{DPPH}$  y el contenido de AA en el *pool* de datos fue significativa, cuando se analizó dicha correlación en el *set* de datos de cada tratamiento ( $n=18$ ), sólo resultó significativa para el tratamiento  $KPhi_{Fru}$ . Esto explica también la falta de detección de diferencias estadísticas entre

tratamientos para  $CA_{DPPH}$  cuando si las hubo para AA, indicando que otros compuestos además del AA y de los fenoles son capaces de reaccionar con el DPPH.

En la matriz estudiada (pericarpio externo del fruto de kiwi), la capacidad antioxidante medida por el método FRAP estuvo correlacionada significativamente con el contenido de fenoles, y en mayor medida en los tratamientos con KPhi (datos no mostrados). En la Figura 32 se muestran los gráficos con los valores utilizados para estimar las correlaciones con el conjunto de datos de los años 2014 y 2015.



**Figura 32.** Correlaciones entre CA por el método de DPPH y FRAP y el contenido de fenoles o de ácido ascórbico (2014 y 2015). Los puntos corresponden a todos los tratamientos y momentos de evaluación (cosecha, salida de frío, vida comercial).

La medición de fenoles totales utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu puede resultar en una sobrestimación del valor total debido a la presencia de un alto contenido de AA en el extracto, dado que este ácido tiene la capacidad de reducir al reactivo de Folin-Ciocalteu. No obstante, la mayor contribución al aumento de la capacidad antioxidante en los frutos tratados con KPhi posiblemente esté dado por el aumento del contenido de fenoles totales, debido a que tienen mayor poder antioxidante respecto al AA

(Stratil *et al.*, 2006), más allá que la contribución de los polifenoles y del ascórbico a la capacidad antioxidante está relacionado con el extractante (Jiao *et al.*, 2018) y la metodología utilizada.

Ambos métodos de medición de capacidad antioxidante (DPPH y FRAP) evalúan la capacidad como reductores de los compuestos presentes en la muestra (ácido ascórbico, fenoles, otros antioxidantes). Por tanto, los resultados indican la capacidad reductora de los compuestos extraídos con etanol de los tejidos del pericarpio del fruto de kiwi y sus cambios debidos a los tratamientos, pero no evalúa el poder de secuestro real (o el mecanismo de secuestro real) de EROs presentes en los tejidos biológicos (Benzie y Strain, 1999).

El kiwi es un fruto con alto contenido de ácido ascórbico pero tiene una relativamente baja concentración de fenoles respecto a otros (Latocha *et al.*, 2010). Promover el aumento a través de la aplicación de Phi u otros elicitores puede ser una estrategia interesante para aumentar su valor nutricional, además de mantener la firmeza y mejorar su respuesta de defensa ante el ataque de patógenos, lo cual fue desarrollado en los Capítulos 1 y 2, respectivamente.

## 5. CONCLUSIONES.

Hay evidencias para rechazar parcialmente la hipótesis que sostenía que *el fosfito de potasio induce la producción de ácido ascórbico, carotenos y compuestos fenólicos en frutos de kiwi, aumentando el valor nutracéutico del producto.*

La aplicación de fosfito tanto en precosecha como en poscosecha promovió el aumento de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenoides totales, aunque estos últimos sólo aumentaron al finalizar el almacenamiento en frío. El aumento en el contenido de estos compuestos debido a los tratamientos con Phi se relaciona con un mayor valor nutracéutico del producto.

Hay evidencias para rechazar parcialmente la hipótesis que sostenía que *las aplicaciones de fosfito durante el crecimiento del fruto producen una mejora de las características sensoriales y nutracéuticas.*

El asperjado de KPhi durante el crecimiento del fruto (KPhi<sub>Fru</sub>) fue el tratamiento que mostró mayor respuesta sobre la mayoría de los compuestos medidos con propiedades antioxidantes, mejorando la calidad nutracéutica, sin afectar la calidad sensorial del producto almacenado.

### 3. CONCLUSIONES GENERALES.

En Argentina, el sudeste de la provincia de Buenos Aires concentra la producción nacional de kiwi (*Actinidia chinensis* var. *deliciosa* cv. 'Hayward'), cuya comercialización es dirigida principalmente al mercado interno desde mayo a diciembre. Para ello, un importante volumen se almacena en cámaras de frío para retrasar el ablandamiento y reducir las pérdidas por sobremadurez y por podredumbres. Las pudriciones son causadas principalmente por *Botrytis cinerea* y se desarrollan a partir de infecciones latentes que vienen del campo, sumado a infecciones secundarias de frutos que se encuentran contiguos a uno enfermo mientras se encuentran en el interior de la cámara de frío.

Los fosfitos son compuestos inorgánicos, de bajo impacto ambiental, con actividad bioestimulante por sus demostradas respuestas de inducción de defensa en las plantas. En los últimos años ha surgido interés por evaluar la respuesta a la aplicación de fosfitos como estrategia para el control de enfermedades en diferentes cultivos, pero los antecedentes en frutales son muy escasos.

Los experimentos realizados en este trabajo de Tesis durante tres temporadas de cosecha permitieron evaluar el efecto de la aplicación de fosfito de potasio por asperjado de las plantas (precosecha) y/o por inmersión de los frutos (poscosecha), sobre tres aspectos importantes: la maduración organoléptica del fruto, su tolerancia al desarrollo de podredumbre gris y su valor nutricional.

El fosfito de potasio, aplicado durante el crecimiento del fruto o en poscosecha, retrasó el ablandamiento del fruto de kiwi al finalizar el almacenamiento refrigerado y la vida comercial, sin afectar otros índices de madurez o la calidad sensorial del producto. Esta respuesta estaría asociada a la menor producción de etileno en los frutos por efecto del fosfito y también podría deberse a un reforzamiento de las paredes celulares. El tratamiento con fosfito también redujo la tasa respiratoria del fruto de kiwi, lo cual es muy importante porque es una de las causas de deterioro y senescencia e implica un menor metabolismo y menor pérdida de peso.

En relación al desarrollo de podredumbre gris causado por *B. cinerea*, la aplicación de fosfito resultó efectiva tanto en precosecha como en poscosecha, reduciendo la severidad de la enfermedad. Entre los tratamientos precosecha, el asperjado de las plantas durante el desarrollo del fruto mostró un buen control durante los tres años de investigación. En este patosistema *A. chinensis* - *B. cinerea*, la menor producción de etileno contribuyó con un menor desarrollo de la enfermedad. El reforzamiento de las

células del pericarpio externo con aumento del contenido de lignina en el tejido, junto con el aumento de compuestos fenólicos, fueron parte de las respuestas de defensa inducida por el fosfito.

La aplicación de fosfito, tanto en precosecha como en poscosecha, promovió un aumento en el contenido de ácido ascórbico y compuestos fenólicos en los frutos de kiwi, mejorando su valor nutricional.

Si bien la inmersión de los frutos en una solución de fosfito de potasio mostró su eficacia en los aspectos estudiados, del mismo modo que los tratamientos precosecha, su aplicación en la industria del kiwi resultaría dificultosa, ya que implica el agregado de procesos (inmersión y secado) en la planta de empaque.

El asperjado de las plantas con fosfito de potasio durante el crecimiento del fruto fue el tratamiento más efectivo, al mantener la firmeza de la fruta, reducir la susceptibilidad al desarrollo de podredumbre gris y aumentar el contenido de compuestos con valor nutricional. Este tratamiento precosecha podría ser incluido entre las prácticas agronómicas de producción convencional de kiwi, para proteger al cultivo y mejorar el comportamiento del fruto durante el almacenamiento en frío y vida comercial.

Este trabajo de Tesis demuestra por primera vez que el fosfito es capaz de inhibir la producción de etileno y la tasa respiratoria e inducir la síntesis de lignina en el pericarpio del fruto en frutos tratados. Esto implica un aporte al conocimiento y a su vez, deja planteado nuevos interrogantes relacionados con las dosis de fosfito más efectivas, efecto de aplicaciones previas a la cosecha, comportamiento de otros cultivares de kiwi, entre otros.

#### 4. BIBLIOGRAFÍA.

- ABBOTT, J. A.; HARKER, F. R. 2016. Texture of Fruits and Vegetables. In: Gross, K. et al. (eds.). The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. USDA Agriculture Handbook; 66. pp. 89-110. Recuperado de: <https://www.ars.usda.gov/arsuserfiles/oc/np/commercialstorage/commercialstorage.pdf>
- ABUQAMAR, S.; MOUSTAFA, K.; TRAN, L. S. 2017. Mechanisms and strategies of plant defense against *Botrytis cinerea*. Critical Rev. Biotechnol. 37(2):262-274. DOI: 10.1080/07388551.2016.1271767
- ACHARY, V. M. M.; RAM, B.; MANNA, M.; DATTA, D.; BHATT, A.; REDDY, M. K.; AGRAWAL, P. K. 2017. Phosphite: a novel P fertilizer for weed management and pathogen control. Plant Biotechnol. J. 15(12):1493-1508. DOI: 10.1111/pbi.12803
- AGAR, I. T.; MASSANTINI, R.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A. A. 1999. Postharvest CO<sub>2</sub> and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut kiwifruit slices. J. Food Sci. 64(3):433-440. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1999.tb15058.x
- AGHDAM, M. S.; ASGHARI, M.; BABALAR, M.; SARCHESHMEH, M. A. A. 2016. Impact of salicylic acid on postharvest physiology of fruits and vegetables. In: Siddiqui, M. W. (ed.). Eco-friendly technology for postharvest produce quality. Academic Press. pp. 243-268.
- AHMED, K. B. M.; KHAN, M. M. A.; SIDDIQUI, H.; JAHAN, A. 2020. Chitosan and its oligosaccharides, a promising option for sustainable crop production - a review. Carbohydr. Polym. 227:115331. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115331
- ALBRIGO, L. 1999. Effects of foliar applications of urea or Nutriphite on flowering and yields of Valencia orange trees. Proc. Fla. State Hort. Soc. 112:1-4.
- ALTSCHUL, S.F.; MADDEN, T.L.; SCHÄFFER, A.A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402. DOI: 10.1093/nar/25.17.3389
- AMIOT, M. J.; RIVA, C.; VINET, A. 2016. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: a systematic review. Obesity Rev. 17(7):573-586. DOI: 10.1111/obr.12409
- ANDREU, A. B.; GUEVARA, M. G.; WOLSKI, E. A.; DALEO, G. R.; CALDIZ, D. O. 2006. Enhancement of natural disease resistance in potatoes by chemicals. Pest Manage. Sci. 62(2):162-170. DOI: 10.1002/ps.1142

- ANTUNES, M. D. C. 2007. The role of ethylene in kiwifruit ripening and senescence. *Stewart Postharvest Rev.* 3(2):1. DOI: 10.2212/spr.2007.2.9
- ARAUJO, L.; SILVA BISPO, W. M.; RIOS, V. S.; FERNANDES, S. A.; RODRIGUES, F. A. 2015. Induction of the phenylpropanoid pathway by acibenzolar-S-methyl and potassium phosphite increases mango resistance to *Ceratocystis fimbriata* infection. *Plant Dis.* 99(4):447-459. DOI: 10.1094/PDIS-08-14-0788-RE
- ARPAIA, M.; LABAVITCH, J.; GREVE, C.; KADER, A. 1987. Changes in the cell wall components of kiwifruit during storage in air or controlled atmosphere. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 112(3):474-481. Recuperado de: [https://ucanr.edu/sites/Postharvest\\_Technology\\_Center\\_/files/228419.pdf](https://ucanr.edu/sites/Postharvest_Technology_Center_/files/228419.pdf)
- ASICHE, W. O.; MITALO, O. W.; KASAHARA, Y.; TOSA, Y.; MWORIA, E. G.; OWINO, W. O.; USHIJIMA, K.; NAKANO, R.; YANO, K.; KUBO, Y. 2018. Comparative transcriptome analysis reveals distinct ethylene – independent regulation of ripening in response to low temperature in kiwifruit. *March. BMC Plant Biol.* 18(1):1-18. DOI: 10.1186/s12870-018-1264-y
- ATKINSON, R. G.; GUNASEELAN, K.; WANG, M. Y.; LUO, L.; WANG, T.; NORLING, C. L.; JOHNSTON, S. L.; MADDUMAGE, R.; SCHRÖDER, R.; SCHAFFER, R. J. 2011. Dissecting the role of climacteric ethylene in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) ripening using a 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase knockdown line. *J. Exp. Bot.* 62(11):3821-3835. DOI: 10.1093/jxb/err063
- BABALAR, M.; ASGHARI, M.; TALAEI, A.; KHOSROSHAHI, A. 2007. Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Food Chem.* 105:449-453. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.03.021
- BAENAS, N.; GARCÍA-VIGUERA, C.; MORENO, D. A. 2014. Elicitation: A tool for enriching the bioactive composition of foods. *Mol.* 19(9):13541. DOI: 10.3390/molecules190913541
- BAEZA, M.C.; QUILLEHAUQUY, V.; YOMMI, A.K.; ANDREU, A.B. 2018. Tecnologías de almacenamiento que permiten mantener la capacidad antioxidante y el contenido de ácido ascórbico en kiwi “Hayward”. VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICYTAC 2018). 1 al 3 de octubre de 2018. Córdoba.
- BARDAS, G. A.; VELOUKAS, T.; KOUTITA, O.; KARAOGLANIDIS, G. S. 2010. Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from kiwifruit to SDHIs, Qols and fungicides of other chemical groups. *Pest Manag. Sci.* 66(9):967-973. DOI: 10.1002/ps.1968

- BARNES, E. 1978. Principles of Sterile Technique. In: Atlas and Manual of Plant Pathology. Plenum Press, New York. pp. 29-33.
- BASILE, B.; ROUPHAEL, Y.; COLLA, G.; SOPPELSA, S.; ANDREOTTI, C. 2020. Appraisal of emerging crop management opportunities in fruit trees, grapevines and berry crops facilitated by the application of biostimulants. *Sci. Hortic.* 267:109330. DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109330
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; LONG, P. G.; GANESH, S. 1997. Curing of kiwifruit for control of postharvest infection by *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biol. Technol.* 12(2):137-145. DOI: 10.1016/S0925-5214(97)00043-4
- BAVARESCO, L.; LUCINI, L.; SQUERI, C.; ZAMBONI, M.; FRIONI, T. 2020. Protein hydrolysates modulate leaf proteome and metabolome in water-stressed grapevines. *Sci. Hortic.* 270:109413. DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109413
- BEEVER, D.J.; HOPKIRK G. 1990. Fruit development and fruit physiology. In: Warrington; I.J.; Weston, G.C. (eds). *Kiwifruit: science and management*. Auckland, Ray Richards. Publishers in assoc. with the N. Z. Soc. Hort. Sci., pp. 97- 126.
- BENÉS, G.; MURRAY, R.; ROSENSTEIN, S.; VITERI, M. L.; YOMMI, A. 2018. Uso y construcción de la tecnología de riego para kiwi en el sudeste bonaerense. En: Yommi, A. (ed) *Kiwi: manejo del suelo, riego y fertilización*. Ediciones INTA: p. 25-36.
- BENGE, J. R.; DE SILVA, H. N.; BANKS, N. H.; JEFFERY, P. B. 2000. Empirical modelling of postharvest changes in the firmness of kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 19(3):211-220. DOI: 10.1016/S0925-5214(00)00091-0
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239(1):70-76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology* 299:15-27. DOI: 10.1016/s0076-6879(99)99005-5
- BHATTACHARYA, A.; SOOD, P.; CITOVSKY, V. 2010. The roles of plant phenolics in defence and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection. *Mol. Plant Pathol.* 11(5):705-719. DOI: 10.1111/J.1364-3703.2010.00625.X

- BHARDWAJ, R.; HANDA, N.; SHARMA, R.; KAUR, H.; KOHLI, S.; KUMAR, V.; KAUR, P. 2014. Lignins and abiotic stress: an overview. In: Ahmad, P.; Wani, M. (eds). Physiological mechanisms and adaptation strategies in plants under changing environment. Springer, New York, NY. pp. 267-296. DOI: 10.1007/978-1-4614-8591-9\_10
- BISIACH, M.; MINERVINI, G.; VERCESI, A. 1984. Biological and epidemiological aspects of the kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planchon) rot caused by *Botrytis cinerea* Pers. Rivista Patol. Veg. S.IV 20:38-55. Recuperado de: <https://www.jstor.org/stable/42556856>
- BIZJAK, J.; WEBER, N.; MIKULIC-PETKOVSEK, M.; SLATNAR, A.; STAMPAR, F.; ALAM, Z.; STICH, K.; HALBWIRTH, H.; VEBERIC, R. 2013. Influence of Phostrade Ca on color development and anthocyanin content of 'Braeburn' apple (*Malus domestica* Borkh.). HortScience 48(2):193-199. DOI: 10.21273/HORTSCI.48.2.193
- BONGHI, C.; PAGNI, S.; VIDRIH, R.; RAMINA, A.; TONUTTI, P. 1996. Cell wall hydrolases and amylase in kiwifruit softening. Postharvest Biol. Technol. 9(1):19-29. DOI: 10.1016/0925-5214(96)00025-7
- BOQUETE, E. J.; TRINCHERO, G. D.; FRASCHINA, A. A.; VILELLA, F.; SOZZI, G. O. 2004. Ripening of "Hayward" kiwifruit treated with 1-methylcyclopropene after cold storage. Postharvest Biol. Technol. 32(1):57-65. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2003.09.013
- BORZA, T.; SCHOFIELD, A.; SAKTHIVEL, G.; BERGESE, J.; GAO, X.; RAND, J.; WANG-PRUSKI, G. 2014. Ion chromatography analysis of phosphite uptake and translocation by potato plants: dose-dependent uptake and inhibition of *Phytophthora infestans* development. Crop Prot. 56:74-81. DOI: 10.1016/j.cropro.2013.10.024
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Sci. Technol. 28(1):25-30.
- BRAT, P.; GEORGE, S.; BELLAMY, A.; DU CHAFFAUT, L.; SCALBERT, A.; MENNEN, L.; ARNAULT, N.; AMIOT, M. J. 2006. Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. J. Nutr. 136:2368-2373.
- BRIGATI, S.; GUALANDUZZI, S.; BERTOLINI, P.; SPADA, G. 2003. Influence of growing techniques on the incidence of *Botrytis cinerea* in cold stored kiwifruit. Acta Hort. 610:275-281. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.610.36

- BROOK, P. J. 1992. Botrytis stem-end rot and other storage diseases of kiwifruit-a review. *Acta Hort.* 297:545-550. DOI: 10.17660/ActaHortic.1992.297.71
- BULLEY, S. M.; RASSAM, M.; HOSER, D.; OTTO, W.; SCHÜNEMANN, N.; WRIGHT, M.; MACRAE, E.; GLEAVE, A.; LAING, W. 2009. Gene expression studies in kiwifruit and gene over-expression in *Arabidopsis* indicates that GDP-L-galactose guanyltransferase is a major control point of vitamin C biosynthesis. *J. Exp. Bot.* 60(3):765-778. DOI: 10.1093/jxb/ern327
- BURDON, J.; MCLEOD, D.; LALLU, N.; GAMBLE, J.; PETLEY, M.; GUNSON, A. 2004. Consumer evaluation of “Hayward” kiwifruit of different at-harvest dry matter contents. *Postharvest Biol. Technol.* 34(3):245-255. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2004.04.009
- BURDON, J.; LALLU, N.; FRANCIS, K.; BOLDINGH, H. 2007. The susceptibility of kiwifruit to low temperature breakdown is associated with pre-harvest temperatures and at-harvest soluble solids content. *Postharvest Biol. Technol.* 43:283–290. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2006.09.011
- BURDON, J.; LALLU, N. 2011. Kiwifruit (*Actinidia* spp.). In: Yahia, E. M. (ed.). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits: Volume 3: Cocona to mango* 1<sup>st</sup> ed. Woodhead Publishing, Cambridge, Reino Unido. pp. 326-362e.
- BURDON, J.; LALLU, N.; PIDAKALA, P.; BARNETT, A. 2013. Soluble solids accumulation and postharvest performance of “Hayward” kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 80:1-8. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2013.01.009
- BURDON, J.; PIDAKALA, P.; MARTIN, P.; BILLING, D.; BOLDINGH, H. 2016. Fruit maturation and the soluble solids harvest index for ‘Hayward’ kiwifruit. *Sci. Hortic.* 213:193-198. DOI: 10.1016/j.scienta.2016.10.027
- BURDON, J.; PIDAKALA, P.; MARTIN, P.; BILLING, D. 2017. Softening of ‘Hayward’ kiwifruit on the vine and in storage: The effects of temperature. *Sci. Hortic.* 220:176-182. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.04.004
- BURDON, J. N. 2018. Kiwifruit biology: the commercial implications of fruit maturation. *Hortic. Rev.* 46:385-421. DOI: 10.1002/9781119521082.ch8

- BURRA, D. D.; BERKOWITZ, O.; HEDLEY, P. E.; MORRIS, J.; RESJÖ, S.; LEVANDER, F.; LILJEROTH, E.; ANDREASSON, E.; ALEXANDERSSON, E. 2014. Phosphite-induced changes of the transcriptome and secretome in *Solanum tuberosum* leading to resistance against *Phytophthora infestans*. BMC Plant Biol. 14(1):1-17. DOI: 10.1186/s12870-014-0254-y
- CAI, C.; XU, C.; LI, X.; FERGUSON, I.; CHEN, K. 2006. Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest. Postharvest Biol. Technol. 40:163-169. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2005.12.009
- CANO, M. P. 1991. HPLC separation of chlorophyll and carotenoid pigments of four kiwifruit cultivars. J. Agric. Food Chem. 39:1786-1791. DOI: 10.1021/jf00010a019
- CARMONA, M.; SAUTUA, F. 2015. Buenas prácticas agronómicas para evitar la resistencia de los hongos a los fungicidas. [Archivo PDF] FAUBA. Recuperado de: [http://www.lares-srl.com/wp-content/uploads/2015/10/resistencia-fungicida-MEJORADA\\_6-10-15\\_FINAL1.pdf](http://www.lares-srl.com/wp-content/uploads/2015/10/resistencia-fungicida-MEJORADA_6-10-15_FINAL1.pdf)
- CASTALDO, D.; VOI, A. L. O.; GHERARDI, S.; TRIFIRO, A. 1992. Composition of italian kiwi (*Actinidia chinensis*) puree. J. Agric. Food Chem. 40(4):594-598. DOI: 10.1021/jf00016a013
- CICCO, N.; DICHIO, B.; XILOYANNIS, C.; SOFO, A.; LATTANZIO, V. 2007. Influence of calcium on the activity of enzymes involved in kiwifruit ripening. Acta Hort. 753: 433-438. DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.753.55
- CICORE, P. L.; SUAREZ, P. A.; ANDREU, A. B. 2012. Phosphites effect on late blight control and physiological parameters in potato (*Solanum tuberosum* L.) in Argentina. Pest Technol. 6(Special Issue 1):27-31. Recuperado de: [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/13210/CONICET\\_Digital\\_Nro.161\\_95.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/13210/CONICET_Digital_Nro.161_95.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- CLARK, C. J.; SMITH, G. S. 1991. Seasonal changes in the form and distribution of calcium in fruit of kiwifruit vines. J. Hort. Sci. 66(6):747-753. DOI: 10.1080/00221589.1991.11516207
- COSTA, G.; FERGUSON, R.; HUANG, H.; TESTOLIN, R. 2018. Main changes in the kiwifruit industry since its introduction: present situation and future. Acta Hortic. 1218:1-16. DOI: 10.17660/ActaHortic.2018.1218.1

- CRISOSTO, C. H.; MITCHAM, E. J.; KADER, A. A. 1996. Kiwifruit: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. UC Davis, Postharvest Technology Center, Kiwifruit Produce Fact. Perishables Handling; 85. Recuperado de: <http://postharvest.ucdavis.edu/files/259423.pdf>
- CRISOSTO, C. H.; CRISOSTO, G. M. 2001. Understanding consumer acceptance of early harvested "Hayward" kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 22(3):205-213. DOI: 10.1016/S0925-5214(01)00097-7
- CRISOSTO, C. H.; HASEY, J.; CANTIN, C.; GARIBAY, S.; CRISOSTO, G. M. 2008. New kiwifruit dry weight protocol. [Archivo PDF] UC Davis. Cooperative Extension Central Valley. Recuperado de: <https://ucanr.edu/sites/btfnf/files/162073.pdf>
- CHAMPA, W. H.; GILL, M. I. S.; MAHAJAN, B. V. C.; ARORA, N. K. 2015. Preharvest salicylic acid treatments to improve quality and postharvest life of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Flame Seedless. *J. Food Sci. Technol.* 52(6):3607-3616. DOI: 10.1007/s13197-014-1422-7
- CHOULIARAS, V.; GERASCAPOULOS, D.; LIONAKIS, S. 1997. Effects of seaweed extract on fruit growth, weight and maturation of 'Hayward' kiwifruit. *Acta Hort.* 444:485-492. DOI: 10.17660/ActaHortic.1997.444.74
- DALIO, R. J. D.; FLEISCHMANN, F.; HUMEZ, M.; OSSWALD, W. 2014. Phosphite protects *Fagus sylvatica* seedlings towards *Phytophthora plurivora* via local toxicity, priming and facilitation of pathogen recognition. *PLoS ONE* 9(1). DOI:10.1371/journal.pone.0087860
- DANIEL, R.; GUEST, D. 2006. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 67(3-5):194-201. DOI: 10.1016/j.pmpp.2006.01.003
- DELIOPOULOS, T.; KETTLEWELL, P. S.; HARE, M. C. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. *Crop Prot.* 29(10):1059-1075. DOI: 10.1016/j.cropro.2010.05.011
- DIXON, R. A.; ACHNINE, L.; KOTA, P.; LIU, C. J.; REDDY, M. S.; WANG, L. 2002. The phenylpropanoid pathway and plant defence - a genomics perspective. *Mol. Plant Pathol.* 3(5):371-390. DOI: 10.1046/j.1364-3703.2002.00131.x
- DROBY, S.; LICHTER, A. 2007. Post-harvest *Botrytis* infection: Etiology, development and management. In: Elad, Y.; et al. (eds.). *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Springer, Dordrecht. pp. 349-367. DOI: 10.1007/978-1-4020-2626-3\_19

- DU, G.; LI, M.; MA, F.; LIANG, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* fruits. Food Chem. 113(2):557-562. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.08.025
- DU JARDIN, P. 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. Sci. Hort. 196:3-14. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.021
- ELFAR, K.; RIQUELME, D.; ZOFFOLI, J. P.; LATORRE, B. A. 2017. First report of *Botrytis prunorum* causing fruit rot on kiwifruit in Chile. Plant Dis. 101(2):388. DOI: 10.1094/PDIS-05-16-0775-PDN
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, (s.f.) Chemical Name: Mono- and di-potassium salts of phosphorous acid. US. EPA. Recuperado de: [https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=113:6:::::P6\\_XCHEMICAL\\_ID:2917](https://iaspub.epa.gov/apex/pesticides/f?p=113:6:::::P6_XCHEMICAL_ID:2917)
- ESHRAHGH, L.; ANDERSON, J.; ARYAMANESH, N.; SHEARER, B.; MCCOMB, J.; HARDY, G. E. S. J.; O'BRIEN, P. A. 2011. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. Plant Pathol. 60(6):1086-1095. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2011.02471.x
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. 2012a. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance potassium phosphonates. EFSA Journal 10(12):2963. DOI: 10.2903/j.efsa.2012.2963
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2012b. Reasoned opinion on the modification of the existing MRLs for Fosetyl in potato, kiwi and certain spices. EFSA Journal 10(12):3019. DOI: 10.2903/j.efsa.2012.3019
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. 2014. Statement on the dietary risk assessment for proposed temporary maximum residue levels (t-MRLs) for Fosetyl-Al in certain crops. EFSA Journal 12(5):3695-3717. DOI: 10.2903/j.efsa.2014.3695
- FARÍAS, E. 2009. Expresión de los manejos de huerto en la calidad de los kiwis en postcosecha. Revista Frutícola 2:40-43.
- FELDMAN, M. L.; GUZZO, M. C.; MACHINANDIARENA, M. F.; REY-BURUSCO, M. F.; BELIGNI, M. V.; DI RIENZO, J.; CASTELLOTE, M. A.; DALEO, G. R.; ANDREU, A. B. 2020. New insights into the molecular basis of induced resistance triggered by potassium phosphite in potato. Physiol. Mol. Plant Pathol. 109:101452. DOI: 10.1016/j.pmpp.2019.101452

- FENECH, M.; AMAYA, I.; VALPUESTA, V.; BOTELLA, M. A. 2019. Vitamin C content in fruits: Biosynthesis and Regulation. *Front. Plant Sci.* 9:1-21. DOI: 10.3389/fpls.2018.02006
- FENG, J.; MCGLONE, A.; TANNER, D.; WHITE, A.; OLSSON, S.; PETLEY, M. 2011. Effect of penetration speed on flesh firmness measured on stored kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 61(1):29–34. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2011.01.014
- FERGUSON, A. R.; FERGUSON, L. R. 2003. Are kiwifruit really good for you?. *Acta Hortic.* 610:131-138. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.610.16
- FERGUSON, A. R. 2004. 1904—the year that kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) came to New Zealand. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 32(1):3-27. DOI: 10.1080/01140671.2004.9514276
- FERGUSON, A. R.; SEAL, A. G. 2008. Kiwifruit. In: Hancock, J. F. (ed.). *Temperate Fruit Crop Breeding*. Springer, Dordrecht, Países Bajos. pp. 235–264. DOI: 10.1007/978-1-4020-6907-9\_8
- FERGUSON, A. R. 2015. Kiwifruit in the world - 2014. *Acta Hortic.* 1096:33-46. DOI: 10.17660/ActaHortic.2015.1096.1
- FISK, C. L.; MCDANIEL, M. R.; STRIK, B. C.; ZHAO, Y. 2006. Physicochemical, sensory, and nutritive qualities of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* 'Ananasnaya') as affected by harvest maturity and storage. *J. Food Sci.* 71(3):S204-S210. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2006.tb15642.x
- FOYER, C. H.; KYNDT, T.; HANCOCK, R. D. 2019. Vitamin C in plants: novel concepts, new perspectives, and outstanding issues. *Antioxidants & Redox Signaling, ars.*2019.7819. DOI: 10.1089/ars.2019.7819
- FRIONI, T.; SABBATINI, P.; TOMBESI, S.; NORRIE, J.; PONI, S.; GATTI, M.; PALLIOTTI, A. 2018. Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grapevines. *Sci. Hortic.* 232:97-106. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.12.054.
- FU, L.; XU, B. T.; XU, X. R.; GAN, R. Y.; ZHANG, Y.; XIA, E. Q.; LI, H. BIN. 2011. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem.* 129(2):345-350. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.04.079
- FU, Z. Q.; DONG, X. 2013. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. *Ann. Rev. Plant Biol.* 64:839-863. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042811-105606

- FULLERTON, C. G. 2015. Kiwifruit softening: a cell wall study. Thesis Doctor of Philosophy in Food Science. University of Auckland. 303 p. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/2292/27684>
- FULLERTON, C. G.; PRAKASH, R.; NINAN, A. S.; ATKINSON, R. G.; SCHAFFER, R. J.; HALLETT, I. C.; SCHRÖDER, R. 2020. Fruit from two kiwifruit genotypes with contrasting softening rates show differences in the xyloglucan and pectin domains of the cell wall. *Front. Plant Sci.* 11:964. DOI: 10.3389/fpls.2020.00964
- GARCION, C.; LOHMANN, A.; LAMODIÈRE, E.; CATINOT, J.; BUCHALA, A.; DOERMANN, P.; MÉTRAUX, J. P. 2008. Characterization and biological function of the ISOCHORISMATE SYNTHASE2 gene of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 147:1279-1287. DOI: 10.1104/pp.108.119420
- GHASEMNEZHAD, M.; GHORBANALIPOUR, R.; SHIRI, M. A. 2013. Changes in physiological characteristics of kiwifruit harvested at different maturity stages after cold storage. *Agric. Conspectus Scient.* 78(1):41–47. Recuperado de: <https://hrcak.srce.hr/99320>
- GIGLIO, R. V.; PATTI, A. M.; CICERO, A. F.; LIPPI, G.; RIZZO, M.; TOTH, P. P.; BANACH, M. 2018. Polyphenols: potential use in the prevention and treatment of cardiovascular diseases. *Curr. Pharmac. Des.* 24(2):239-258. DOI: 10.2174/1381612824666180130112652
- GIOVANNONI, J. J. 2004. Genetic regulation of fruit development and ripening. *Plant Cell* 16(Suppl 1):S170-S180. DOI: 10.1105/tpc.019158
- GLOWACZ, M.; REES, D. 2016. Using jasmonates and salicylates to reduce losses within the fruit supply chain. *Eur. Food Res. Technol.* 242(2):143-156. DOI: 10.1007/s00217-015-2527-6
- GODOY, C.; DOME, C. 2013. Relación entre la madurez fisiológica y la madurez comercial de frutos de kiwi “Hayward” producidos en el sudeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina). *Rev. FCA-UNCUYO* 45(2):311-325.
- GÓMEZ-MERINO, F. C.; TREJO-TELLEZ, L. I. 2016. Conventional and novel uses of phosphite in horticulture: potentialities and challenges. *Italus Hortus* 23(2):1-13. Recuperado de: [https://www.soihs.it/public/32/Gomez-Merino%20e%20Trejo%20Tellez\\_02.pdf](https://www.soihs.it/public/32/Gomez-Merino%20e%20Trejo%20Tellez_02.pdf)
- GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, R.; VALERO-GALVÁN, J.; GÓMEZ-GÁLVEZ, F. J.; JORRÍN-NOVO, J. V. 2015. Unraveling the in vitro secretome of the phytopathogen *Botrytis cinerea* to understand the interaction with its hosts. *Front. in Plant Sci.* 6:839. DOI: 10.3389/fpls.2015.00839

- GORELICK, J.; BERNSTEIN, N. 2014. Elicitation: An underutilized tool in the development of medicinal plants as a source of therapeutic secondary metabolites. *Adv. Agron.* 124, 201-230. DOI: 10.1016/B978-0-12-800138-7.00005-X
- GULDAS, M. 2003. The determination of ascorbic acid, chlorophyll and pectin contents of Turkish kiwifruit. *J. Food Quality* 26:353-358. DOI: 10.1111/j.1745-4557.2003.tb00250.x
- GULLO, G.; DATTOLA, A.; LIGUORI, G.; VONELLA, V.; ZAPPIA, R.; INGLESE, P. 2016. Evaluation of fruit quality and antioxidant activity of kiwifruit during ripening and after storage. *J. Berry Res.* 6(1):25-35. DOI: 10.3233/JBR-150111
- GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr. Res.* 23(12): 1719-1726. DOI: 10.1016/j.nutres.2003.08.005
- GUO, J.; HAN, W.; WANG, M. 2008. Ultraviolet and environmental stresses involved in the induction and regulation of anthocyanin biosynthesis: a review. *African J. Biotech.* 7(25):4966-4972. Recuperado de: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/59709>
- GUTIÉRREZ-GAMBOA, G.; ROMANAZZI, G.; GARDE-CERDÁN, T.; PÉREZ-ÁLVAREZ, E. P. 2019. A review of the use of biostimulants in the vineyard for improved grape and wine quality: effects on prevention of grapevine diseases. *J. Sci. Food Agric.* 99(3):1001-1009. DOI: 10.1002/jsfa.9353
- GUTIÉRREZ-GAMBOA, G.; GARDE-CERDÁN, T.; RUBIO-BRETÓN, P.; PÉREZ-ÁLVAREZ, E. P. 2020. Seaweed foliar applications at two dosages to Tempranillo blanco (*Vitis vinifera* L.) grapevines in two seasons: Effects on grape and wine volatile composition. *Food Res. Int.* 130:108918. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108918
- GUZZO, M. C. 2016. Mecanismos de resistencia inducida por fosfitos en solanáceas. Tesis Doctor en Ciencias Biológicas. Instituto de Investigaciones Biológicas. UNMdP-CONICET. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. 126 p.
- HALL, A.; SNELGAR, B. 2008. Temperature effects on kiwifruit dry matter at harvest. *Acta Hortic.* 803:155-162. DOI: 10.17660/actahortic.2008.803.19
- HALLETT, I. C.; SUTHERLAND, P. W. 2005. Structure and development of kiwifruit skins. *Int. J. Plant Sci.* 166(5):693-704. DOI: 10.1086/431232

- HAMID, N. A. A.; MEDIANI, A.; MAULIDIANI, M.; ABAS, F.; PARK, Y. S.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; NAMIESNIK, J.; GORINSTEIN, S. 2017. Characterization of metabolites in different kiwifruit varieties by NMR and fluorescence spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 138:80-91. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.01.046
- HARKER, F. R.; MAINDONALD, J. H.; JACKSON, P. J. 1996. Penetrometer measurement of apple and kiwifruit firmness: operator and instrument differences. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 121(5):927-936.
- HARKER, F. R.; CARR, B. T.; LENJO, M.; MACRAE, E. A.; WISMER, W. V.; MARSH, K. B.; WILLIAMS, M.; WHITE, A.; LUND, C. M.; WALKER, S. B.; GUNSON, F. A.; PEREIRA, R. B. 2009. Consumer liking for kiwifruit flavour: A meta-analysis of five studies on fruit quality. *Food Qual. Pref.* 20(1):30-41. DOI: 10.1016/j.foodqual.2008.07.001
- HENARE, S. J. 2016. The nutritional composition of kiwifruit (*Actinidia* spp.). In: Simmonds, M. S. J.; Preedy, V. R. (eds.). *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*. Academic Press. pp. 337-370. DOI: 10.1016/B978-0-12-408117-8.00015-5
- HEWETT, E.W.; KIM, H.O.; LALLU, N. 1999. Postharvest physiology of kiwifruit: the challenges ahead. *Acta Hortic.* 498:203-216. DOI: 10.17660/ActaHortic.1999.498.23
- HONG, K.; GONG, D.; XU, H.; WANG, S.; JIA, Z.; CHEN, J.; ZHANG, L. 2014. Effects of salicylic acid and nitric oxide pretreatment on the expression of genes involved in the ethylene signalling pathway and the quality of postharvest mango fruit. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 42(3):205-216. DOI: 10.1080/01140671.2014.892012
- HOPKIRK, G.; BEEVER, D. J.; TRIGGS, C. M. 1986. Variation in soluble solids concentration in kiwifruit at harvest. *N. Z. J. Agric. Res.* 29(3):475-484. DOI: 10.1080/00288233.1986.10423500
- HOPKIRK, G.; SNELGAR, W. P.; HORNE, S. F.; MANSON, P. J. 1989. Effect of increased preharvest temperature on fruit quality of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *J. Hort. Sci.* 64(2):227-237.
- HOPPING, M. E. 1976. Structure and development of fruit and seeds in Chinese gooseberry (*Actinidia chinensis* Planch.). *N. Z. J. Bot.* 14(1):63-68. DOI: 10.1080/0028825x.1976.10428651

- HU, X.; KUANG, S.; ZHANG, A. D.; ZHANG, W. S.; CHEN, M. J.; YIN, X. R.; CHEN, K. S. 2016. Characterization of starch degradation related genes in postharvest kiwifruit. *Int. J. Mol. Sci.* 17 (12):2112-2123. DOI: 10.3390/ijms17122112
- HUANG, H. 2016a. Domestication and Commercialization of *Actinidia*. In: Huang, H. (ed.). *Kiwifruit: the genus Actinidia*. Academic Press, England. pp. 191–210. DOI: 10.1016/b978-0-12-803066-0.00004-6
- HUANG, H. 2016b. Main Cultivars in Commercial Production. In: Huang, H. (ed.). *Kiwifruit: the genus Actinidia*. Academic Press, England. pp. 239–263. DOI: 10.1016/b978-0-12-803066-0.00006-x
- HUANG, H. 2016c. Species. In: Huang, H. (ed.). *Kiwifruit: the genus Actinidia*. Academic Press, England. pp. 45-167. DOI: 10.1016/B978-0-12-803066-0.00002-2
- HUANG, H. 2016d. Systematics and Genetic Variation of *Actinidia*. In: Huang, H. (ed.). *Kiwifruit: the genus Actinidia*. Academic Press, England. pp. 9–44. DOI: 10.1016/b978-0-12-803066-0.00001-0
- HUANG, Z.; CARTER, N.; LU, H.; ZHANG, Z.; WANG-PRUSKI, G. 2018. Translocation of phosphite encourages the protection against *Phytophthora infestans* in potato: The efficiency and efficacy. *Pesticide Biochem. Physiol.* 152:122-130. DOI: 10.1016/j.pestbp.2018.09.007
- HUANG, W.; ZHU, N.; ZHU, C.; WU, D.; CHEN, K. 2019. Morphology and cell wall composition changes in lignified cells from loquat fruit during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 157:110975. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2019.110975
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISCA Y CENSOS. 2020. Comercio Exterior: Sistema de Consulta de Comercio Exterior de Bienes. INDEC. Recuperado de: <https://www.indec.gob.ar/indec/web/Nivel4-Tema-3-2-124>
- IPPOLITO, A.; NIGRO, F.; LIMA, G.; CASTELLANO, M.A.; SALERNO, M.; DI VENERE, D.; LINSALATA, V.; LATTANZIO, V. 1997. Mechanisms of resistance to *Botrytis cinerea* in wounds of cured kiwifruits. *Acta Hort.* 444:719-724. DOI: 10.17660/ActaHortic.1997.444.110
- JAEGER, S. R.; HARKER, R.; TRIGGS, C. M.; GUNSON, A.; CAMPBELL, R. L.; JACKMAN, R.; REQUEJO-JACKMAN, C. 2011. Determining consumer purchase intentions: The importance of dry matter, size, and price of kiwifruit. *J. Food Sci.* 76(3):177-184. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02084.x

- JIANG, Z. Y.; ZHONG, Y.; ZHENG, J.; ALI, M.; LIU, G. D.; ZHENG, X. L. 2018. L-ascorbic acid metabolism in an ascorbate-rich kiwifruit (*Actinidia eriantha* Benth.) cv. 'White' during postharvest. *Plant Physiol. Biochem.* DOI: 10.1016/j.plaphy.2018.01.005
- JIAO, Y.; KILMARTIN, P. A.; FAN, M.; QUEK, S. Y. 2018. Assessment of phenolic contributors to antioxidant activity of new kiwifruit cultivars using cyclic voltammetry combined with HPLC. *Food Chem.* 268:77-85. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.06.046
- JIMENEZ-GARCIA, S. N.; VÁZQUEZ-CRUZ, M. A.; MIRANDA-LOPEZ, R.; GARCIA-MIER, L.; GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G.; FERREGRINO-PEREZ, A. A. 2018. Effect of elicitors as stimulating substances on sensory quality traits in color sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Fascinato and Orangela) grown under greenhouse conditions. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 68(4):359–365. DOI: 10.2478/pjfn-2018-0003
- KARS, I.; KROOSHOF, G. H.; WAGEMAKERS, L.; JOOSTEN, R.; BENEN, J. A. E.; VAN KAN, J. A. 2005. Necrotizing activity of five *Botrytis cinerea* endopolygalacturonases produced in *Pichia pastoris*. *Plant J.* 43(2):213-225. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2005.02436.x
- KE, D.; EL-WAZIR, F.; COLE, B.; MATEOS, M.; KADER, A. A. 1994. Tolerance of peach and nectarine fruits to insecticidal controlled atmospheres as influenced by cultivar, maturity, and size. *Postharvest Biol. Technol.* 4(1–2):135–146. DOI: 10.1016/0925-5214(94)90015-9
- KIM, D. O.; LEE, C. Y. 2004. Comprehensive study on vitamin c equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44(4):253-273. DOI: 10.1080/10408690490464960
- KIM, H. O.; HEWETT, E. W.; LALLU, N. 1999. The role of ethylene in kiwifruit softening. *Acta Hort.* 498:255-261. DOI: 10.17660/ActaHortic.1999.498.29
- KIM, G. H.; KOH, Y. J. 2018. Diagnosis and integrated management of major fungal fruit rots on kiwifruit in Korea. *Res. Plant Dis.* 24(2):113-122. Recuperado de: <https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO201820765438101.pdf>
- KOH, Y. J.; LEE, J. G.; LEE, D. H.; HUR, J. S. 2003. *Botryosphaeria dothidea*, the causal organism of ripe rot of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) in Korea. *Plant Pathol. J.* 19(5):227-230. Recuperado de: <https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200311922981546.pdf>

- KOH, Y. J.; HUR, J. S.; JUNG, J. S. 2005. Postharvest fruit rots of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) in Korea. N. Z. J. Crop Hort. Sci. 33(3):303-310. DOI: 10.1080/01140671.2005.9514363
- KRUPA, T.; LATOCHA, P.; LIWIŃSKA, A. 2011. Changes of physicochemical quality, phenolics and vitamin C content in hardy kiwifruit (*Actinidia arguta* and its hybrid) during storage. Sci. Hortic. 130(2):410-417. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.06.044
- LARRIGAUDIÈRE, C.; PINTO, E.; VENDRELL, M. 1996. Differential effects of ethephon and Seniphos on color development of 'Starking Delicious' apple. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121:746-750.
- LATOCHA, P.; KRUPA, T.; WOŁOSIAK, R.; WOROBIJ, E.; WILCZAK, J. 2010. Antioxidant activity and chemical difference in fruit of different *Actinidia* sp. Int. J. Food Sci. Nut. 61(4):381-394. DOI: 10.3109/09637480903517788
- LATOCHA, P.; ŁATA, B.; STASIAK, A. 2015. Phenolics, ascorbate and the antioxidant potential of kiwiberry vs. common kiwifruit: The effect of cultivar and tissue type. J. Funct. Foods 19:155-163. DOI: 10.1016/j.jff.2015.09.024
- LEE, S. K.; KADER, A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. Postharvest Biol. Technol. 20(3):207-220. DOI: 10.1016/S0925-5214(00)00133-2
- LEIPNER, J.; FRACHEBOUD, Y.; STAMP, P. 1997. Acclimation by suboptimal growth temperature diminishes photooxidative damage in maize leaves. Plant Cell and Environ. 20(3) 366-372. DOI: 10.1046/j.1365-3040.1997.d01-76.x
- LEROUX, P. 2007. Chemical control of Botrytis and its resistance to chemical fungicides. In: Elad, Y, et al. (eds). Botrytis: Biology, Pathology and Control. Springer, Dordrecht. pp. 195-222. DOI: 10.1007/978-1-4020-2626-3\_12
- LI, H.; SUO, J.; HAN, Y.; LIANG, C.; JIN, M.; ZHANG, Z.; RAO, J. 2017. The effect of 1-methylcyclopropene, methyl jasmonate and methyl salicylate on lignin accumulation and gene expression in postharvest 'Xuxiang' kiwifruit during cold storage. Postharvest Biol. Technol. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2016.10.003
- LI, H. Y.; YUAN, Q.; YANG, Y. L.; HAN, Q. H.; HE, J. L.; ZHAO, L.; ZHANG, Q.; LIU, S. X.; LIN, D. R.; WU, D. T.; QIN, W. 2018. Phenolic profiles, antioxidant capacities, and inhibitory effects on digestive enzymes of different kiwifruits. Mol. 23(11):1-16. DOI: 10.3390/molecules23112957
- LI, M.; MA, F.; LIANG, D.; LI, J.; WANG, Y. 2010. Ascorbate biosynthesis during early fruit development is the main reason for its accumulation in kiwi. PLoS ONE 5(12):e14281. DOI: 10.1371/journal.pone.0014281

- LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Bioch. Soc. Trans.* 11(5):591-592. DOI: 10.1042/bst0110591
- LILJEROTH, E.; LANKINEN, Å.; WIIK, L.; BURRA, D. D.; ALEXANDERSSON, E.; ANDREASSON, E. 2016. Potassium phosphite combined with reduced doses of fungicides provides efficient protection against potato late blight in large-scale field trials. *Crop Prot.* 86:42-55. DOI: 10.1016/j.cropro.2016.04.003
- LIM, S.; BORZA, T.; PETERS, R. D.; COFFIN, R. H.; AL-MUGHRABI, K.I.; PINTO, D. M.; WANG-PRUSKI, G. 2013. Proteomics analysis suggests broad functional changes in potato leaves triggered by phosphites and a complex indirect mode of action against *Phytophthora infestans*. *J. Proteomic* 93:207-223. DOI: 10.1016/j.jprot.2013.03.010
- LIU, Q.; LUO, L.; ZHENG, L. 2018. Lignins: Biosynthesis and biological functions in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 19(2):335. DOI: 10.3390/ijms19020335
- LOBATO, C.; OLIVIERI, F.; ALTAMIRANDA, E.; ANDREU, A. 2008. Phosphite compounds reduce disease severity in potato seed tubers and foliage. *Eur. J. Plant Pathol.* 122(3):349-358. DOI: 10.1007/s10658-008-9299-9
- LOBATO, M. C.; OLIVIERI, F. P.; DALEO, G. R.; ANDREU, A. B. 2010. Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. *J. Plant Dis. Prot.* 117(3):102-109. DOI: 10.1007/BF03356343
- LOBATO, M. C.; MACHINANDIARENA, M. F.; TAMBASCIO, C.; DOSIO, G. A. A.; CALDIZ, D. O.; DALEO, G. R.; ANDREU, A. B.; OLIVIERI, F. P. 2011. Effect of foliar applications of phosphite on post-harvest potato tubers. *Eur. J. Plant Pathol.* 130(2):155-163. DOI: 10.1007/s10658-011-9741-2
- LOBATO, M. C.; DALEO, G. R.; ANDREU, A. B.; OLIVIERI, F. P. 2018. Cell wall reinforcement in the potato tuber periderm after crop treatment with potassium phosphite. *Potato Res.* 61(1):19-29. DOI: 10.1007/s11540-017-9349-9
- LOVATT, C. J. 1999. Timing citrus and avocado foliar nutrient applications to increase fruit set and size. *HortTechnology* 9(4):607-612. DOI: 10.21273/HORTTECH.9.4.607
- LOVATT, C. J.; MIKKELSEN, R. L. 2006. Phosphite fertilizers: What are they?. Can you use them?. What can they do?. *Better Crops* 90(4):11-13. Recuperado de: [https://spectrumanalytic.com/support/library/pdf/Phosphite\\_Fertilizers\\_What%20are%20they.pdf](https://spectrumanalytic.com/support/library/pdf/Phosphite_Fertilizers_What%20are%20they.pdf)

- LOVATT, C. 2013. Hass avocado nutrition research in California. Avocado Society Yearbook 96:74-105. Recuperado de: [http://www.avocadosource.com/CAS\\_Yearbooks/CAS\\_96\\_2013/CAS\\_2013\\_V96\\_PG\\_074-105.pdf](http://www.avocadosource.com/CAS_Yearbooks/CAS_96_2013/CAS_2013_V96_PG_074-105.pdf)
- LUTZ, M. C.; SOSA, M. C.; VERA, L.; CARMONA, M. A. 2017. Efecto del fosfito de potasio en el control de las enfermedades de postcosecha en manzanas, en el Alto Valle del Río Negro. Actas del 4to Congreso Argentino de Fitopatología. 5 de noviembre, Mendoza. pp. 389.
- MACRAE, E.; REDGWELL, R. 1992. Softening in kiwifruit. Postharvest News Inf. 3:49N–52N.
- MACHINANDIARENA, M. F.; LOBATO, M. C.; FELDMAN, M. L.; DALEO, G. R.; ANDREU, A. B. 2012. Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. J. Plant Physiol. 169(14):1417-1424. DOI: 10.1016/j.jplph.2012.05.005.
- MANGANARIS, G. A.; VASILAKAKIS, M.; MIGNANI, I.; DIAMANTIDIS, G.; TZAVELLA-KLONARI, K. 2005. The effect of preharvest calcium sprays on quality attributes, physicochemical aspects of cell wall components and susceptibility to brown rot of peach fruits (*Prunus persica* L. cv. Andross). Sci. Hort. 107(1):43-50. DOI: 10.1016/j.scienta.2005.06.005
- MANNING, M.A.; LALLU, N. 1997. Fungal diseases of kiwifruit stored in controlled atmosphere conditions in New Zealand. Acta Hort. 444:725-732. DOI: 10.17660/ActaHortic.1997.444.111
- MARSH, K.; ATTANAYAKE, S.; WALKER, S.; GUNSON, A.; BOLDINGH, H.; MACRAE, E. 2004. Acidity and taste in kiwifruit. Postharvest Biol. Technol. 32(2):159-168.
- MARSH, K. B.; FRIEL, E. N.; GUNSON, A.; LUND, C.; MACRAE, E. 2006. Perception of flavour in standardized fruit pulps with additions of acids or sugars. Food Qual. Pref. 17(5):376-386. DOI: 10.1016/j.foodqual.2005.04.011
- MARTINEZ-MEDINA, A.; FLORS, V.; HEIL, M.; MAUCH-MANI, B.; PIETERSE, C. M. J.; POZO, M. J.; TON, J.; VAN DAM, N. M.; CONRATH, U. 2016. Recognizing plant defense priming. Trends in Plant Sci. 21(10):818-822. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.07.009
- MARZOUK, H. A.; KASSEM, H. A. 2011. Improving yield, quality, and shelf life of Thompson seedless grapevine by preharvest foliar applications. Sci. Hort. 130(2):425-430. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.07.013

- MASSOUD, K.; BARCHIETTO, T.; LE RUDULIER, T.; PALLANDRE, L.; DIDIERLAURENT, L.; GARMIER, M.; AMBARD-BRETTEVILLE, F.; SENG, J. M.; SAINDRENAN, P. 2012. Dissecting Phosphite-induced priming in *Arabidopsis* infected with *Hyaloperonospora arabidopsidis*. *Plant Physiol.* 159(1):286-298. DOI: 10.1104/pp.112.194647
- MCATEE, P. A.; RICHARDSON, A. C.; NIEUWENHUIZEN, N. J.; GUNASEELAN, K.; HOONG, L.; CHEN, X.; ATKINSON, R. G.; BURDON, J. N.; DAVID, K. M.; SCHAFFER, R. J. 2015. The hybrid non-ethylene and ethylene ripening response in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) is associated with differential regulation of MADS-box transcription factors. *BMC Plant Biol.* 1-16. DOI: 10.1186/s12870-015-0697-9
- MCCOMB, J.A.; O'BRIEN, P.; CALVER, M.C.; STASIKOWSKI, P.; JARDINE, N.; ESHRAGHI, L.; ELLERY, J.; GILOVITZ, J.; SCOTT, P.; O'BRIEN, J.; O'GARA, E.; HOWARD, K.; DELL, B.; HARDY, G.E.ST.J. 2008. Research into natural and induced resistance in Australian native vegetation of *Phytophthora cinnamomi* and innovative methods to contain and/or eradicate within localised incursions in areas of high biodiversity in Australia. Enhancing the efficacy of phosphite with the addition/supplementation of other chemicals such as those known to be involved in resistance. Prepared by the Centre for Phytophthora Science and Management for the Australian Government Department of the Environment, Water, Heritage and the Arts. Recuperado de: <http://researchrepository.murdoch.edu.au/id/eprint/4332>
- MCGHIE, T. K.; AINGE, G. D. 2002. Color in fruit of the genus *Actinidia*: carotenoid and chlorophyll compositions. *J. Agric. Food Chem.* 50(1):117-121.
- MCGHIE, T. K. 2013. Secondary metabolite components of kiwifruit. *Adv. Food Nutr. Res.* 68:101-124. DOI: 10.1016/B978-0-12-394294-4.00006-7
- MCMURCHIE, E. J.; MCGLASSON, W. B.; EAKS, I. L. 1972. Treatment of fruit with propylene gives information about the biogenesis of ethylene. *Nature* 237(5352):235-236. DOI: 10.1038/237235a0
- MICHAILIDES, T. J.; ELMER, P. A. G. 2000. Botrytis gray mold of kiwifruit caused by *Botrytis cinerea* in the United States and New Zealand. *Plant Dis.* 84(3):208-223. DOI: 10.1094/PDIS.2000.84.3.208
- MICHAILIDES, T. J.; MORGAN, D. P.; LUO, Y. 2009. Epidemiological assessments and postharvest disease incidence. In: *Postharvest Pathology*. Springer, Dordrecht, pp. 69-88.

- MISHRA, A. K.; SHARMA, K.; MISRA, R. S. 2012. Elicitor recognition, signal transduction and induced resistance in plants. *J. Plant Interact.* 7(2):95-120. DOI: 10.1080/17429145.2011.597517
- MITALO, O. W.; TOKIWA, S.; KONDO, Y.; OTSUKI, T.; GALIS, I.; SUEZAWA, K.; KATAOKA, I.; DOAN, A. T.; NAKANO, R.; USHIJIMA, K.; KUBO, Y. 2019. Low temperature storage stimulates fruit softening and sugar accumulation without ethylene and aroma volatile production in kiwifruit. *Front. Plant Sci.* 10(July):1-15. DOI: 10.3389/fpls.2019.00888
- MO, Y.; GONG, D.; LIANG, G.; HAN, R.; XIE, J.; LI, W. 2008. Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post-harvest storage. *J. Sci. Food Agric.* 88(15):2693-2699. DOI: 10.1002/jsfa.3395
- MONTANARO, G.; TREUTTER, D.; XILOYANNIS, C. 2007. Phenolic compounds in young developing kiwifruit in relation to light exposure: Implications for fruit calcium accumulation. *J. Plant Interact.* 2(1):63-69. DOI: 10.1080/17429140701429228
- MONTEFIORI, M.; MCGHIE, T. K.; HALLETT, I. C.; COSTA, G. 2009. Changes in pigments and plastid ultrastructure during ripening of green-fleshed and yellow-fleshed kiwifruit. *Sci. Hortic.* 119(4):377-387. DOI: 10.1016/j.scienta.2008.08.022
- MORENO-ESCAMILLA, J. O.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; DE LA ROSA, L. A.; NÚÑEZ-GASTÉLUM, J. A.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; RODRIGO-GARCÍA, J. 2018. Chapter 3: Effect of elicitors in the nutritional and sensorial quality of fruits and vegetables. In: Siddiqui, M. W. (ed.). *Preharvest Modulation of Postharvest Fruit and Vegetable Quality*. Academic Press. pp. 71-91. DOI 10.1016/B978-0-12-809807-3.00003-2
- MURPHY, A. M.; ZHOU, T.; CARR, J. P. 2020. An update on salicylic acid biosynthesis, its induction and potential exploitation by plant viruses. *Curr. Opin. Vir.* 42: 8-17. DOI: 10.1016/j.coviro.2020.02.008
- MWORIA, E. G.; YOSHIKAWA, T.; SALIKON, N.; ODA, C.; ASICHE, W. O.; YOKOTANI, N.; ABE, D.; USHIJIMA, K.; NAKANO, R.; KUBO, Y. 2012. Low-temperature-modulated fruit ripening is independent of ethylene in 'Sanuki Gold' kiwifruit. *J. Exp. Bot.* 63(2):963-971. DOI: 10.1093/jxb/err324
- NARDOZZA, S.; BOLDINGH, H. L.; RICHARDSON, A. C.; COSTA, G.; MARSH, H.; MACRAE, E. A.; CLEARWATER, M. J. 2010. Variation in carbon content and size in developing fruit of *Actinidia deliciosa* genotypes. *Funct. Plant Biol.* 37(6):545-554. DOI: 10.1071/FP09301

- NARDOZZA, S.; BOLDINGH, H. L.; OSORIO, S.; HÖHNE, M.; WOHLERS, M.; GLEAVE, A. P.; MACRAE, E. A.; RICHARDSON, A. C.; ATKINSON, R. G.; SULPICE, R.; FERNIE, A. R.; CLEARWATER, M. J. 2013. Metabolic analysis of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) berries from extreme genotypes reveals hallmarks for fruit starch metabolism. *J. Exp. Botany* 64(16):5049–5063. DOI: 10.1093/jxb/ert293
- NISHIYAMA, I.; YAMASHITA, Y.; YAMANAKA, M.; SHIMOHASHI, A.; FUKUDA, T.; OOTA, T. 2004. Varietal difference in vitamin C content in the fruit of kiwifruit and other *Actinidia* species. *J. Agric. Food Chem.* 52(17):5472-5475. DOI: 10.1021/jf049398z
- NISHIYAMA, I. 2007. Fruits of the *Actinidia* genus. *Adv. Food Nutr. Res.* 52(06):293-324. DOI: 10.1016/S1043-4526(06)52006-6
- NISHIYAMA, I.; FUKUDA, T.; SHIMOHASHI, A.; OOTA, T. 2008. Sugar and organic acid composition in the fruit juice of different *Actinidia* varieties. *Food Sci. Technol. Res.* 14(1):67-73. DOI: 10.3136/fstr.14.67
- OH, M. M.; TRICK, H. N.; RAJASHEKAR, C. B. 2009. Secondary metabolism and antioxidants are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. *J. Plant Physiol.* 166(2):180-191. DOI: 10.1016/j.jplph.2008.04.015
- OKSMAN-CALDENTEY, K. M.; INZÉ, D. 2004. Plant cell factories in the post-genomic era: New ways to produce designer secondary metabolites. *Trends in Plant Sci.* 9(9):433-440. DOI: 10.1016/j.tplants.2004.07.006
- OLIVIERI, F. P.; FELDMAN, M. L.; MACHINANDIARENA, M. F.; LOBATO, M. C.; CALDIZ, D. O.; DALEO, G. R.; ANDREU, A. B. 2012. Phosphite applications induce molecular modifications in potato tuber periderm and cortex that enhance resistance to pathogens. *Crop Prot.* 32:1-6. DOI:10.1016/j.cropro.2011.08.025
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. 2019. FAOSTAT. [Base de datos]. Recuperado de: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- OSÉS MARTÍNEZ DE ZÚÑIGA, L. 2011. Evaluación de la calidad de kiwis almacenados en refrigeración envasados en distintas atmósferas modificadas y el uso de 1-MCP. Tesis de Ingeniero Técnico Agrícola – Industrias Agroalimentarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias: Balcarce, Argentina. 60 p.

- PAL, R. S.; KUMAR, V. A.; ARORA, S.; SHARMA, A. K.; KUMAR, V.; AGRAWAL, S.; PAL, R. S.; KUMAR, V. A.; ARORA, S.; SHARMA, A. K.; KUMAR, V.; AGRAWAL, S. 2015. Physicochemical and antioxidant properties of kiwifruit as a function of cultivar and fruit harvested month. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 58(2):262-271. DOI: 10.1590/s1516-8913201500371
- PARK, Y. S.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; NAMIESNIK, J.; SUHAJ, M., CVIKROVÁ, M.; MARTINCOVÁ, O.; WEISZ, M.; GORINSTEIN, S. 2011. Comparison of the contents of bioactive compounds and the level of antioxidant activity in different kiwifruit cultivars. *J. Food Compos. Anal.* 24(7):963-970. DOI: 10.1016/j.jfca.2010.08.010
- PARK, Y. S.; NAMIESNIK, J.; VEARASILP, K.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; BARASCH, D.; NEMIROVSKI, A.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. 2014. Bioactive compounds and the antioxidant capacity in new kiwi fruit cultivars. *Food Chem.* 165:354-361. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.05.114
- PECH, J. C.; PURGATTO, E.; GIRARDI, C. L.; ROMBALDI, C. V.; LATCHÉ, A. 2013. Current challenges in postharvest biology of fruit ripening. *Curr. Agric. Sci. Technol.* 19(1):1-18. DOI: 10.18539/cast.v19i1.2384
- PEKAL, A.; PYRZYNSKA, K. 2014. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Anal. Methods* 7:1776-1782. DOI: 10.1007/s12161-014-9814-x
- PENNYCOOK, S. R. 1985. Fungal fruit rots of *Actinidia deliciosa* (kiwifruit). *N. Z. J. Exp. Agric.* 13(4):289-299. DOI: 10.1080/03015521.1985.10426097
- PENNYCOOK, S. R.; MANNING, M. A. 1992. Picking wound curing to reduce *Botrytis* storage rot of kiwifruit. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 20(3):357-360. DOI: 10.1080/01140671.1992.10421779
- PÉREZ-LLORCA, M.; MUÑOZ, P.; MÜLLER, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. 2019. Biosynthesis, metabolism and function of auxin, salicylic acid and melatonin in climacteric and non-climacteric fruits. *Front. Plant Sci.* 10:136-146. DOI: 10.3389/fpls.2019.00136
- PINTO, D.; DELERUE-MATOS, C.; RODRIGUES, F. 2020. Bioactivity, phytochemical profile and pro-healthy properties of *Actinidia arguta*: A review. *Food Res. Int.* 136:109449. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109449

- POLO, J.; MATA, P. 2018. Evaluation of a biostimulant (Pepton) based in enzymatic hydrolyzed animal protein in comparison to seaweed extracts on root development, vegetative growth, flowering, and yield of gold cherry tomatoes grown under low stress ambient field conditions. *Front. Plant Sci.* 8:2261. DOI: 10.3389/fpls.2017.02261
- POOLE, P. R.; MCLEOD, L. C. 1994. Development of resistance to picking wound entry *Botrytis cinerea* storage rots in kiwifruit. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 22(4):387–392. DOI:10.1080/01140671.1994.9513850
- PRATT, H. K.; REID, M. S. 1974. Chinese gooseberry: seasonal patterns in fruit growth and maturation, ripening, respiration and the role of ethylene. *J. Sci. Food Agric.* 25(7):747-757. DOI: 10.1002/jsfa.2740250702
- PYKE, N. B.; MANKTELOW, D. G.; ELMER, P. A. G.; TATE, K. G. 1994. Postharvest dipping of kiwifruit in Iprodione to control stem-end rot caused by *Botrytis cinerea*. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 22(1):81-86. DOI: 10.1080/01140671.1994.9513808
- PYLAK, M.; OSZUST, K.; FRAÇ, M. 2019. Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 18:597-616. DOI:10.1007/s11157-019-09500-5
- QUARTIERI, M.; LUCCHI, A.; MARANGONI, B.; TAGLIAVINI, M.; CAVANI, L. 2002. Effects of the rate of protein hydrolysis and spray concentration on growth of potted kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) plants. *Acta Hort.* 594:341-347. DOI: 10.17660/ActaHortic.2002.594.42
- QUILLEHAUQUY, V. 2016. Efecto de la dosis de 1-metilciclopropeno (1-MCP) sobre la calidad de frutos de kiwi refrigerados. Maestría en Producción Vegetal. Universidad Nacional de Mar del Plata; Facultad de Ciencias Agrarias: Balcarce, Argentina. 52p.
- R CORE TEAM. 2015. R: A language and environment for statistical computing. [Computer Program] Version 3.2.3. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2015. Recuperado de: <https://www.R-project.org/>
- RAMAZZINA, I.; BERARDINELLI, A.; RIZZI, F.; TAPPI, S.; RAGNI, L.; SACCHETTI, G.; ROCCULI, P. 2015. Effect of cold plasma treatment on physico-chemical parameters and antioxidant activity of minimally processed kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 107:55-65. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2015.04.008

- RAMÍREZ-GÓMEZ, X. S.; JIMÉNEZ-GARCÍA, S. N.; CAMPOS, V. B.; CAMPOS, M. L. G. 2019. Plant metabolites in plant defense against pathogens. In: Topolovec-Pintaric, S. (ed.) Plant Diseases: Current Threats and Management Trends. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.87958
- RASBAND, W. S. 2016. ImageJ. Version 1.50 26 March 2016 [software]. Recuperado de: <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>
- RAZAVI, F.; HAJILOU, J.; DEHGAN, G.; NAGSHI, R.; TURCHI, M. 2014. Enhancement of postharvest quality of peach fruit by salicylic acid treatment. Inter. J. Biosci. 4(1):177-184. Recuperado de: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.653.4070&rep=rep1&type=pdf>
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biol. Med. 20(7): 933-956. DOI: 10.1016/0891-5849(95)02227-9
- RICKARD, D. A. 2000. Review of phosphorus acid and its salts as fertilizer materials. J. Plant Nutr. 23:161-180. DOI: 10.1080/01904160009382006
- RIQUELME-TOLEDO, D.; VALDÉS-GÓMEZ, H.; FERMAUD, M.; ZOFFOLI, J. P. 2020. Postharvest incidence of stem end rot in 'Hayward' kiwifruit is related to preharvest *Botrytis cinerea* colonization of floral parts and latent infection. Plant Dis. 104(3):823-832. DOI: 10.1094/PDIS-06-19-1315-RE
- ROBERT-SEILANIANTZ, A.; GRANT, M.; JONES, J. D. G. 2011. Hormone crosstalk in plant disease and defense: more than just JASMONATE-SALICYLATE antagonism. Annu. Rev. Phytopathol. 49(1):317-343. DOI: 10.1146/annurev-phyto-073009-114447
- RODRIGUES, M.; BAPTISTELLA, J. L. C.; HORZ, D. C.; BORTOLATO, L. M.; MAZZAFERA, P. 2020. Organic plant biostimulants and fruit quality - a review. Agronomy 10(7):988. DOI: 10.3390/agronomy10070988
- ROMANAZZI, G.; FELIZIANI, E. 2014. *Botrytis cinerea* (Gray Mold). In: Bautista Baños, S. (ed.). Postharvest Decay: Control Strategies. Academic Press, pp.131-146. DOI: 10.1016/B978-0-12-411552-1.00004-1
- ROSS, G. S.; REDGWELL, R. J.; MACRAE, E. A. 1993. Kiwifruit  $\beta$ -galactosidase: Isolation and activity against specific fruit cell-wall polysaccharides. Planta 189(4):499-506. DOI: 10.1007/BF00198212

- RUIZ-GARCÍA, Y.; GÓMEZ-PLAZA, E. 2013. Elicitors: A tool for improving fruit phenolic content. *Agriculture* 3(1):33–52. DOI:10.3390/agriculture3010033
- RUSHING, J. W. 2016. Kiwifruit. In: Gross, K.C. et al. (eds). *The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks*. USDA, Agricultural Research Service. *Agriculture Handbook*; 66. pp. 372-376. Recuperado de: [https://irrec.ifas.ufl.edu/postharvest/HOS\\_5085C/Reading%20Assignments/USDA%20HANDBOOK%2066.pdf](https://irrec.ifas.ufl.edu/postharvest/HOS_5085C/Reading%20Assignments/USDA%20HANDBOOK%2066.pdf)
- SALINERO, M. C.; VELA, P.; SAINZ, M. J. 2009. Phenological growth stages of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* 'Hayward'). *Sci. Hortic.* 121(1):27-31. DOI: 10.1016/j.scienta.2009.01.013
- SCHRÖDER, R.; ATKINSON, R. G.; LANGENKÄMPER, G.; REDGWELL, R. J. 1998. Biochemical and molecular characterization of xyloglucan endotransglycosylase from ripe kiwifruit. *Planta* 204(2):242-251. DOI: 10.1007/s004250050253
- SCHRÖDER, R.; ATKINSON, R. G. 2006. Kiwifruit cell walls: towards an understanding of softening?. *N. Z. J. For. Sci.* 36(1):112-129. Recuperado de: [https://www.scionresearch.com/\\_data/assets/pdf\\_file/0011/59096/11Schroeder.pdf](https://www.scionresearch.com/_data/assets/pdf_file/0011/59096/11Schroeder.pdf)
- SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA. SENASA 2020. Fertilizantes, enmiendas y otros. Productos inscriptos. Lista de fertilizantes (octubre de 2019). [Archivo Excel] SENASA. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. Recuperado de: <https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/cadenavegetal/ornamentales/produccion-primaria/fitosanitarios-y-fertilizantes/fertilizantes>.
- SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA. 2021. SENASA (enero 2021). Listado oficial de insumos comerciales. [Archivo Excel] SENASA. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. Recuperado de: <https://www.argentina.gob.ar/produccion-organica/listado/oficial-de-insumos-comerciales>
- SHARROCK, K. R.; HALLET, I. C. 1992. Physiology of *Botrytis* infection in kiwifruit. *Acta Hort.* 297:551-558. DOI: 10.17660/ActaHortic.1992.297.72
- SHAFIEE, M.; TAGHAVI, T. S.; BABALAR, M. 2010. Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest treatments (hot water, salicylic acid, and calcium dipping) improved postharvest fruit quality of strawberry. *Sci. Hort.* 124(1):40-45. DOI: 10.1016/j.scienta.2009.12.004

- SINGH, A.; DWIVEDI, P. 2018. Methyl-jasmonate and salicylic acid as potent elicitors for secondary metabolite production in medicinal plants: A review. *J. Pharmacog. Phytochem.* 7(1):750-757. Recuperado de: <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue1/PartJ/7-1-57-985.pdf>
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16(3):144-158.
- SMILANICK, J.L. 2011. Integrated approaches to postharvest disease management in California citrus packinghouses. *Acta Hort.* 905:145-148. DOI: 10.17660/ActaHortic.2011.905.14
- SMIRNOFF, N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann. Bot.* 78(6):661-669. DOI: 10.1006/anbo.1996.0175
- SNELGAR, W. P.; HALL, A. J.; FERGUSON, A. R.; BLATTMANN, P. 2005. Temperature influences growth and maturation of fruit on "Hayward" kiwifruit vines. *Funct. Plant Biol.* 32(7):631-642. DOI: 10.1071/FP05062
- SOLANO, R.; STEPANOVA, A.; CHAO, Q.; ECKER, J. R. 1998. Nuclear events in ethylene signaling: a transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1. *Genes Dev.* 12(23):3703-3714. DOI: 10.1101/gad.12.23.3703
- SOMMER, N. F.; FORTLAGE, R. J.; EDWARDS, D. C. 1983. Minimizing postharvest diseases of kiwifruit. *California Agric.* 37(1):16-18. Recuperado de: <http://calag.ucanr.edu/archive/?type=pdf&article=ca.v037n01p16>
- SOPPELSA, S.; KELDERER, M.; CASERA, C.; BASSI, M.; ROBATSCHER, P.; ANDREOTTI, C. 2018. Use of biostimulants for organic apple production: effects on tree growth, yield, and fruit quality at harvest and during storage. *Front. Plant Sci.* 9:1342-1359. DOI: 10.3389/fpls.2018.01342
- SOPPELSA, S.; KELDERER, M.; TESTOLIN, R.; ZANOTELLI, D.; ANDREOTTI, C. 2020. Effect of biostimulants on apple quality at harvest and after storage. *Agronomy* 10(8):1214. DOI: 10.3390/agronomy10081214
- SOTIROPOULOS, T.; THERIOS, I.; VOULGARAKIS, N. 2010. Effect of various foliar sprays on some fruit quality attributes and leaf nutritional status of the peach cultivar 'Andross'. *J. Plant Nutr.* 33(4):471-484. DOI: 10.1080/01904160903506225

- SRIVASTAVA, M. K.; DWIVEDI, U. N. 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Sci.* 158(1-2):87-96. DOI: 10.1016/S0168-9452(00)00304-6
- STEC, M. G. H.; HODGSON, J. A.; MACRAE, E. A.; TRIGGS, C. M. 1989. Role of fruit firmness in the sensory evaluation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv Hayward). *J. Sci. Food Agric.* 47(4):417-433. DOI: 10.1002/jsfa.2740470404
- STRATIL, P.; KLEJDUS, B.; KUBÁŇ, V. 2006. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables - Evaluation of spectrophotometric methods. *J. Agric. Food Chem.* 54(3):607-616. DOI: 10.1021/jf052334j
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2002. Secondary metabolites and plant defenses. In: *Plant Physiology*. 3<sup>rd</sup> ed. Sinauer Associates. Inc., Publishers, pp. 283-308.
- TANOU, G.; ZIOGAS, V.; MOLASSIOTIS, A. 2017. Foliar nutrition, biostimulants and prime-like dynamics in fruit tree physiology: New insights on an old topic. *Front. Plant Sci.* 8(FEBRUARY):1-9. DOI: 10.3389/fpls.2017.00075
- TARANTINO, A.; LOPS, F.; DISCIGLIO, G.; LOPRIORE, G. 2018. Effects of plant biostimulants on fruit set, growth, yield and fruit quality attributes of 'Orange rubis®' apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivar in two consecutive years. *Sci. Hortic.* 239(April):26-34. DOI: 10.1016/j.scienta.2018.04.055
- TAREEN, M. J.; ABBASI, N. A.; HAFIZ, I. A. 2012. Effect of salicylic acid treatments on storage life of peach fruits cv. 'Flordaking'. *Pak. J. Bot.* 44(1):119-124.
- TAREEN, M. J.; SINGH, Z.; KHAN, A. S.; ABBASI, N. A.; NAVEED, M. 2017. Combined applications of Aminoethoxyvinylglycine with salicylic acid or nitric oxide reduce oxidative stress in peach during ripening and cold storage. *J. Plant Growth Regul.* 36(4):983-994. DOI: 10.1007/s00344-017-9702-x
- TAVARINI, S.; DEGL'INNOCENTI, E.; REMORINI, D.; MASSAI, R.; GUIDI, L. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chem.* 107(1):282-288. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.08.015
- TEN HAVE, A.; MULDER, W.; VISSER, J.; VAN KAN, J. A. 1998. The endopolygalacturonase gene *Bcpg1* is required for full virulence of *Botrytis cinerea*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11(10):1009-1016. DOI: 10.1094/MPMI.1998.11.10.1009
- TESTOLIN, R.; FERGUSON, A. R. 2009. Kiwifruit (*Actinidia* spp.) production and marketing in Italy. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 37(1):1-32. DOI: 10.1080/01140670909510246

- THAKUR, A.; CHANDEL, J. S. 2004. Effect of thinning on fruit yield, size and quality of kiwifruit cv. Allison. *Acta Hort.* 662(1):359-364. DOI: 10.17660/actahortic.2004.662.53
- THAO, H. T. B.; YAMAKAWA, T. 2009. Phosphite (phosphorous acid): Fungicide, fertilizer or bio-stimulator? *Soil Sci. Plant Nutr.* 55(2):228-234. DOI: 10.1111/j.1747-0765.2009.00365.x
- THOR, K. 2019. Calcium-Nutrient and messenger. *Front. Plant Sci.* 10:440-446. DOI: 10.3389/fpls.2019.00440
- TIKU, A.R. 2018. Antimicrobial compounds and their role in plant defense. In: Singh, A., Singh, I. (eds.). *Molecular Aspects of Plant-Pathogen Interaction*. Springer, Singapore. pp. 228-307. DOI: 10.1007/978-981-10-7371-7\_13
- TIKU, A.R. 2020. Antimicrobial compounds (Phytoanticipins and Phytoalexins) and their role in plant defense. In: Mérillon, J. M., Ramawat, K. (eds.). *Co-Evolution of Secondary Metabolites. Reference Series in Phytochemistry*. Springer, Cham. pp. 845-868. DOI: 10.1007/978-3-319-96397-6\_63
- TORRES, C. A.; AZOCAR, C.; RAMOS, P.; PÉREZ-DÍAZ, R.; SEPULVEDA, G.; MOYA-LEÓN, M. A. 2020. Photooxidative stress activates a complex multigenic response integrating the phenylpropanoid pathway and ethylene, leading to lignin accumulation in apple (*Malus domestica* Borkh.) fruit. *Hort. Res.* 7(1):1-13. DOI: 10.1038/s41438-020-0244-1
- TREJO-TÉLLEZ, L. I.; GÓMEZ-MERINO, F. C. 2018. Phosphite as an inductor of adaptive responses to stress and stimulator of better plant performance. In: Vats, E. (ed.) *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Springer Singapore, pp. 203–238. DOI:10.1007/978-981-10-9029-5\_8
- TRIVEDI, P.; NGUYEN, N.; HYKKERUD, A. L.; HÄGGMAN, H. 2019. Developmental and environmental regulation of cuticular wax biosynthesis in fleshy fruits. *Front. Plant Sci.* 10:431. DOI: 10.3389/fpls.2019.00431
- TUCKER, G.; YIN, X.; ZHANG, A.; WANG, M.; ZHU, Q.; LIU, X.; XIE, X.; CHEN, K.; GRIERSON, D. 2017. Ethylene and fruit softening. *Food Qual. Safety* 1(4):253-267. DOI: 10.1093/fqsafe/fyx024

- UNIÓN EUROPEA. 2008. Reglamento (CE) 889/2008 de la Comisión, de 5 de septiembre de 2008, por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) n o 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, con respecto a la producción ecológica, su etiquetado y su control. EUR-Lex. Recuperado de: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX%3A32008R0889>
- UNIÓN EUROPEA. 2019. Reglamento (UE) 2019/552 de la Comisión, de 4 de abril de 2019, que modifica los anexos II y III del Reglamento (CE) n.º 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo por lo que respecta a los límites máximos de residuos de azoxistrobina, biciclopirona, ciprodinil, clormecuat, difenoconazol, espinetoram, fenpiroximato, fenpropimorfo, fluopiram, fosetil, isopirazam, isoprotilano, oxamil, protioconazol, trifloxistrobina y triflumezopirim en determinados productos (Texto pertinente a efectos del EEE.). EUR-Lex Recuperado de: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX:32019R0552>
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 2016. Composition of Foods Raw, Processed. [Dataset]. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28. Excel (Abbreviated; 2.9Mb). USDA. Ag Data Commons Recuperado de: <https://data.nal.usda.gov/dataset/composition-foods-raw-processed-prepared-usda-national-nutrient-database-standard-referenc-9>
- US CONGRESS. 2018. Public Law 115 - 334 - Agriculture Improvement Act of 2018. U.S. Government Publishing Office. Recuperado de: <https://www.congress.gov/115/plaws/publ334/PLAW-115publ334.pdf>
- VAJARI, M. A.; ESHGHI, S.; FATAHI MOGHADAM, J. 2018. Late-season foliar application of mineral compounds effects on postharvest quality of Hayward kiwifruit. *J. Berry Res.* 8(2): 95-107. DOI: 10.3233/JBR-170271
- VAN LOON, L. C.; GERAATS, B. P.; LINTHORST, H. J. 2006. Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. *Trends Plant Sci.* 11:184-191. DOI: 10.1016/j.tplants.2006.02.005
- VICENTE, A.R.; MANGANARIS, G. A.; SOZZI, G. O.; CRISOSTO, C. H. 2009. Chapter 5: Nutritional quality of fruits and vegetables. In: Florkowski, W. J., et al. (eds.). *Postharvest Handling: A Systems Approach*, 2nd ed. Elsevier-Academic Press: Burlington, MA, USA. pp. 57–106.

- VIGNONI, L. A.; CÉSARI, R. M.; FORTE, M.; MIRÁBILE, M. L. 2006. Determinación de índice de color en ajo picado. *Inf. Tecnol.* 17(6):63-67.
- WAN, R.; HOU, X.; WANG, X.; QU, J.; SINGER, S. D.; WANG, Y.; WANG, X. 2015. Resistance evaluation of Chinese wild *Vitis* genotypes against *Botrytis cinerea* and different responses of resistant and susceptible hosts to the infection. *Front. Plant Sci.* 6:854. doi: 10.3389/fpls.2015.00854
- WANG, Z.; MACRAE, E.A.; WRIGHT, M.A.; BOLITHO, K.M.; ROSS, G.S.; ATKINSON, R.G. 2000. Polygalacturonase gene expression in kiwifruit: relationship to fruit softening and ethylene production. *Plant Mol. Biol.* 42:317-328. DOI: 10.1023/A:1006309529922
- WANG, Y.; FREI, M. 2011. Stressed food - The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. *Agric. Ecosyst. Environ.* 141(3-4):271-286. DOI: 10.1016/J.AGEE.2011.03.017.
- WHITE T.J.; BRUNS T.; LEE S.; TAYLOR J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M. A. et al. (eds.). *PCR Protocols: a guide to methods and applications*, Academic Press: New York. pp. 315-322.
- WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, B.; TUDZYNSKI, P.; VAN KAN, J. A. 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Mol. Plant Pathol.* 8(5):561-580. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x
- WORRALL, D.; HOLROYD, G. H.; MOORE, J. P.; GLOWACZ, M.; CROFT, P.; TAYLOR, J. E.; PAUL, N. D.; ROBERTS, M. R. 2012. Treating seeds with activators of plant defence generates long-lasting priming of resistance to pests and pathogens. *New Phytol.* 193(3):770-778. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2011.03987.x
- WU, L.; GAO, X.; XIA, F.; JOSHI, J.; BORZA, T.; WANG-PRUSKI, G. 2019. Biostimulant and fungicidal effects of phosphite assessed by GC-TOF-MS analysis of potato leaf metabolome. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 106:49-56. DOI: 10.1016/j.pmpp.2018.12.001
- WURMS, K. V.; LONG, P. G.; SHARROCK, K. R.; GREENWOOD, D. R. 1999. The potential for resistance to *Botrytis cinerea* by kiwifruit. *Crop Prot.* 18(7):427-435. DOI: 10.1016/S0261-2194(99)00047-2
- WURMS, K. V. 2005. Susceptibility to *Botrytis cinerea*, and curing-induced responses of lytic enzymes and phenolics in fruit of two kiwifruit (*Actinidia*) cultivars. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 33(1):25-34. DOI: 10.1080/01140671.2005.9514327

- YANG, L.; WEN, K. S.; RUAN, X.; ZHAO, Y. X.; WEI, F.; WANG, Q. 2018. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Mol.* 23(4):1-26. DOI: 10.3390/molecules23040762
- YIN, X. R.; ZHANG, Y.; ZHANG, B.; YANG, S. L.; SHI, Y. N. A.; FERGUSON, I. B.; CHEN, K. S. 2013. Effects of acetylsalicylic acid on kiwifruit ethylene biosynthesis and signaling components. *Postharvest Biol. Technol.* 83:27-33. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2013.03.012
- YOMMI, A.; MELUCCI, M. C.; CASANOVAS, E. M.; QUILLEHAUQUY, V.; BORRAJO, M. P.; FASCIGLIONE, G. 2016. Uso de atmósfera controlada y 1-MCP en kiwis Hayward producidos en Argentina: efectos sobre la maduración. *Revista de la Facultad de Agronomía UNLP* 115(1):107-117.
- ZAYNAB, M.; FATIMA, M.; ABBAS, S.; SHARIF, Y.; UMAIR, M.; ZAFAR, M. H.; BAHADAR, K. 2018. Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microb. Pathog.* 124:198-202. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.08.034
- ZHANG, Y.; CHEN, K.; ZHANG, S.; FERGUSON, I. 2003. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 28(1):67-74. DOI: 10.1016/S0925-5214(02)00172-2
- ZHANG, J. Y.; PAN, D. L.; JIA, Z. H.; WANG, T.; WANG, G.; GUO, Z. R. 2018. Chlorophyll, carotenoid and Vitamin C metabolism regulation in *Actinidia chinensis* “Hongyang” outer pericarp during fruit development. *PLoS One* 13(3):e0194835. DOI: 10.1371/journal.pone.0194835
- ZHAO, J.; ZHENG, S. H.; FUJITA, K.; SAKAI, K. 2004. Jasmonate and ethylene signaling pathways and their interaction are integral parts of the elicitor signal transduction leading to phytoalexin biosynthesis in *Cupressus lusitanica* cell culture. *J. Exp. Botany* 55:1003-1012. DOI: 10.1093/jxb/erh127
- ZHAO, Y.; DENG, L.; ZHOU, Y.; YAO, S.; ZENG, K. 2018. Chitosan and *Pichia membranaefaciens* control anthracnose by maintaining cell structural integrity of citrus fruit. *Biol. Control* 124:92-99. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2018.05.004
- ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64(4):555-559. DOI: 10.1016/S0308-8146(98)00102-2

ZHONG, C.; WANG, S.; HAN, F.; LI, D.; JIANG, Z.; GONG, J.; HUANG, H. 2018. 'Jinmei', a new yellow-fleshed kiwifruit cultivar with medium maturity and long storage. *Acta Hortic.* 1218:61-66. DOI: 10.17660/ActaHortic.2018.1218.7

## APÉNDICE

- **Medio Agar Papa Dextrosa (APD):**

- 1000 ml de agua destilada
- 20 g de Dextrosa
- 200 g de papa
- 20 g Agar

- **Medio Agar Extracto de Malta (MEA):**

- 1000 mL agua destilada
- 20 g Extracto de malta
- 20 g glucosa
- 1g Peptona
- 20 g Agar

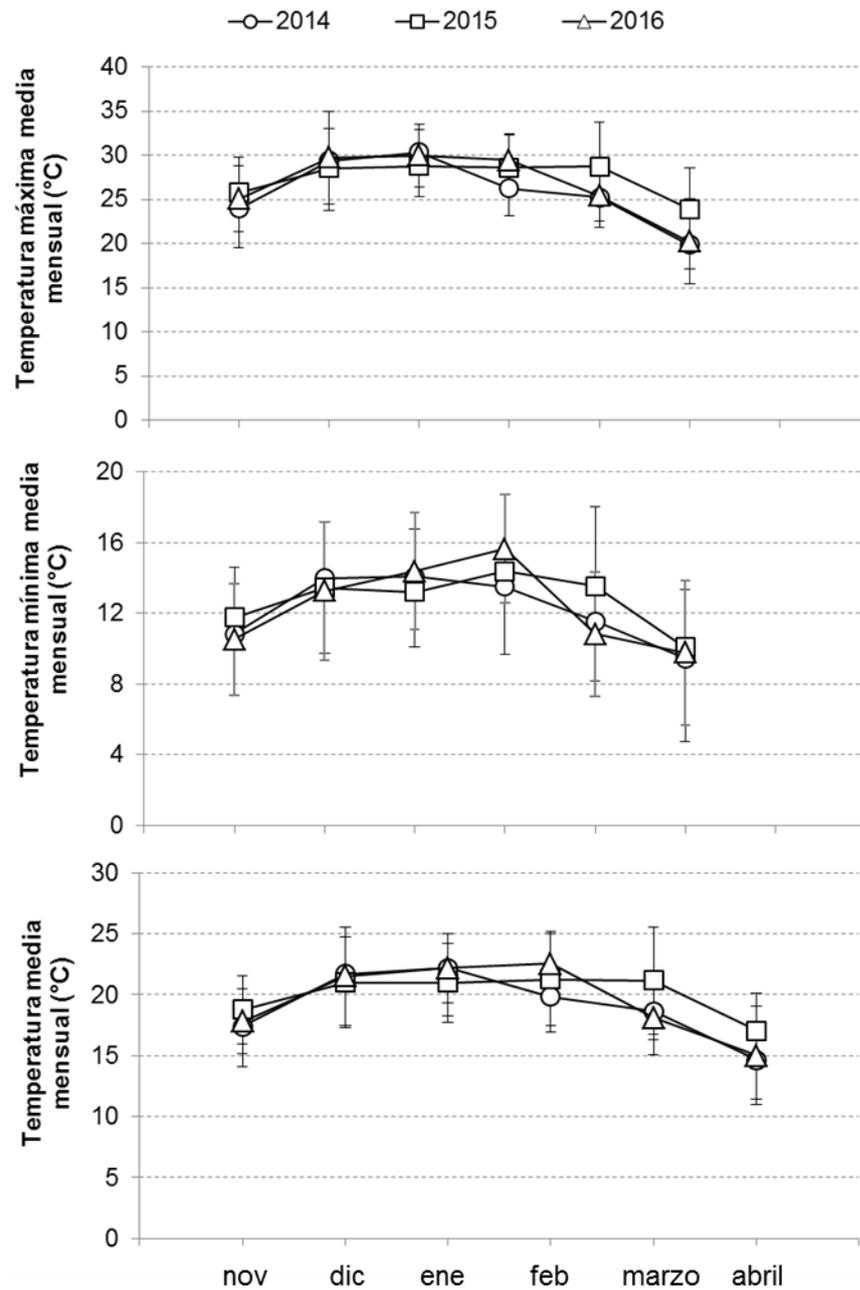


Figura I. Condiciones de temperatura máxima y mínima media mensual y temperatura media mensual (°C) desde noviembre a abril en las temporadas de cosecha 2014, 2015 y 2016. Datos meteorológicos proporcionados por INTA Balcarce.

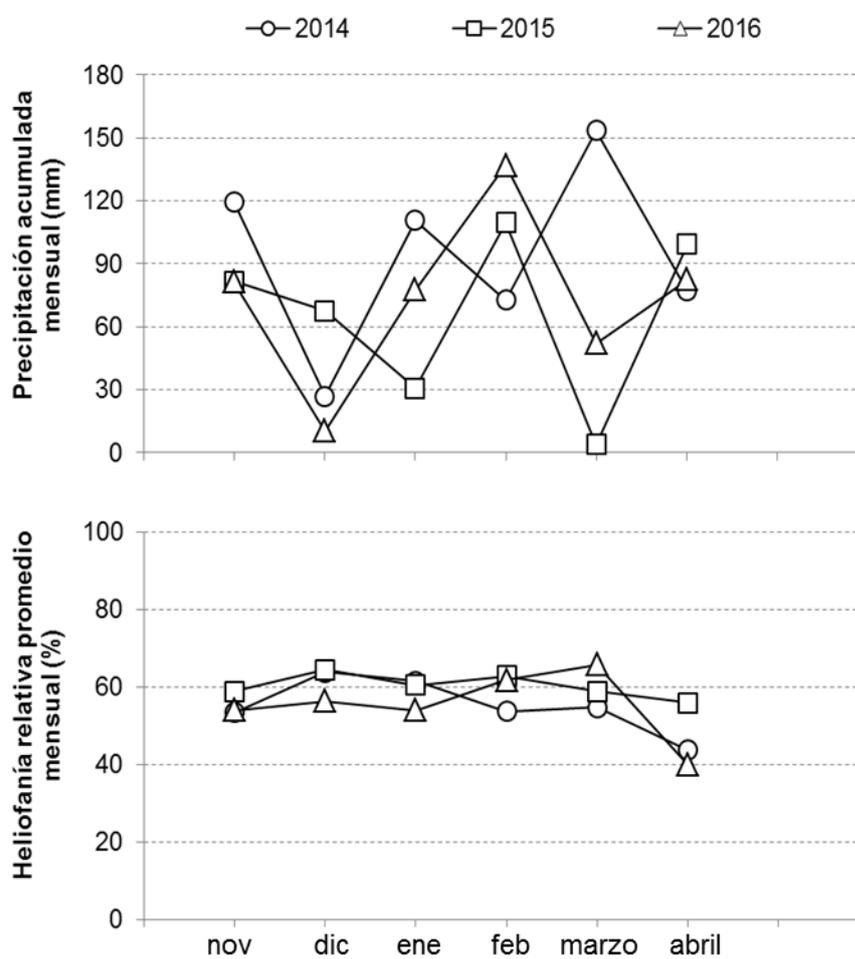


Figura II. Precipitación acumulada mensual (mm) y heliofanía relativa media mensual (%), desde noviembre a abril en las temporadas de cosecha 2014, 2015 y 2016. Datos meteorológicos proporcionados por INTA Balcarce.

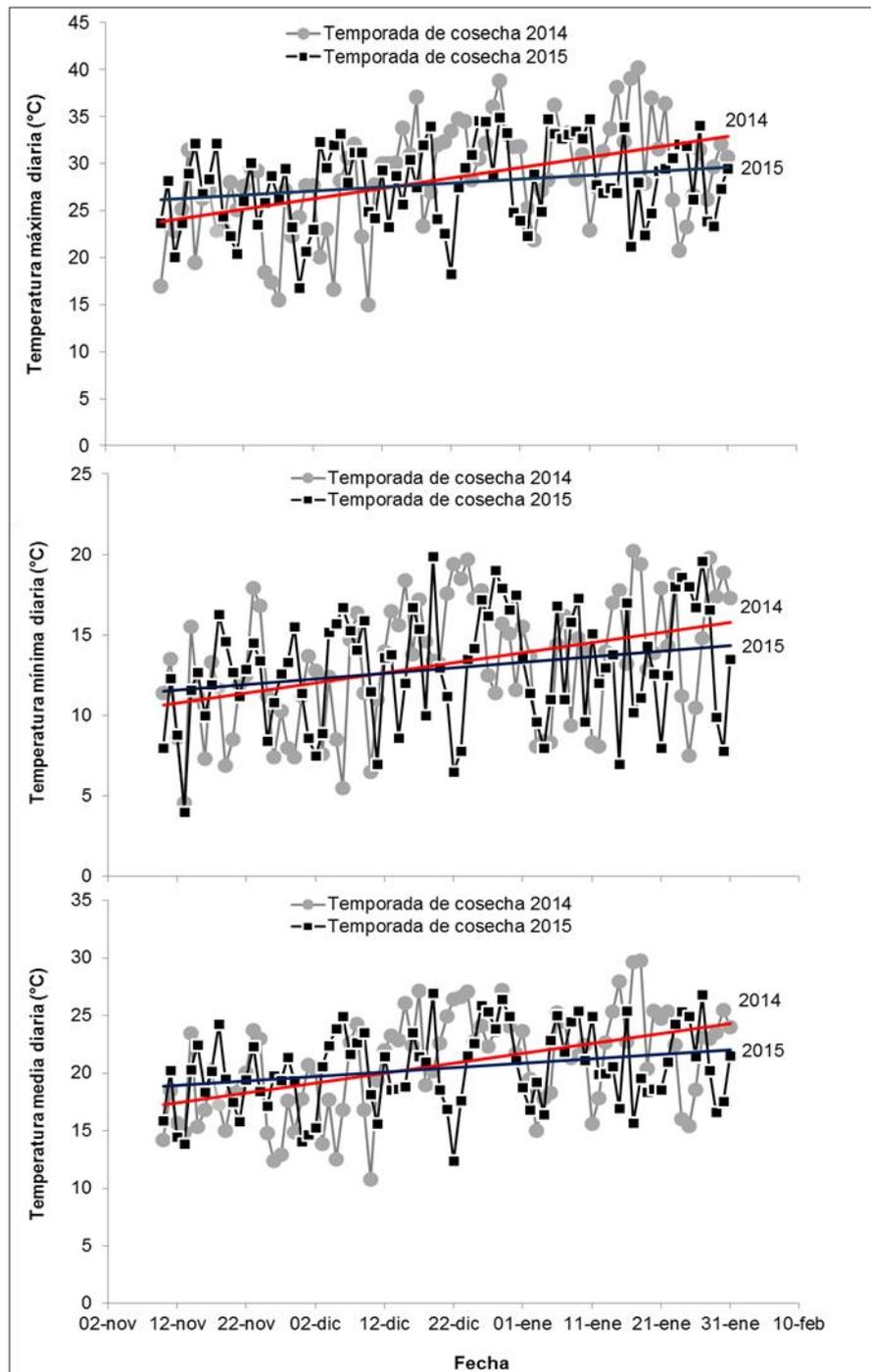


Figura III. Condiciones de temperatura máxima, mínima y media diaria (°C) desde comienzos de noviembre a fin de enero, en las temporadas de cosecha 2014 y 2015.

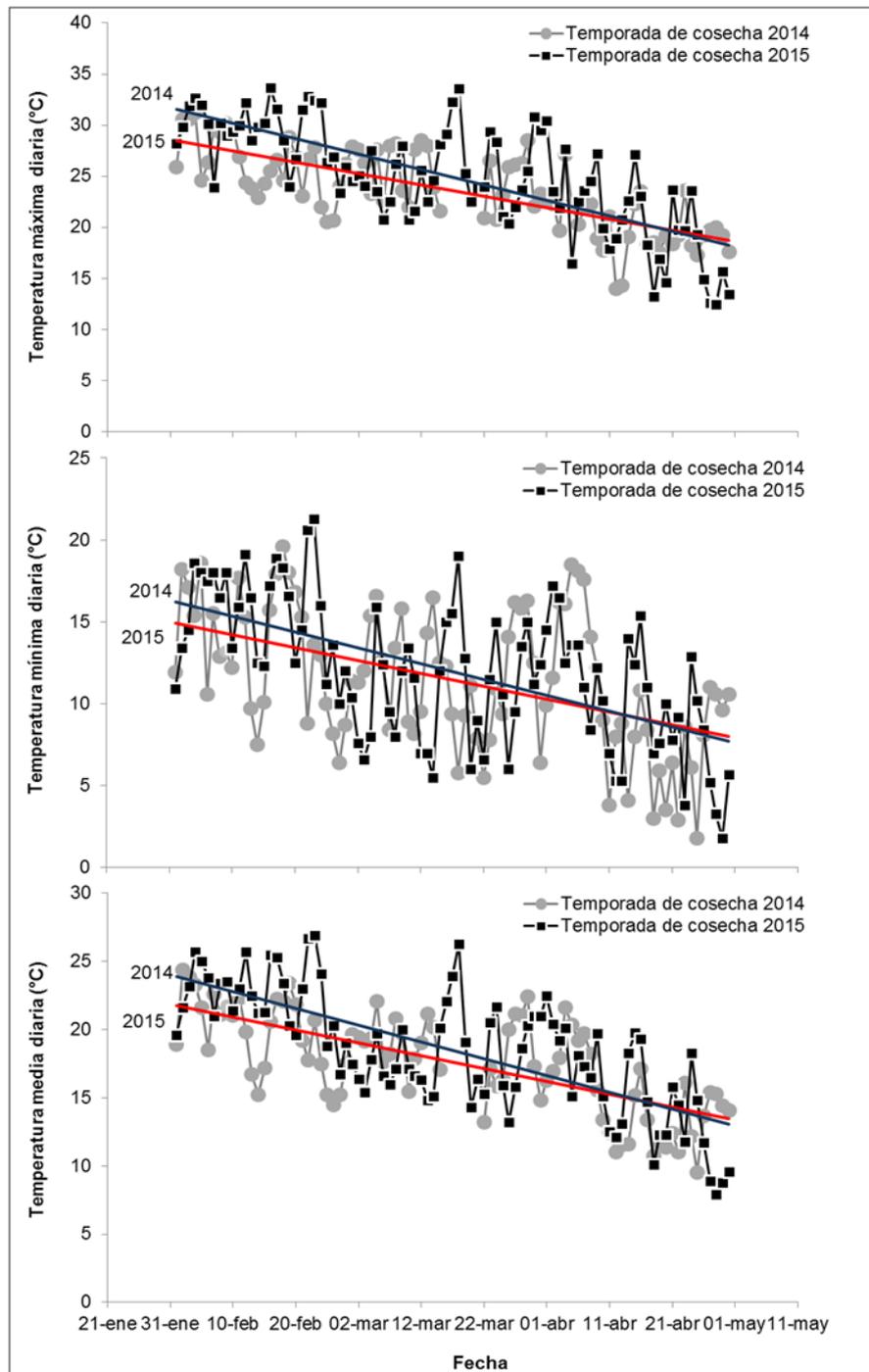


Figura IV. Condiciones de temperatura máxima, mínima y media diaria (°C) desde comienzos de febrero a fin de abril, en las temporadas de cosecha 2014 y 2015.

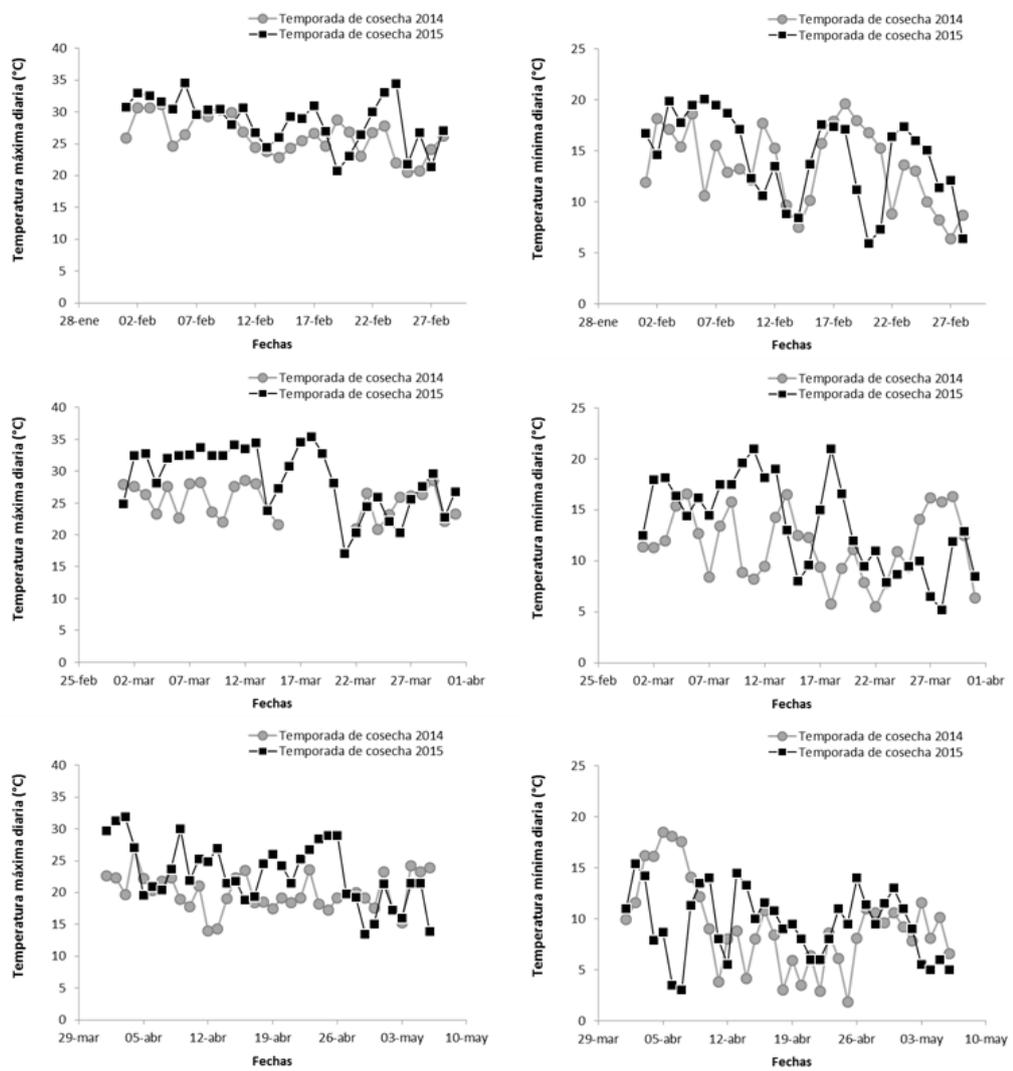


Figura V. Temperatura máxima diaria (°C) en el mes de febrero (a), marzo (b), abril (c) y temperatura mínima diaria en febrero (d), marzo (e) y abril (f).

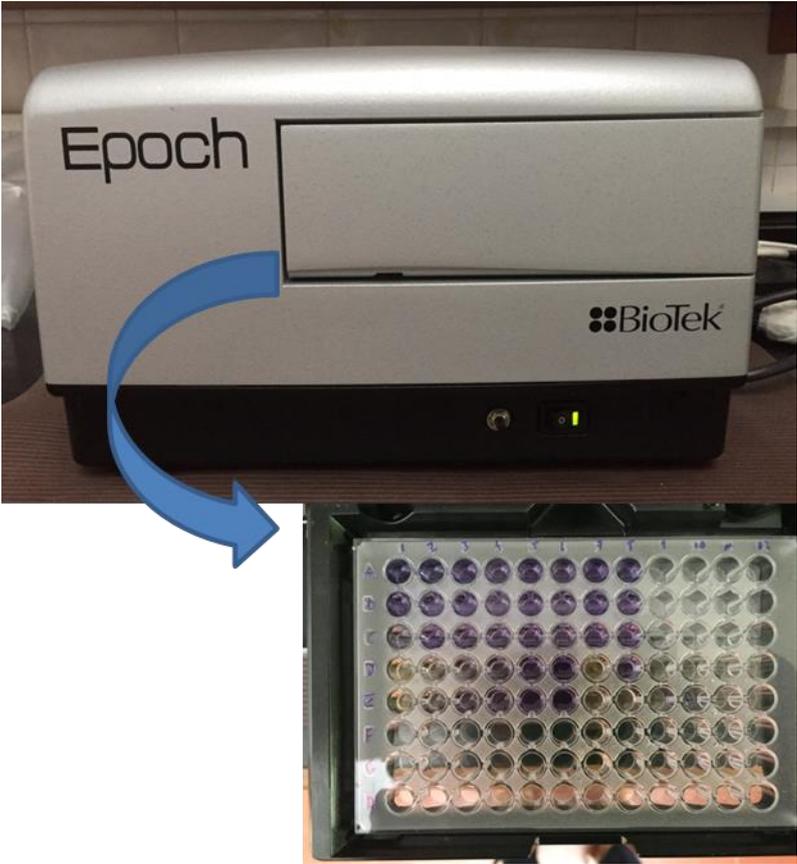


Figura VI. Equipo espectrofotómetro de microplaca Epoch