



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS  
INSTITUTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**FRUTICULTURA**

**MANEJO EN SECO DE ROSA DE CORTE (*Rosa hybrida* L.) Y  
SU RELACIÓN CON LA OBSTRUCCIÓN VASCULAR**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**Presenta:**

**GUADALUPE ELIZONDO GÓMEZ**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO.**

**2007**

## Contenido

INDICE DE CUADROS.....	i
INDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN .....	iv
SUMMARY.....	v
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 La floricultura mundial .....	3
2.2 La floricultura nacional.....	5
2.3. Manejo postcosecha de flor de corte.....	7
2.4. Metabolismo secundario .....	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	19
3.1. Material vegetal .....	19
3.2. Variables .....	20
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
EXPERIMENTO I.....	27
4.1. Vida de florero .....	27
4.2. Apertura del botón floral .....	28
4.3. Peso fresco.....	30
4.4. Transpiración .....	31
4.5. Actividad de fenilalanina amonialiasa (PAL).....	32
4.6. Fenoles totales .....	33
EXPERIMENTO II .....	35
4.7. Vida de florero .....	35
4.8. Apertura del botón floral .....	38
4.9. Peso fresco.....	40
4.10. Transpiración .....	42
4.11. Actividad de peroxidasas (PO) .....	43
4.12. Fenoles totales .....	46
VI. CONCLUSIONES.....	49
VII. LITERATURA CITADA .....	50
ANEXOS .....	55

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Superficie mundial productora de flores de corte y en maceta .....	3
Cuadro 2. Principales países exportadores de flores y valor de la producción en 2004 .....	4
Cuadro 3. Principales países importadores de flores y el valor de la producción.....	4
Cuadro 4. Volumen de exportación de flores mexicanas.....	6
Cuadro 5. Velocidad de respiración de algunas especies florales.....	9
Cuadro 6. Grados de apertura de botones florales de rosa 'Grand Gala'.....	22

## INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Compuestos fenólicos relacionados con el metabolismo secundario (Jacques *et al.*, 1990). PAL= fenilalanina amonialiasa; C4H= cinamato-4-hidroxilasa; 4CL= 4-cumarato:coenzima A ligasa..... 16
- Figura 2.** Vida de florero de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente 20°C. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n=23 ± EE. .... 27
- Figura 3.** Apertura floral de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente 20°C. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n= 20 ± EE. .... 29
- Figura 4.** Peso fresco (%) de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente 20°C. Letras diferentes en el mismo tratamiento indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n= 10 ± EE. .... 30
- Figura 5.** Transpiración ( $\text{mg H}_2\text{O cm}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente 20°C. Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n=10 ± EE. .... 31
- Figura 6.** Actividad de fenilalanina amonialiasa (PAL,  $\text{UI g}^{-1}\text{pf}$ ) de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente. Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n= 5 ± EE. .... 32
- Figura 7.** Contenido de fenoles totales ( $\text{mg g}^{-1}\text{pf}$ ) de la parte basal (4 cm) de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente. Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n=5 tallos ± EE..... 34
- Figura 8.** Vida de florero de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente 20°C (A) y temperatura de refrigeración (2°C) (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n=9 ± EE. .... 36

**Figura 9.** Apertura floral de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n= 9 ± EE. .... 39

**Figura 10.** Peso fresco (%) de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración (2°C) (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n=9 ± EE. .... 41

**Figura 11.** Transpiración ( $\text{mg H}_2\text{O d}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ) de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración (2°C) (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n=10 ± EE. .... 43

**Figura 12.** Actividad de peroxidasa ( $\text{UI g}^{-1}\text{pf}$ ) de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración (2°C) (B). Letras diferentes en la misma temperatura indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n=5 ± EE. .... 44

**Figura 13.** Contenido de fenoles totales ( $\text{mg g}^{-1}\text{pf}$ ) de la parte basal (4 cm) de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración (2°C) (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n= 5 tallos ± EE. .... 47

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de diversos compuestos en la inhibición de la obstrucción vascular en tallos de rosa (*Rosa hybrida*, L.) 'Grand Gala' almacenados en seco, a través de variables como: vida de florero, apertura del botón floral, peso fresco, transpiración, actividad enzimática y contenido de fenoles totales. Para ello, se realizaron dos experimentos. En el primero se utilizaron soluciones de ácido aminoxiacético (AOA) (1 y 2 mM) y putrescina (25 mg L<sup>-1</sup>). En el segundo experimento se probaron AOA (1 mM) S-carvone (0.1%) y 4-hexilresorcinol (5 mM). Los tallos fueron tratados por 12 h con la solución de pulso correspondiente a su tratamiento y posteriormente colocados en bolsas de plástico negras sin agua (periodo seco) simulando el transporte; en el primer experimento el periodo seco se realizó a 20°C y en el segundo se realizó a dos temperaturas (20 y 2°C). Finalmente los tallos de los diferentes tratamientos se colocaron en agua y se evaluaron las variables establecidas. Los resultados mostraron que la baja temperatura tuvo un efecto significativo durante el periodo seco ya que alargó la vida de florero y mejoró la apertura floral. El uso AOA y 4-hexilresorcinol en las diferentes concentraciones en la solución de pulso mitigó el daño causado por el estrés del periodo seco, ya que los tallos tratados resultaron comparables e incluso con mejores características que los tallos mantenidos constantemente en agua.

Palabras clave: *Rosa hybrida*, L., ácido aminoxiacético, putrescina, s-carvone, 4-hexilresorcinol, periodo seco.

## SUMMARY

The aim of this research was to know the effect of diverse compounds in the inhibition of the vascular obstruction in rose stems (*Rosa hybrid* L.) 'Grand Gala' stored in dry conditions, evaluating different variables such as: vase life, flower opening, fresh weight, transpiration, the activity of the enzymes and total phenolics concentration. Two experiments were performed; in the first one two solutions of aminoxyacetic acid (AOA) at 1 and 2 mM and putrescine (24 mg L<sup>-1</sup>) were used. In the second experiment were tested AOA (1mM), S-carvone (0.1%) 4-hexylresorcinol (5 mM). The stems were treated 12 h with the pulse solution and subsequently placed in plastic bags (black) without water (dry period) for 48 h at two temperatures (20 and 2°C), simulating transport; in the first trial the dry period was done at 20°C and 2°C. Finally the stems of the different treatments were placed in water and the variables were recorded. The results showed a significant effect of the storage temperature during the dry period on the vase life by increasing the vase life and flower opening. Likewise the use AOA and 4-hexylresorcinol in the pulse solution mitigated the damage caused by the stress of the dry period. The stems were comparable or even better in their characteristics than the stems maintained permanently in water.

Key words: *Rosa hybrid* L., aminoxyacetic acid, putrescine, S-carvone, 4-hexylresorcinol, dry period.

## I. INTRODUCCIÓN

El aumento de población y su concentración en los centros urbanos, aunado a los diferentes usos que se da a las flores, ha propiciado un incremento en la demanda de plantas ornamentales, especialmente de flores cortadas. En México organismos oficiales como ASERCA (Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria) publicaron que 80% de la producción nacional de flores se destinó al consumo interno durante 2006.

El rosal (*Rosa hybrida*, L.) es uno de los cultivos florícolas más conocidos y demandados por su exquisita belleza y gran variedad de colores, y por ello se le considera como una de las flores más elegantes. A nivel mundial los principales exportadores son Holanda, Colombia, Ecuador, Israel y Kenia (ASERCA, 2006); según esta fuente, en 2005 México ocupó el cuarto lugar en exportación de flores hacia los Estados Unidos (antecedido por Colombia, Ecuador y Holanda) y generó divisas por aproximadamente 18 millones de dólares.

Para hacer llegar las flores mexicanas a los centros de consumo es necesario empaquetarlas (en agua o en seco) y transportarlas, ya sea por vía terrestre o vía aérea. La primera es económica pero lenta, mientras que la aérea es rápida pero costosa. En ambos casos ocurren pérdidas de calidad y del producto, especialmente cuando se envía en seco.

Entre las causas de pérdidas postcosecha de rosa como flor de corte, están: apertura insuficiente del botón floral, pérdida de color, pudriciones causadas por el ataque de *Botrytis sp.* y corta vida de florero. La corta vida en florero se atribuye a que muchos cultivares de exportación son sometidos a condiciones que generan estrés hídrico y problemas en la conducción de agua, además de que induce fallas en la apertura floral porque el tallo no puede recuperar la capacidad de conducción de agua (van Doorn, 1993).

La falta de hidratación durante la vida postcosecha de las flores de corte provoca pérdida de calidad y pueden manifestarse en el doblamiento del pedúnculo (bent-neck). Las flores cortadas normalmente desarrollan un balance hídrico negativo (la tasa de absorción es inferior a la tasa de transpiración) y presentan pérdida de turgencia aún

cuando están colocadas en agua; esto es común en algunos cultivares de crisantemo (*Dendrathera grandiflorum*) y rosa. El balance hídrico puede hacerse negativo en las primeras horas después de colocar los tallos en agua, particularmente cuando se han mantenido al aire y se colocan nuevamente en agua (van Meeteren 1989, 1992). Esto se debe a la obstrucción de los vasos del xilema.

La obstrucción de los vasos del xilema puede suceder por diferentes causas, como: presencia de microorganismos (Nowak y Rudnicki, 1990; van Doorn y Cruz, 2000), entrada de aire (embolismo) (van Doorn y Reid, 1995; van Doorn y Otma, 1995; van Meeteren y van Gelder, 1999; van Ieperen *et al.*, 2000; van Meeteren *et al.*, 2005; van Meeteren *et al.*, 2006) y producción de diversos compuestos, como respuesta fisiológica al corte (van Doorn, 1993; van Doorn, 1997; van Doorn y Cruz, 2000; van Doorn y Vaslier, 2002; Williamson *et al.*, 2002; He *et al.*, 2006; ).

Es por ello que en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Estudiar los cambios fisiológicos y bioquímicos que presentan los tallos florales de rosa sometidos a estrés hídrico.
- Medir el efecto de la temperatura en el desarrollo de la obstrucción vascular en rosa de corte.
- Evaluar diversos compuestos que puedan reducir la obstrucción vascular en tallos de rosa.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 La floricultura mundial

La floricultura es una de las actividades económicas más rentables a nivel mundial, lo que ha llevado a la creación de organizaciones mundiales como la Internacional Association of Horticultural Producers (IAHP), que agrupa a cerca de 30 países miembros, tanto productores como consumidores de productos ornamentales. Esta asociación registró para el año 2003, una superficie de producción mundial de 364,451 ha (Cuadro 1), con un valor total estimado de US \$ 68,160.36 M.

**Cuadro 1.** Superficie mundial productora de flores de corte y en maceta

<b>Continente</b>	<b>Superficie (ha)</b>	<b>%</b>
Europa	54,109	14.85
África	5,697	1.56
América	72,115	19.79
Asia	232,530	63.80
<b>Total mundial</b>	<b>364,451</b>	<b>100.0</b>

Fuente: Elaboración propia con datos de ASERCA (2006).

La producción de plantas ornamentales se ha incrementado en los últimos años, principalmente en países en vías de desarrollo donde la mano de obra es más barata, el clima menos extremo que en el hemisferio norte y la regulación ambiental es menos severa (ASERCA, 2006). Esto se debe en parte a que países de gran tradición en la producción de flores (Holanda, Alemania y Estados Unidos) han buscado convenios directamente con productores o a través de gobiernos, empresas o instituciones tanto públicas y privadas.

La Organización de las Naciones Unidas (ONU) clasifica a las plantas ornamentales en el rubro 060310, en el que se incluyen las flores de corte y bouquets. Para 2006, este organismo internacional reportó como principales países exportadores a

Holanda, Colombia, Ecuador y Kenia (Cuadro 2). La misma fuente establece que México aporta alrededor del 1% de las exportaciones de flores a nivel mundial.

**Cuadro 2.** Principales países exportadores de flores y valor de la producción en 2004

<b>País</b>	<b>Millones de dólares (MDD)</b>
Holanda	3,009.49
Colombia	699.43
Unión Europea	340.81
Ecuador	231.37
Kenia	83.62
Otros	693.55
<b>Total</b>	<b>5,058.27</b>

Fuente: ASERCA (2006).

Entre los principales países importadores (Cuadro 3) destacan Alemania, Reino Unido y Estados Unidos.

**Cuadro 3.** Principales países importadores de flores y el valor de la producción

<b>País</b>	<b>Millones de dólares (MDD)</b>
Alemania	1,048.61
Reino Unido	1,005.04
Estados Unidos	880.40
Holanda	493.46
Francia	487.58
Otros	1,531.92
<b>Total</b>	<b>5,447.01</b>

Fuente: ASERCA (2006).

Agencias especializadas reportan que los países productores optan por exportar a los países más cercanos y comercialmente más importantes; es decir, la producción de flores de Centro y Sudamérica se envía principalmente hacia América de Norte, la

producción de los países africanos se comercializa en Europa y las flores producidas en el Sureste Asiático se exportan hacia Japón, Singapur y Hong Kong. El consumo de las flores está íntimamente relacionado con el nivel de ingreso de la población, por ello, los países con mayor capacidad económica demandan mayor cantidad y calidad de productos florales (ASERCA, 2006). Por ejemplo, en el continente europeo el consumo *per cápita* de flores es de US \$50.<sup>00</sup>, mientras que en México se ha estimado en sólo US \$ 10.<sup>00</sup>.

## **2.2 La floricultura nacional**

De acuerdo con la IAHP, México cuenta con una superficie de producción de ornamentales de 21,129 ha; sin embargo, el Consejo Mexicano de la Flor reporta 21,970 ha, cifra que representa 5.8% de la superficie agrícola nacional, y aproximadamente 52% de dicha superficie se destina a la producción de flores y follajes de corte. Por ello, la horticultura ornamental es una de las actividades económicas importantes del país. Así mismo, el Instituto Nacional De Estadística Geografía e Informática (INEGI, 1999) considera que la floricultura es la actividad agrícola más rentable económicamente, pues en 1998 generó más de 27 millones de pesos en una superficie que apenas representa 0.07% de la superficie total nacional.

Los estados productores de cultivos ornamentales son: México (37.96%), Puebla (25.54%), Morelos (8.64%), San Luis Potosí (5.70%), Guerrero (3.61%), seguidos de Michoacán, Jalisco, Baja California, Sinaloa, Veracruz, Oaxaca, Distrito Federal, Querétaro, Durango, Nayarit, Hidalgo, Sonora, Tlaxcala, Yucatán, Guanajuato, Chihuahua, Baja California Sur y Coahuila (ASERCA, 2006).

Según Bancomext (2005, citado por ASERCA, 2006), el valor de las exportaciones de plantas ornamentales de origen mexicano a diferentes partes del mundo, es de aproximadamente US \$ 25 millones. Por ser Estados Unidos el principal socio comercial de México, aunque este mercado es abastecido mayoritariamente por otros países, como Colombia que provee 62.18%, Canadá el 2.40%, Ecuador 16.41% y otros países 16.10%; México solo provee 2.91%.

Las flores que principalmente importa EE. UU. son rosas, claveles, crisantemos, alstroemerias y orquídeas (ASERCA, 2006). Para el año 2005, EE. UU. importó flores con un valor de 703,350 miles de dólares, de los cuales México recibió 17,970 miles de dólares por concepto de exportación de rosas, lilis, alstroemerias, claveles y orquídeas.

**Cuadro 4.** Volumen de exportación de flores mexicanas

<b>Especie</b>	<b>Cantidad (Kg)</b>
Estatice	1,812,522.9
Rosa	855,307.9
Gladiola	750,982.1
Margarita	554,301.0
Ave del paraíso	427,999.7
Clavel	346,933.2
Gerbera	235,167.1
Gypsophilia	10,165.4
Crisantemo, excepto pompón	2,205.1
Anturio	412.3
Crisantemo pompón	50
Demás flores frescas	10,139,903.8
Otras	2,791,703.2
<b>Total</b>	<b>17,927,653.70</b>

Fuente: ASERCA (2006).

La rosa es una de las especies florales de mayor interés comercial en México y el mundo, lo que la hace una de las especies más comercializadas a nivel mundial y una fuente importante de divisas; sin embargo, la calidad del producto cortado no es óptima y cuando su transporte se realiza en seco, ocurren grandes pérdidas porque el botón floral no abre y ocurre marchitez prematura en los tallos florales.

### 2.3. Manejo postcosecha de flor de corte

Entre los factores que intervienen en el deterioro de las flores durante el periodo postcosecha se encuentra su capacidad de seguir metabólicamente activas, a pesar del desbalance fisiológico general por pérdida de su fuente de nutrientes y agua, y de diversas reacciones enzimáticas generadas por el corte y el manejo.

Con el objetivo de disminuir el deterioro postcosecha, los tallos florales son sumergidos en diversos tipos de soluciones en función del efecto deseado; por ejemplo, soluciones de hidratación, soluciones para preservación (soluciones de florero) y soluciones de pulso.

Las soluciones de hidratación son las que se utilizan para disminuir los efectos de la marchitez en los tallos, como agua a bajas temperaturas adicionada con germicidas (p. e., citrato de hidroxiquinoleína), acidificantes (ácido cítrico) o inhibidores de etileno (sulfato de aluminio) (Reid, 2002). Su finalidad es restablecer la turgencia de las estructuras florales mediante la disminución de la tensión superficial (Halevy y Mayak, 1981).

Las soluciones de florero tienen como objetivo prolongar la vida de las flores por medio de la conservación vital de los tallos (Halevy y Mayak, 1981). Son formuladas con azúcares, germicidas y ácidos en concentraciones de 0.5 a 2.0%

El ácido aminooxiacético (AOA) en soluciones de florero produce un efecto sinérgico cuando es mezclado con azúcares (Ketsa y Narkbua, 2001; Rattanawisalanon *et al.*, 2003). Los primeros autores emplearon soluciones que contenían 5% de sacarosa y 0.5 mM AOA en rosas (*Rosa hybrida*, L.) 'Sissel Krykjebo', 'White Christmas', 'Super Star', 'Sweet Surrender' y 'Olimpiad', y observaron que la vida de florero pudo incrementarse entre 36.8 y 87.5%.

También en soluciones de florero se ha evaluado una mezcla de 0.5 mM de AOA combinada con azúcares (glucosa y sacarosa) a 2 y 4% para preservar orquídeas del género *Dendrobium*; se observó que la mezcla prolongó la vida de florero y que la glucosa resultó más efectiva que la sacarosa (Rattanawisalanon *et al.*, 2003).

En las soluciones de pulso se colocan los tallos recién cortados durante periodos relativamente cortos según la especie, que pueden ir desde 10 min (Reid, 2002) hasta 12 ó 24 h (Halevy y Mayak, 1981); el propósito de usar estas soluciones es incrementar el almacenamiento y la vida de florero, promover la apertura floral y proteger su coloración natural (Reid, 2002; Halevy y Mayak, 1981). Estas soluciones son formuladas con diversos compuestos, que pueden ser sacarosa (2-20%), tiosulfato o nitrato de plata entre 100 - 1000  $\mu\text{g L}^{-1}$  dependiendo de la especie (Reid, 2002; Halevy y Mayak, 1981). Algunos productos comerciales aplicados en soluciones de pulso han incrementado la vida de florero de rosas (*Rosa hybrida*, L.) 'Sonia' y 'Darling' hasta en 366%, debido a que mejoran la absorción de agua y evitan el crecimiento microbiano (Hofman, 1992). En clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) tratado con 4 mol  $\text{m}^{-3}$  AOA durante 10 h y un periodo seco de 12 h, Mayak *et al.* (1985) observaron que es posible mejorar la capacidad de hidratación de los tallos e incrementar su resistencia al estrés hídrico.

Hay numerosos factores involucrados en deterioro de los productos frescos, que afectan su morfología, composición y fisiología. Entre los más importantes que afectan la vida postcosecha de las flores de corte están, la temperatura y el estrés hídrico.

**Temperatura.** Es uno de los factores más importantes que afecta la calidad postcosecha de las flores. Las altas temperaturas aceleran la senescencia y las temperaturas bajas reducen la transpiración y con ello reducen la deshidratación y pérdida de peso, la producción de etileno, la multiplicación de los microorganismos y el uso de carbohidratos (Faragher y Mayak, 1984; Nowak y Rudnicki, 1990; Come, 1991; Salisbury, 1992; Hopkins, 1999;). La temperatura óptima de almacenamiento para la mayoría de las flores oscila entre 0 y 2°C (Nell y Reid, 2000). Puesto que la velocidad de respiración es influenciada por la temperatura (Cuadro 5), es necesario mantener todo el proceso productivo a temperaturas alrededor de 0°C para retardar el deterioro. Corbineau (1992) recomienda que para rosa (*Rosa hybrida*, L.) almacenada en seco se empleen temperaturas de 0.5 a 3 °C durante una o dos semanas, para evitar los daños por frío.

**Cuadro 5.** Velocidad de respiración de algunas especies florales

Temperatura (°C)	Velocidad de respiración (mg CO <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	
	Rosas	Claveles
0	11	9
20	293	239
30	530	516
40	872	1053

Fuente: Reid (2001, citado por García, 2004).

Existe una relación directamente proporcional entre la resistencia al frío y la relación de ácidos grasos saturados e insaturados en las membranas celulares (Salisbury, 1992). El aumento de la proporción de ácidos grasos insaturados o en la cantidad de esteroides mantiene el funcionamiento de la membrana a bajas temperaturas (Salisbury, 1992; Hopkins, 1999) y con ello se mantiene estable la concentración de solutos, electrolitos, la compartimentalización celular y la permeabilidad (Faragher y Mayak, 1984). De este modo se conserva el equilibrio en los sistemas enzimáticos y de los fotosistemas, la actividad de proteasas y enzimas relacionadas con la producción de etileno (Lukaszewka *et al.*, 1989; Serrano *et al.*, 1992; Hopkins, 1999).

El desequilibrio enzimático y la pérdida de la compartimentalización celular pueden traer consigo la acumulación de metabolitos secundarios como aminoácidos y etileno (Faragher y Mayak, 1984; Lukaszewka *et al.*, 1989; Salisbury, 1992). Aunado a la reducción en la actividad metabólica de los tallos florales, el proceso de senescencia reduce la vida de florero, lo que se asocia con una disminución del contenido de poliaminas y de la actividad de enzimas relacionadas.

Los síntomas típicos de envejecimiento son: aumento en la actividad de ribonucleasas y proteasas, degradación de proteínas y clorofila, y producción de etileno que precede a la pérdida de iones, los cuales son síntomas visibles de senescencia (Faragher y Mayak, 1984).

La aplicación de poliaminas a plantas completas (chícharo, frijol, colza y tabaco) reduce la aparición de los síntomas de senescencia, lo que hace pensar que su aplicación en soluciones poscosecha puede prolongar la vida de florero. Las poliaminas son compuestos nitrogenados contenidos en células animales, vegetales y microorganismos, que se unen con facilidad a fosfolípidos, ácidos nucleicos, proteínas y a la pared celular; es posible que desde ahí las poliaminas ejerzan los efectos fisiológicos (Jankiewicz, 2003). Las principales poliaminas con efecto estimulante son putrescina, espermina, y espermidina; la arginina es el precursor de la primera, mientras que la metionina es el precursor de las dos últimas (la metionina también es precursor de etileno) (Jankiewicz, 2003; Walters, 2003).

Se ha comprobado la acción del etileno en la senescencia y maduración vegetal (Hopkins, 1999). Éste y otros reguladores del crecimiento están relacionados con los procesos vegetales que determinan la calidad de las flores de corte y maceta, como son: marchitamiento de pétalos, abscisión, deshidratación de botones, apertura floral y amarillamiento del follaje (van Doorn y Woltering, 1991).

Diversos investigadores han sugerido que las poliaminas y el etileno son compuestos antagonistas al competir por un precursor común, s-adenosilmetionina (SAM), por lo que las poliaminas pueden jugar un papel importante en la manifestación de la senescencia floral (Jankiewicz, 2003).

La senescencia en rosas aparentemente involucra una secuencia de eventos, como el aumento en la producción de etileno que precede el incremento de la salida de iones y la marchitez (Faragher y Mayak, 1984). Esto puede deberse al aumento de la permeabilidad de las membranas, lo que involucra cambios en las proteínas y en la síntesis de enzimas.

Faragher y Mayak (1984) observaron que cuando las rosas (*Rosa hybrida* L.) de la variedad 'Mercedes' son almacenadas a bajas temperaturas (1-5 °C) durante 17 días, se retrasa la senescencia; atribuyeron el hecho a la disminución en la producción de etileno y en la pérdida de iones.

Serrano *et al.* (1992) almacenaron rosas (*Rosa hybrida* L.) de la variedad 'Visa' a 4 °C durante 10 días y observaron que durante el almacenamiento disminuyeron la respiración y la actividad de la enzima 1-aminociclo propano-1- ácido carboxílico oxidasa (ACC oxidasa; EC. 4. 4. 1.14), mientras que los niveles de enzima 1-aminociclo propano-1- ácido carboxílico oxidasa (ACC oxidasa) se incrementaron.

En rosas (*Rosa hybrida*, L.) de la variedad 'Sonia' el almacenamiento a 2°C retrasó la senescencia, ya que la apertura floral se inicia hasta las dos semanas de almacenamiento, y además evitó la abscisión de pétalos (Lukaszewka *et al.*, 1989); la cantidad de aminoácidos individuales y libres disminuyó durante el almacenamiento a bajas temperaturas. Los autores concluyeron que la actividad de proteasas influyó sólo en el contenido de algunos aminoácidos, ya que existe interconversión entre ellos.

La prolina juega un papel importante en la estabilización de los fosfolípidos de las membranas. Lukaszewka *et al.* (1989) observaron que después de tres días el contenido de prolina en tallos a temperatura ambiente se incrementó, mientras que en tallos refrigerados disminuyó constante y paulatinamente. Entre otras cosas, esto puede explicar el porqué los tallos que son almacenados en húmedo a temperatura ambiente manifiestan los síntomas de senescencia antes que los almacenados en refrigeración.

**Estrés hídrico.** El hecho de colocar los tallos florales en agua no es suficiente para garantizar la hidratación adecuada (Cid, 1992). Algunas especies pueden hidratarse fácil y rápidamente (clavel y freesia), mientras que otras presentan marchitamiento prematuro cuya forma de manifestación depende de la especie (doblamiento de cuello en rosas (*Rosa hybrida*, L.) y gerberas (*Gerbera jamesonii*). Este fenómeno se debe a la disminución en la capacidad de transporte de las estructuras anatómicas del tallo floral, particularmente del xilema.

El xilema está constituido por un grupo de células que se encuentran en la periferia del diámetro del tallo, formando los conductos por los cuales transportan agua y solutos (Hopkins, 1999). La conducción del agua en las plantas vasculares se presenta en tres grupos de elementos anatómicos del xilema: fibras, traqueidas y vasos del xilema; las fibras son menores a 50 mm de longitud y diámetro menor a 2 µm; las traqueidas son menos largas que las fibras y miden de 10 a 50 µm de ancho; los vasos son un conjunto

de membranas o paredes lignificadas intercomunicadas, cuya longitud varía entre 50  $\mu\text{m}$  y 200  $\mu\text{m}$  (Hopkins, 1999; van Doorn, 1993). El transporte del agua de conducto a conducto se da a través de punteaduras, las cuales se encuentran en la pared primaria de las células y miden como 3  $\mu\text{m}$  de diámetro (Hopkins, 1999).

Los cambios en la conductividad hidráulica del xilema se han basado en medidas indirectas de esta propiedad, como peso fresco, absorción de agua e incidencia de marchitez de hojas. En rosa de corte se ha demostrado que la pérdida de turgencia en los pétalos y su disminución del peso fresco son precedidas por una reducción en la circulación de agua. El hecho de que el agua perdida y el menor potencial hídrico que se observa en las flores cortadas, no conduzcan a un incremento paralelo en la absorción de agua, permite pensar que existen obstáculos en los vasos conductores u oclusión vascular que impide la libre circulación de los líquidos (Paulin, 1997, citado por García, 2004).

La circulación del agua dentro de las estructuras anatómicas del tallo puede ser obstruida por diferentes causas, entre las que destacan la presencia de microorganismos, entrada de aire (embolismo) y la producción de diversos compuestos como respuesta fisiológica al corte (van Doorn, 1993).

En tallos de rosa (*Rosa hybrida*, L.) la conductividad hidráulica está negativamente correlacionada con el número total de bacterias en la superficie del corte y en el xilema (Witte y van Doorn, 1991). Las bacterias pueden obstruir los conductos del tallo, dependiendo de la cantidad en que se encuentren (van Doorn y Cruz, 2000). En la subasta holandesa de flores, el contenido de un millón de bacterias por  $\text{cm}^2$  es motivo de rechazo, ya que se calcula que con esta carga bacteriana la flor ha perdido más del 50% de su vida útil y por tanto no es posible garantizar el producto (García, 2004).

Otro factor que influye en la calidad de las flores de corte es su transporte en seco, ya que generalmente la oclusión de los vasos del xilema en flores cortadas parece depender del tiempo de exposición al aire (van Doorn y Reid, 1995; van Meeteren y van Gelder, 1999). Se ha mostrado que el embolismo ocurre en la parte mas baja del tallo y puede aparecer inmediatamente después de la cosecha debido a la aspiración del aire

dentro del xilema a través de la superficie de corte (van Doorn, 1990; van Meeteren, 1992).

El grado de embolismo y la remoción del aire después de colocar los tallos en el agua tienen gran efecto en la rehidratación de los tallos almacenados en seco (van Doorn y Otma, 1995; van Ieperen *et al.*, 2002; van Meeteren *et al.*, 2005; van Meeteren *et al.*, 2006). Entre más tiempo haya estado el tallo fuera del agua, más difícil es rehidratarlo y remover el embolismo provocado por aire (van Door, 1990; van Meeteren *et al.*, 2006). Sin embargo, al colocar los tallos en agua antes de la toma de aire, van Meeteren y van Gelder (1999) mostraron que no es el tiempo de periodo en seco por sí mismo sino el tiempo desde el corte el que afecta la habilidad de rehidratación de los tallos de crisantemo (*Dendrathera grandiflorum*).

El marchitamiento puede observarse aún en tallos que se colocan directamente en agua después de ser cortados, lo que se debe al aire aspirado durante el corte. En tallos que son sometidos a periodos de manejo en seco, la deshidratación resulta por la inhibición de la entrada de agua al tallo, en una magnitud que depende de la especie (Mensink y van Doorn, 2001). Los mismos autores afirman que en (*Rosa hybrida*, L.) la presencia de aire en los conductos del xilema es provocada por el corte, lo que a su vez provoca cavitación. La inhibición en la absorción de agua está correlacionada con un decremento de la entrada de agua a los conductos abiertos por el corte (van Doorn y Otma, 1995). Mensink y van Doorn (2001) encontraron que un incremento en la presión hidrostática puede difundir el aire y llenar de agua los conductos que presentan cavitación y, por tanto, facilitar la entrada de agua al xilema.

Van Meeteren *et al.* (2006) afirman que después de 30 min de periodo en seco los tallos de crisantemo (*Dendrathera grandiflorum*) 'Cassa' no recobran su capacidad de hidratación, debido a la pérdida de la capacidad hidráulica de los tallos; dicha capacidad está determinada por las condiciones de crecimiento, la especie e incluso el cultivar. Los mismos autores demostraron que el bloqueo causado por la presencia de aire puede ser removido del tallo si el periodo seco dura menos de 2 horas; después de este corto periodo el bloqueo se debe a la acción de enzimas que se activan como respuesta al corte. Esto lo comprobaron al medir la capacidad hidráulica de tallos que se colocan previamente en solución de pulso con tropolone y se someten a 24 h de periodo en seco.

van Doorn y Cruz (2000) reportaron que en crisantemos (*Dendrathera grandiflorum*) una marchitez temprana se debe a la oclusión del xilema en la parte mas baja del tallo, como resultado de un proceso fisiológico oxidativo inducido por el daño mecánico originado durante la cosecha, ya que la obstrucción vascular ocurre incluso en tallos que son colocados directamente en agua. Estos mismos autores realizaron experimentos en crisantemo 'Viking', con diferentes sustancias ácidas, antioxidantes y sustancias que han sido reportadas como disolventes de depósitos de materia orgánica en las punteaduras del xilema. Los ácidos probados fueron: ascórbico a 1, 5 y 10 mM (pH=3.9); benzoico a 0.5, 1 y 2mM (pH=3.4); propiónico, cítrico y acético (pH=3, 4 y 5). Los antioxidantes probados fueron: n-propilgalato a 10, 20 y 40 mM (pH=5.3); floroglucinol a 25, 50 y 100 mM; butirato hidroxitolueno a 2, 10 y 50 mM (pH=5.7). Los solventes de materia orgánica utilizados fueron: hidróxido de potasio 0.8 N, acetona 33%, e hipoclorito de sodio 0.2 M. Todos los compuestos probados se aplicaron en solución de pulso a diferentes tiempos (15 min o 5 h) y posteriormente los tallos se sometieron a periodo seco por 24 h a 5°C. Encontraron que la vida de florero se incrementó entre 100 y 800% en todos los tratamientos, excepto en las soluciones de ácidos a pH= 5, fluoroglucinol 25 mM y butirato hidroxitolueno 2 mM, cuya respuesta fue igual a la del testigo.

Por otro lado, van Doorn y Vaslier (2002) encontraron que el marchitamiento prematuro se debe a procesos fisiológicos que requieren la actividad de enzimas como peroxidasa y catecol oxidasa. La actividad metabólica de las enzimas involucra la producción y deposición de materiales como gomas, ligninas, taninos, calosas, mucílagos y tilosas, en el lumen de los vasos del xilema (van Doorn, 1997; Williamson *et al.*, 2002). La cicatrización de los tejidos de las plantas se expresa por el número de genes que estimulan la actividad de enzimas como fenilalanina amonialiasa (PAL) y peroxidasa (PPO) (van Doorn y Cruz, 2000). Estas enzimas están directamente relacionadas con la biosíntesis de lignina y suberina que se forman durante el metabolismo secundario e impiden la entrada de microorganismos, y pueden actuar como una barrera para la entrada de agua al interior de los tallos cortados (Williamson *et al.*, 2002).

La suberización es un mecanismo de defensa que han desarrollado las plantas hacia el ataque de patógenos y el daño mecánico (Cottle y Kolattukudy, 1982). La suberina es un polímero que presenta compuestos polialifáticos y poliaromáticos que se

depositan en las paredes celulares, y pueden alinearse desde la peridermis hasta los vasos del xilema y las fibras del floema (Bernards y Lewis, 1998). Estos compuestos se forman a partir de fenilalanina y tirosina en la ruta del ácido shiquímico, mediante la acción de PAL (Kolattukudy, 1981).

Bernards y Lewis (1998) afirman que una de las características de la suberina es su estructura multi-laminar y la presencia de ácidos grasos de más de 20 carbonos, que pueden aparecer como componentes de la banda de Caspari, en respuesta al estrés en tejidos subterráneos; además, existe separación espacial entre los componentes de la suberina, pues los polifenoles se alinean hacia la pared celular primaria y los componentes alifáticos se colocan entre el plasmalema y la pared celular primaria.

Williamson *et al.* (2002) afirman que el tejido suberizado que aparece en las 12 h siguientes después del corte, es lo que incrementa la cavitación y el estrés hídrico. Este fenómeno es cuestionado porque los vasos y traqueadas del xilema carecen de protoplasto; sin embargo, las células del parénquima están vivas y pueden sintetizar los metabolitos precursores de la suberina.

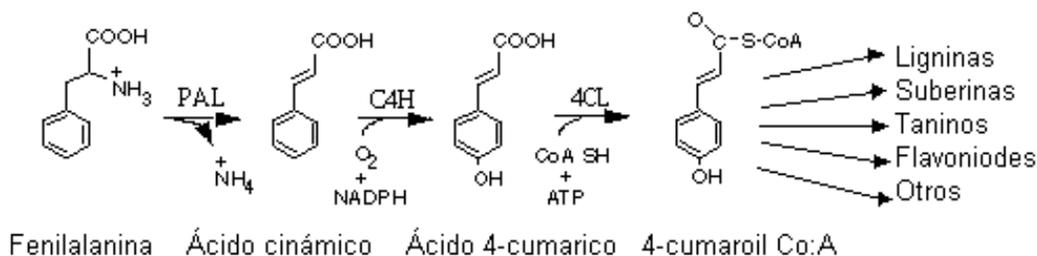
#### **2.4. Metabolismo secundario**

La diferencia más importante entre plantas y animales radica en su capacidad biosintética. Las plantas sintetizan todas las moléculas necesarias para sobrevivir, y tales moléculas se han agrupado en metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son los azúcares, lípidos y proteínas (Hopkins, 1999), y los secundarios se clasifican en función de la ruta biosintética que les da origen.

Entre los principales metabolitos secundarios se encuentran los terpenos, glucósidos, alcaloides y compuestos fenólicos, que al parecer son estimulados por el daño generado al cortar las flores (Figura 1). Este grupo de compuestos fenólicos contienen fenol en su molécula (radical OH unido a un anillo aromático) (Jacques *et al.*, 1990). Por su naturaleza química heterogénea algunos son solubles en compuestos orgánicos, otros en agua o ácidos carboxílicos y otros son grandes polímeros insolubles (Kuklinski, 2000). El grupo de polímeros insolubles incluye metabolitos derivados de la condensación de unidades de acetato, aminoácidos aromáticos (ácidos cinámicos, precursores de la

lignina, ácidos hidroxibenzoicos, catecoles y cumarinas), flavonoides, isoflavonoides y taninos, entre otros. Los fenoles provienen de la ruta del ácido shiquímico o del ácido mevalónico, el primero es predominante en plantas superiores y sus precursores son triptofano, fenilalanina y tirosina; el segundo es común en hongos y bacterias. Las funciones de los compuestos fenólicos en las plantas son de protección contra herbívoros y patógenos, soporte mecánico, atracción de polinizadores y alelopatía.

Las plantas sometidas a estrés producen metabolitos secundarios en respuesta a los estímulos adversos, como terpenos (glicoalcaloides y terpenos), fenilpropanoides (compuestos fenólicos y cumarinas) y derivados de los isoflavonoides (faseolina). Muchos de estos compuestos químicos son almacenados en los tejidos (Haard y Cody, 1978).



**Figura 1.** Compuestos fenólicos relacionados con el metabolismo secundario (Jacques *et al.*, 1990). PAL= fenilalanina amonialiasa; C4H= cinamato-4-hidroxilasa; 4CL= 4-cumarato:coenzima A ligasa.

Las sustancias que producen las plantas en respuesta al estrés pueden acumularse en los tejidos como resultado de heridas o procesos de cicatrización (Haard y Cody, 1978). Entre estas sustancias se encuentran: suberina, ácido ascórbico, fosfolípidos y melanina (sustancia producida durante el oscurecimiento enzimático). La resistencia de los tallos de rosa (*Rosa hybrida*, L.) al doblamiento del cuello, se encuentra relacionada con el estado de madurez del botón floral y la actividad de la enzima fenilalanina amonialiasa (PAL; EC. 4.3.1.5); es decir, una lignificación insuficiente del pedúnculo floral puede inducir el doblamiento del cuello (Zieslin *et al.*, 1989).

Los aminoácidos aromáticos son los precursores en la formación de derivados de ácido cinámico (Sívori *et al.*, 1986). La fenilalanina amonialiasa y la tirosina-amonialiasa catalizan la transformación de los respectivos aminoácidos en ácido cinámico y ácido *p*-cumárico; estos sufren una serie de reacciones químicas hasta la formación de los

alcoholes precursores de la lignina. Es importante mencionar que las poliaminas pueden llegar a formar conjugados de aminas aromáticas con diferentes ácidos hidroxicinámicos (hidroxifenilpropénicos), como los ácidos *p*-cumárico, caféico y ferúlico (Jankiewicz, 2003).

La búsqueda de la respuesta a la obstrucción vascular por mecanismos fisiológicos ha llevado a la utilización de compuestos químicos que permitan prolongar la vida de florero de las flores de corte. Williamson *et al.* (2002) encontraron que el proceso de cicatrización está relacionado con la deposición de compuestos lípido-fenólicos; la formación de compuestos fenólicos como suberina, que se forma del ácido trans-cinámico a partir de fenilalanina, reacción que es catalizada por la enzima fenilalanina amonialiasa (PAL).

Otros autores sugieren que la obstrucción vascular involucra procesos oxidativos en los que participan las peroxidasas (EC 1.11.1.7) y las catecol oxidasas (van Doorn y Vaslier, 2002). Las peroxidasas actúan sobre uno o más grupos hidroxilo de los tres monómeros principales que forman la lignina (*r*-coumarol, conifenol y sinapil), incluyendo fenoles extracelulares (Hopkins, 1999). Los alcoholes son oxidados a radicales libres por acción de las peroxidasas y reaccionan espontánea y aleatoriamente para formar la lignina.

van Doorn y Vaslier (2002) afirman que el grupo de las fenoloxidasas incluye a la catecol oxidasa (también conocida como tirosinasa o difenoloxidasa) y lacasa. A la catecol oxidasa se le han identificado dos actividades y se conoce con diferentes números EC. Esta enzima oxida compuestos fenólicos con orto-(1,2) y (3, 4, 5-trihidroxi) y grupos OH vecinos, reacción que se conoce como actividad de orto fenol oxidoreductasa (EC 1.10.3.1). La misma proteína es capaz de convertir monofenoles a *o*-dihidroxifenoles, a través de la reacción conocida como monofenol monooxigenasa (EC 1.14.18.1). La lacasa (*p*-difenol oxidoreductasa, EC 1.10.3.2) oxida *p*-hidroxifenoles, pero también actúa en *o*-dihidroxifenoles; esto la hace diferente de la catecol oxidasa porque no actúa con monofenoles, ya que la catecol oxidasa no reacciona con hidroxifenoles.

Estas enzimas pueden ser inactivadas con algunos compuestos y en consecuencia disminuir la formación de sus productos. Entre los compuestos probados para inhibir la acción de las peroxidasas se encuentran: iones de cobre y 3-amino-1, 2, 4-triazol. También se han encontrado compuestos que inhiben la acción de las peroxidasas

pero estimulan la acción de fenoloxidasas (catecol, hidroquinona y *p*-fenil-diamina), y compuestos que inhiben la acción específica de las fenoloxidasas (catecol oxidasa y lacasa) como el *p*-nitrofenol, *p*-clorofenol, *p*-nitrocatecol y metabisulfito de sodio (Bernards y Lewis, 1997; van Doorn y Vaslier, 2002).

Entre los compuestos químicos que se han probado se encuentran el S-carvone, que es un aceite esencial (Williamson *et al.*, 2002). Se ha utilizado como un inhibidor potencial de la formación de suberinas mediante la inhibición de la enzima PAL involucrada en la oxidación de compuestos fenólicos. S-carvone a 0.005% en solución de florero alarga la vida de florero en *Hakea franciscana*: sin embargo, el S-carvone no ha sido utilizado en solución de pulso. He *et al.* (2006) en *Grevillea* 'Crimson Yul-lo' probaron S-carvone en concentraciones de 0.032, 0.318 y 0.636 mM, y encontraron que prolonga la vida de florero en 5, 30 y 35%, porque evita la pérdida de peso fresco y mejora la absorción.

Otro compuesto que ha mostrado efectividad en incrementar la vida de florero en flores de corte es el 4-hexilresorcinol, un aceite esencial que inhibe la acción de la enzima catecol oxidasa. Este compuesto se ha probado en concentraciones de 2.5, 5.0 y 10 mM, en *Grevillea* 'Crimson Yul-lo'; con 2.5 mM incrementó en 12% la vida de florero mientras que con 5.0 mM la aumentó en 5%, y con 10 mM no mostró efecto en la vida de florero (He *et al.*, 2006).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Material vegetal

Se hicieron dos experimentos con flores de rosa (*Rosa hybrida*, L.) 'Grand Gala', producidas en Villa Guerrero, Estado de México, en las plantaciones comerciales de la empresa Buenavista Floral S. A. de C. V. Las flores fueron cosechadas a las 7:00 h y trasladadas a la sala de proceso de la empresa, donde se empacaron en paquetes de 25 tallos. Posteriormente se colocaron en los contenedores utilizados por la empresa para el manejo en húmedo (wet package), y se almacenaron en cámaras de refrigeración a 3°C aproximadamente 5 h hasta que fueron trasladadas al laboratorio para el inicio del experimento.

Los paquetes de rosas se colocaron en contenedores con agua de llave y se trasladaron en un vehículo con aire acondicionado, desde la empresa hasta el laboratorio de Floricultura de la Universidad Autónoma Chapingo. El tiempo transcurrido entre la cosecha y el establecimiento de los experimentos fue de 8 h.

En el laboratorio, los tallos se mantuvieron empacados en húmedo hasta que se recortaron a 60 cm de longitud con navaja y se removieron las hojas de los 20 cm finales. El corte se hizo bajo agua para evitar la entrada de aire al momento del corte. Entonces los tallos florales se colocaron durante 12 h a 20°C en cubetas blancas limpias (20 L), con una solución de pulso (2 L) como se especifica a continuación:

#### Experimento I

Se utilizaron 175 tallos que se dividieron en 5 lotes de 35 tallos cada uno. Los cinco tratamientos probados fueron las siguientes soluciones de pulso: agua destilada (pH= 7.0), putrescina 25 mg L<sup>-1</sup> (pH= 5.1), 1 mM de ácido amino oxiacético (AOA) (pH=3.6) y 2 mM AOA (pH= 3.5), más un tratamiento testigo donde los tallos se mantuvieron hidratados permanentemente en agua destilada. Las soluciones de pulso se prepararon 24 h antes de ser utilizadas y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta el experimento.

## Experimento II

Se utilizaron 300 tallos divididos en 10 lotes de 30 tallos cada uno. Los cinco tratamientos probados en soluciones de pulso fueron: agua destilada (pH=7.0), S-carvone 0.1% (pH=5.5), hexilresorcinol 5mM (pH=6.3), AOA 1 mM (pH=3.6), más un testigo en el que los tallos se mantuvieron hidratados permanentemente en agua de la llave (tap water) de acuerdo con lo sugerido por Meeteren *et al.* (2000). Las soluciones utilizadas se prepararon 24 h antes de ser utilizadas y se conservaron en frascos de vidrio color ámbar.

Después del tratamiento de pulso los tallos (con excepción del testigo) se colocaron en bolsas negras de plástico selladas con cinta adhesiva; las bolsas se colocaron sobre las mesas de laboratorio y se almacenaron durante 48 h a  $18 \pm 2^\circ\text{C}$ , para simular el periodo de manejo en seco de exportación hacia los EE. UU. En el experimento II, se probó el periodo seco a dos temperaturas: ambiente y refrigeración ( $2^\circ\text{C}$ ).

Al terminar el periodo seco, los tallos se tomaron aleatoriamente en pares y se colocaron dentro de frascos de vidrio que contenían 250 mL de agua. Para el experimento I se empleó agua destilada y para el experimento II se empleó agua de la llave elaborada con:  $\text{NaHCO}_3$  (1.5 mM),  $\text{CaCl}_2$  (0.7 mM) y  $\text{CuSO}_4$  (0.005 mM), de acuerdo con van Meeteren *et al.* (2000).

Los frascos se acomodaron aleatoriamente sobre una mesa de laboratorio con cubierta de melanina de color negro, de 2.5 m de longitud x 1 m de ancho. Los tallos florales se sometieron a periodos de 12 h de luz blanca de  $15 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (lámparas Phillips®). La temperatura promedio fue de  $18 \pm 2^\circ\text{C}$  y la humedad relativa de 71%. Estas condiciones se registraron cada 5 minutos con un sensor Data Logger Hobo®.

### 3.2. Variables

Las variables evaluadas en los tallos florales pueden agruparse de acuerdo con el tipo de prueba de la siguiente forma: físicas, fisiológicas y bioquímicas.

## **Variables físicas**

Vida de florero. Consistió en observar la apariencia de las flores hasta la pérdida de valor estético, es decir, hasta que manifestaron marchitez (pérdida de turgencia y oscurecimiento del borde de los pétalos) o “cabeceo” del botón floral.

Grado de apertura. El desarrollo del botón floral es una variable de apreciación visual; por ello se elaboró una tabla de grados de apertura en la que se identificaron 5 niveles de desarrollo, basada en el diámetro de la flor medido con un vernier y la separación de los sépalos (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Grados de apertura de botones florales de rosa 'Grand Gala'

Estados de apertura	Imagen	Diámetro (cm)	Aspecto
1		3.5-4.0	Los sépalos se encuentran muy próximos a los pétalos, y éstos están unidos entre sí.
2		4.2-6.0	Los sépalos se han separado de los pétalos en aprox un ángulo de 30°. Tres pétalos despegados del botón.
3		6.1-6.7	Los sépalos se encuentran separados de los pétalos en aprox un ángulo de 50°. Los pétalos se han separado entre sí, hay "arrocetamiento" de los pétalos interiores.
4		6.8-7.3	Los sépalos se encuentran separados de los pétalos en aprox un ángulo de 90°. Los pétalos interiores también se han separado y los estambres comienzan a hacerse visibles.
5			Los sépalos se están separados de los pétalos aprox en ángulo de 90°. Todos los pétalos se han separado y los estambres son completamente visibles.

Peso fresco. Se midió diariamente en una balanza electrónica Adam Equipment®, modelo QT 1500 con capacidad para 1500 g y 0.1 g de precisión. Las medidas se registraron individualmente cada 24 horas desde el ingreso de los tallos al laboratorio hasta la senescencia de la flor o doblamiento del cuello. Las pérdidas de peso se cuantificaron en función del peso inicial, con la fórmula siguiente:

$$Pp = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:  $Pi$  = Peso inicial (g) y  $Pf$  = Peso final (g)

Transpiración. Esta variable se consideró como la pérdida de agua del florero que se atribuyó a la absorción diaria de agua por el tallo; ello requirió medir también el área foliar de cada tallo y el peso diario del tallo floral. Los valores obtenidos se reportaron en  $\text{mg H}_2\text{O d}^{-1} \text{mm}^{-2}$ . Para su cálculo se usó la siguiente fórmula:

$$T = \frac{(Ap - Dp) \times 1000}{T \times Af}$$

Donde:  $Ap$  = Pérdida de agua (g);  $Dp$  = Diferencia de peso (g);  $T$  = Tiempo (s) y  $Af$  = Área foliar ( $\text{mm}^2$ ).

### **Variables bioquímicas**

La cuantificación estas variables inició con la elaboración de polvo de acetona a partir del material vegetal. Para elaborar el polvo de acetona se tomaron 10 g de tallo fresco, que se cortaron con tijeras para podar marca Truper® y se colocaron dentro de un minivaso de vidrio para licuadora marca Oster®. Se adicionaron 50 mL de acetona congelada y se licuaron durante 10 s; los tallos licuados se filtraron a un matraz kitasato, el cual se encontraba conectado a una bomba de vacío y a un embudo de porcelana con papel filtro. Una vez filtrado, se retiró el papel filtro con los residuos de tallos y éstos se colocaron nuevamente dentro del vaso de la licuadora, y se repitió el procedimiento 4 veces más. El material vegetal molido se colocó en una caja petri hasta que los residuos de acetona se evaporaron completamente, y posteriormente se envasaron en bolsas de plástico y se almacenaron a 4°C en un refrigerador Daewoo® modelo Hotpoint® hasta el momento de realizar las pruebas bioquímicas.

Actividad de fenilalanina amoniliasa (PAL). La actividad de esta enzima se hizo con el método propuesto por Martínez-Téllez y Lafuente (1997). En frascos de vidrio de fondo plano se depositaron 0.05 g de polvo de acetona, se añadieron 5 mL de buffer de borato sódico más PVP (polivinil pirrolidone) 0.1 M (pH=8) con 20 mM de  $\beta$ -mercaptoetanol (Anexo 1). Se homogenizó en baño de hielo con un homogenizador modelo T25 Basic, marca IKA-LABORTECHNIK®, durante 10 s. Los tubos de vidrio se sellaron con papel Parafilm® y se agitaron durante 20 min en un baño de hielo dentro de un baño María marca Dubnoff® modelo Shaker.

Posteriormente, se filtró la mezcla en manta de cielo y centrifugó durante 20 min a 4°C y 11000 xg en una ultracentrífuga marca DUPONT®, modelo SOVALL RC-5B. El sobrenadante se colocó en un tubo graduado para centrifuga y se le adicionaron 0.46 g de sulfato de amonio por cada mL de sobrenadante obtenido. Nuevamente los tubos se sellaron con Parafilm®, se agitaron vigorosamente en un equipo vórtex (Mod. Cenie Mixer, Scientific Products®). Posteriormente, las muestras se centrifugaron durante 30 min a 11,000 xg a 4°C. El sobrenadante se eliminó y el precipitado se disolvió en 5 mL de amortiguador de acetato de amonio 0.1 M (pH 7.7) que contenía 1% de PVP y 20 mM de  $\beta$ -mercaptoetanol (Anexo 1).

El ensayo de actividad se hizo tomando 2 mL del extracto obtenido al que se agregaron 0.6 mL de solución de L-fenilalanina y 3.4 mL de agua grado HPLC. Los tubos blanco o testigo contenían solo 2 mL de extracto y 4 mL de agua HPLC (sin sustrato).

Todos los tubos se sometieron a un proceso de incubación de 2 h a baño María a 40°C; a los 5 min de incubación se realizó la primera lectura de absorbancia a 290 nm en el espectrofotómetro (Milton Roy®, Mod Spectronic 21D). Una vez registrada la primera lectura de absorbancia, las muestras se devolvieron a sus respectivos tubos hasta completar el periodo de incubación, después de lo cual se leyó la absorbancia final.

Los valores obtenidos se reportaron en unidades internacionales por gramo de peso fresco. La actividad de PAL se calculó con la siguiente ecuación:

$$UI = \frac{(\Delta A / V_e) \times V_t / P_m}{P_f / P_p}$$

Donde:  $\Delta A$  = (Absorbancia final de la muestra – Absorbancia inicial de la muestra) – (Absorbancia final del blanco – Absorbancia inicial del blanco);  $V_e$  = Volumen de extracto (mL);  $V_t$  = Volumen total de la reacción (mL);  $P_m$  = Peso de la muestra de polvo de acetona (g);  $P_f$  = Peso fresco de la muestra (g) y  $P_p$  = Peso polvo de acetona (g).

Actividad de peroxidasas (PPO). Por cada muestra se pesaron 0.2 g de polvo de acetona y se colocaron en tubos de vidrio de fondo plano de 10 mL de capacidad. Se agregaron 5 mL de TRIS-buffer y PVP a 4°C. Los tubos con muestra y con buffer se colocaron en baño de hielo y la mezcla se homogenizó en un homogenizador (T25 Basic, IKA-LABORTECHNIK®) durante 10 s. La muestra homogeneizada se centrifugó durante 20 min a 4°C y 11,000 xg en una centrífuga (DUPONT®, Mod. SOVALL RC-5B®). La muestra homogenizada y centrifugada se colocó en una gradilla metálica hasta que alcanzara la temperatura de 18°C.

Se tomaron 2.6 mL de buffer TRISMA sin PVP a temperatura ambiente en una celda de cuarzo (Anexo 2), y se adicionaron 100  $\mu$ L de una solución de peróxido de hidrógeno a 0.8% v/v, 250  $\mu$ L de guayacol (1.2%) y 50  $\mu$ L de sobrenadante. La celda se tapó y agitó 2 s; posteriormente se leyó en el espectrofotómetro (Milton Roy®, Mod. Spectronic 21D) a 470 nm, tomando lecturas de absorbancia a 30, 60 y 120 s.

Los resultados de la actividad de peroxidasas se reportaron en unidades internacionales por grano de peso fresco y se calcularon con la fórmula:

$$UI = \frac{\frac{\Delta A \times Tr}{C_e} \times 0.003 \times 1000000 \times \frac{V_r}{V_m / P_m}}{\frac{P_f}{P_p}}$$

Donde:  $\Delta A$  =  $\Delta$  Absorbancia = Absorbancia inicial - Absorbancia final;  $Tr$  = Tiempo de reacción;  $C_e$  = Coeficiente de extinción del guayacol (26);  $V_r$  = Volumen de la reacción (mL);  $V_m$  = Volumen de la muestra (mL);  $P_m$  = Peso de la muestra de polvo de acetona (g);  $P_f$  = Peso fresco de la muestra (g) y  $P_p$  = Peso polvo de acetona (g).

Fenoles totales. Se tomaron alícuotas de 50  $\mu\text{L}$  de la acetona empleada para la elaboración del polvo de acetona; éstas se colocaron en tubos de vidrio de fondo plano, se aforaron a 1 mL con agua HPLC, se les adicionó 1 mL de reactivo de Folin-Cicalteu 1 N y 2 mL de una solución de  $\text{NaCO}_2$  (20%); la mezcla se dejó reposar durante 2 h y se leyó en un espectrofotómetro (Milton Roy®, modelo Spectronic 21D) a 720 nm. Los resultados se reportan en microgramos de fenoles por gramo de peso fresco ( $\mu\text{g g}^{-1}$  PF).

$$F_t = \frac{[(A + a)/b \times V_e] V_m}{P_f}$$

Donde:  $A$  = absorbancia,  $V_t$  = Volumen total de extracto (mL);  $V_m$  = Volumen de muestra (mL);  $P_f$  = Peso fresco de muestra (mg);  $a = 0.156$  y  $b = 0.0048$ .

Los valores  $a$  y  $b$  se obtuvieron de la ecuación de la recta de la curva patrón de ácido tánico (ver Anexo 3).

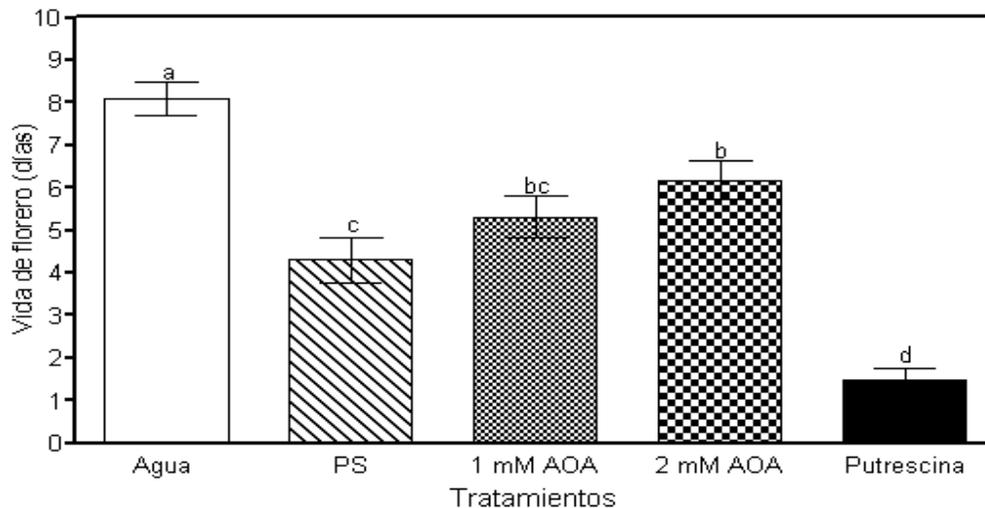
## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### EXPERIMENTO I

#### 4.1. Vida de florero

La vida de florero es una de las cualidades más buscadas y apreciadas por el consumidor de flores de corte. En la Figura 2 se muestra que el periodo de manejo en seco afectó de manera importante la vida de florero de las rosas 'Grand Gala', ya que los tallos que siempre se mantuvieron en agua duraron 8.1 d en florero, mientras que en los tallos con periodo seco y tratados sólo con agua, la vida de florero se acortó a 4.3 d.

van Doorn y Otma (1995) sometieron a diferentes periodos de almacenamiento en seco (5 min , 3 h y 24 h) a tallos de rosa 'Sonia' y 'Cara mia', e hicieron cortes anatómicos de tallo a diferentes alturas; así mostraron que el manejo en seco disminuye la capacidad de absorción de agua del tallo, debido a la pérdida de capacidad de conducción de las estructuras del xilema. Similarmente, Meeteren *et al.* (2006) mostraron que periodos de manejo en seco mayores a 2 h generan una obstrucción vascular en los tallos, obstrucción que no sólo fue por la presencia de aire (embolismo) sino también por un efecto inducido por la planta, que puede ser mitigado por un inhibidor enzimático.



**Figura 2.** Vida de florero de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente 20°C. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n=23 ± EE.

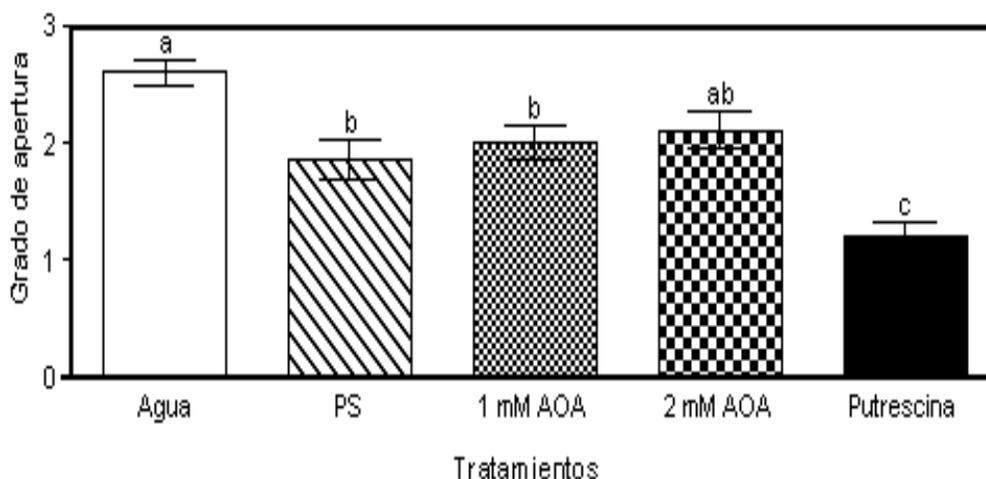
Los tallos que se trataron con AOA (1 mM y 2mM) y sometidos a periodo seco, tuvieron una vida de florero superior en 1 y 2 d con respecto a tallos colocados en agua con periodo seco. El AOA es un inhibidor de la formación de etileno, de ácido cinámico, etc., debido a su efecto sobre diversas enzimas (ACC-sintasa, transaminasa, aminotransferasas, etc.) lo que pudo haber contribuido a evitar la formación de compuestos fenólicos en el haz vascular de los tallos tratados. Sin embargo, su efecto no es claro pues se ha aplicado para inhibir la producción de etileno en varias especies florales.

Ketsa y Narkbua (2001) encontraron que AOA en combinación con sacarosa, prolonga la vida de florero de algunas variedades de rosa (*Rosa hybrida*, L.), más que cuando sólo se aplica sacarosa. Los cultivares tratados fueron 'Sissel Krykjebo', 'White Christmas', 'Super Star' y 'Swett Surrender', en los que el tratamiento de 2mM de AOA + 5% de sacarosa incrementó la vida de florero de los tallos hasta en 100%. También Rattanawisalanon *et al.* (2003) incrementaron la vida de florero en 60% al aplicar 0.5 mM AOA+4% de glucosa en *Dendrobium*.

Los tallos tratados con putrescina no tuvieron una respuesta favorable en vida de florero. La putrescina es una poliamina que puede formar complejos químicos con proteínas, ácidos nucleicos y ácidos (p.e., *p*-cumárico, caféico y ferúlico), los cuales pueden obstruir el flujo de agua; además, las poliaminas son componentes naturales de las paredes celulares que se unen fácilmente con ácidos poligalacturónicos, y el producto de esta unión también podría taponar los conductos del xilema. Esto explicaría la corta vida de florero (1.5 d) de los tallos tratados con putrescina (Jankiewics, 2003).

#### **4.2. Apertura del botón floral**

La apertura del botón floral es una característica muy apreciada en las flores de corte. El cultivar 'Grand Gala' es considerado de apertura completa (Cuadro 6), pero en este estudio se muestra que el estrés hídrico causado por el periodo de manejo en seco afectó la apertura de sus botones florales (Figura 3).



**Figura 3.** Apertura floral de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente 20°C. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco.  $n = 20 \pm EE$ .

Los mejores niveles de apertura se observaron en tallos que se mantuvieron en agua destilada sin periodo seco con 2.6 grados, en tallos tratados con AOA (1 y 2 mM) con 2.0 y 2.1 grados respectivamente, que fueron estadísticamente iguales entre sí ( $p \leq 0.05$ ). Los tallos colocados en agua destilada con periodo seco tuvieron una apertura de 1.8 grados, mientras que los tratados con putrescina de 1.2 grados. Es decir, el periodo seco redujo significativamente la capacidad de rehidratación de las flores de corte, posiblemente por la deshidratación de las paredes celulares al ser expuestas al aire, de modo que el agua no puede volver a circular a través de la lúmina de los conductos; esta deshidratación se traduce en menor vida de florero y marchitamiento prematuro (van Doorn y Otma, 1995; van Doorn y Cruz, 2000).

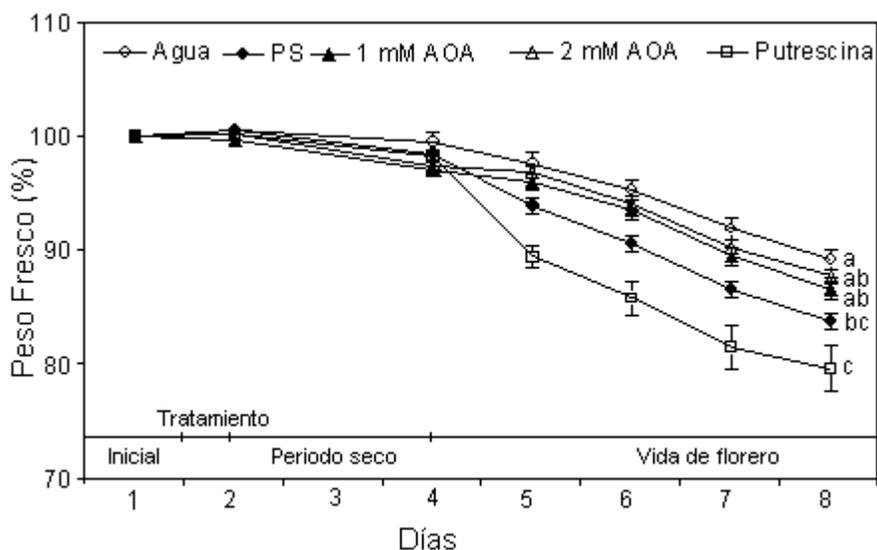
Un balance hídrico positivo (absorción > transpiración) es un requisito indispensable para lograr la apertura floral, debido a que la plasticidad de la pared celular requiere de la degradación de pectinas y almidón por la acción de enzimas como pectinasas, xiloglucan endotransglicosilasas, endo-1-4- $\beta$ -D-glucanasas y expansinas, junto con la disponibilidad de agua (Gookin *et al.*, 2003). Estos resultados evidencian que la disponibilidad de agua fue un factor determinante en el grado de apertura de los botones florales de rosa.

### 4.3. Peso fresco

El peso fresco es una variable que refleja la calidad del tallo floral, ya que entre menor pérdida de peso manifieste tendrá mejor apariencia (mayor turgencia de pétalos y follaje); una mejor hidratación también eleva la apertura floral y alarga la vida de florero.

Aunque al término del periodo seco los tallos se colocaron nuevamente en agua destilada, hubo pérdida de peso fresco continua en todos los tratamientos, pérdida que fue más rápida en los tallos tratados con putrescina, seguido de los tallos tratados con agua y periodo seco.

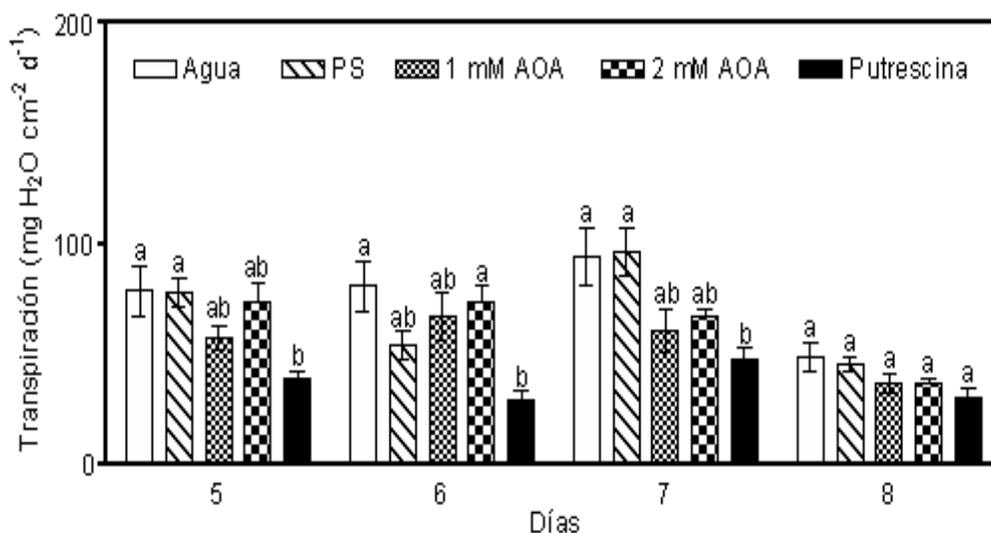
Los tallos mantenidos siempre en agua y los tratados con AOA (1 y 2 mM), fueron los que tuvieron menores pérdidas de peso fresco. El efecto del AOA pudo deberse a la inhibición enzimática y disminución de la producción de compuestos que obstruirían el flujo de agua a través de los vasos del xilema, así como a la hidratación de éstos dado que el pH de la solución de AOA fue de entre 3.5-3.6, lo que pudo modificar la permeabilidad de las membranas celulares (Mayak *et al.*, 1985).



**Figura 4.** Peso fresco (%) de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente 20°C. Letras diferentes en el mismo tratamiento indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n= 10 ± EE.

#### 4.4. Transpiración

La transpiración de los tallos se evaluó de los días 5 al 8 en florero (Figura 5) y reveló que los tallos tratados con putrescina transpiraron menos que el resto de los tratamientos, lo que se atribuye a que los tallos manifestaron doblamiento del cuello inmediatamente después del periodo seco, lo que pudo haber provocado cierre de estomas y con ello menor capacidad de absorción del agua (ver Figuras 2, 3 y 4). En *Vicia faba* se ha encontrado que compuestos como espermina, espermidina, cadaverina y putrescina inhiben la apertura de estomas, debido a que estas poliaminas son el blanco interior de los canales de potasio en las células oclusivas que regulan los movimientos de los estomas, lo que crea un vínculo entre el estrés abiótico y la regulación estomatal (Walters, 2003). Los tratamientos de AOA mantuvieron una transpiración ligeramente menor que los tratamientos en agua con y sin periodo seco, diferencias que no fueron estadísticamente significativas. Estos resultados indican que la transpiración acumulada debió ser mayor en el tratamiento sin periodo seco, lo que permite inferir que los compuestos químicos utilizados en el experimento y el estrés hídrico tienen algún efecto sobre el funcionamiento de los estomas.

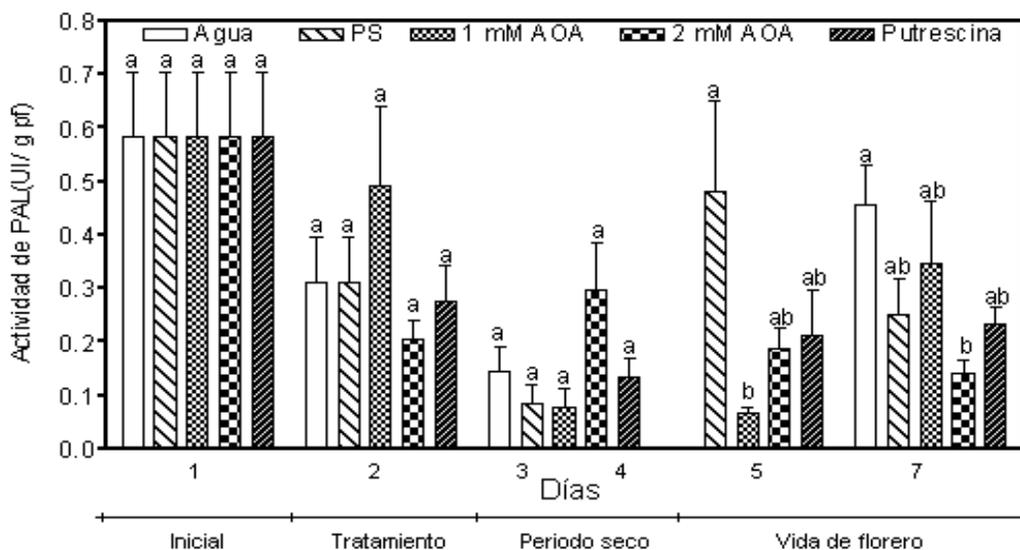


**Figura 5.** Transpiración ( $\text{mg H}_2\text{O cm}^{-2} \text{d}^{-1}$ ) de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente  $20^\circ\text{C}$ . Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco.  $n=10 \pm \text{EE}$ .

#### 4.5. Actividad de fenilalanina amonialiasa (PAL)

La enzima PAL es la enzima clave en el metabolismo secundario de compuestos fenólicos tales como los fenilpropanoides, ligninas, flavonoides, furanocumarinas, isoflavonoides y fitoalexinas, además de que cataliza la desaminación no oxidativa de L-fenilalanina a formas de ácido cinámico e iones amonio libres. Algunos investigadores (van Doorn y Vaslier, 2002; van Doorn y Cruz, 2000) afirman que la pérdida de la capacidad de rehidratación de los tallos de flores de corte se debe a reacciones de tipo oxidativo que involucran a esta enzima y a los productos de su metabolismo.

En este experimento se observó que la mayor actividad de esta enzima se presentó al inicio del experimento y que luego se redujo en todos los tratamientos hasta llegar a su mínima expresión (aproximadamente 25% de la actividad inicial) durante el periodo seco (Figura 6), para luego empezar a recuperarse gradualmente en los siguientes días ya en florero, recuperación que representó aproximadamente 50% de la actividad inicial.



**Figura 6.** Actividad de fenilalanina amonialiasa (PAL, UI g<sup>-1</sup>pf) de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente. Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n= 5 ± EE.

Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre tratamientos. Esto indica que AOA no tuvo efecto sobre la actividad de PAL. No se encontraron referencias que establecieran una relación entre ellos, sino sólo el efecto del AOA sobre la formación de ácido cinámico, que es posterior a la formación de fenilalanina.

Diversos investigadores han mostrando que el aire es un prerequisite para la oclusión de tallos en flores cortadas, y que después de un tiempo de mantenerlos sin agua se forman compuestos bloquean el flujo de agua en el xilema, como suberina cuya síntesis inicia con la formación del ácido transcinámico a partir de fenilalanina, reacción que es catalizada por la PAL (Williamson *et al.*, 2002). Sin embargo, no se han encontrado reportes de la actividad de esta enzima en tales condiciones, por la dificultad para evaluarla y por su inestabilidad. Si bien el presente estudio parece ser el primero de este tipo, es probable que el método empleado para la extracción, purificación de la enzima y cuantificación de la actividad enzimática no haya sido exacto; además, existen isoformas de esta enzima que poseen comportamientos diversos. Por ejemplo, Hwan *et al.* (1996) reportaron que se pueden extraer unidades de PAL de diferente masa molecular en diversas especies vegetales que van de los 300 a 340 kDa. En *Streptomyces* y fresas estas enzimas registran pesos de 226 kDa, y en *Alternaria* de 556 kDa. Tales diferencias en peso molecular y en isoformas pueden influir en los resultados de las pruebas de extracción y actividad. Un efecto que hace más delicada la extracción y estabilidad de la PAL y de otras enzimas relacionadas con la ruta de los fenilpropanoides, es que pueden llegar a formar parte de los sistemas lipo-proteicos de las membranas celulares (Rhodes *et al.*, 1976).

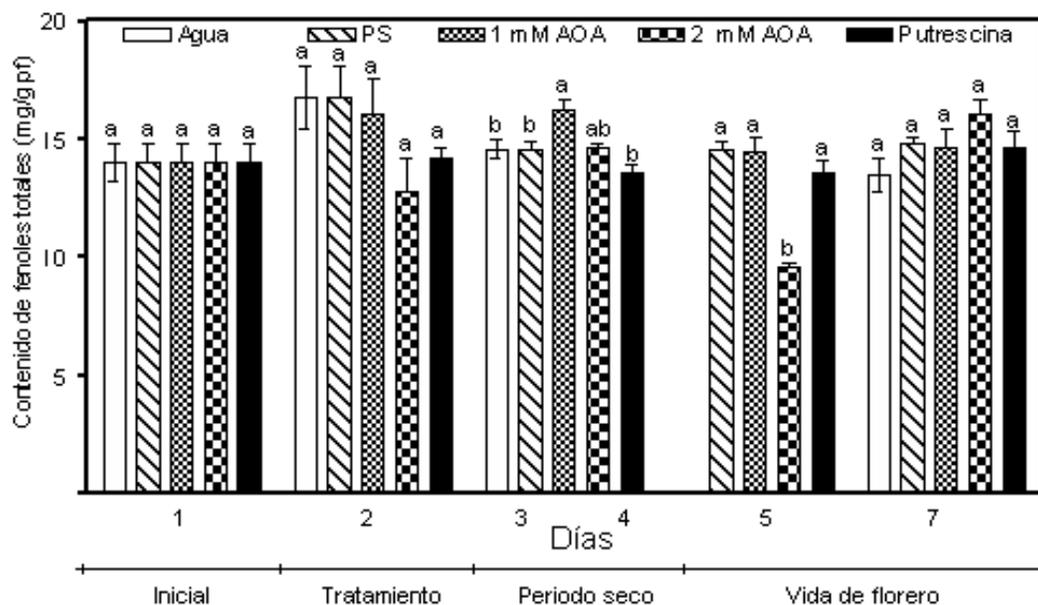
#### **4.6. Fenoles totales**

El contenido de fenoles totales está relacionado con la actividad de la enzima PAL, ya que teóricamente a mayor actividad enzimática habrá mayor cantidad de compuestos fenólicos .totales.

En la presente investigación se evaluó el contenido de fenoles totales en los diferentes tratamientos, como se muestra en la Figura 7. El mayor contenido de fenoles totales se presentó al aplicar el tratamiento de agua y AOA. Después del periodo seco, el

mayor contenido de fenoles totales se encontró en los tallos tratados con AOA. Durante la vida de florero, el contenido de estos metabolitos se mantuvo relativamente constante. El análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre tratamientos ni entre fechas de evaluación ( $p < 0.05$ ).

De acuerdo con estos resultados no se detectó una respuesta clara acerca del papel que desempeñan los compuestos fenólicos en la obstrucción vascular. Sin embargo, es importante destacar que se evaluó el contenido total de fenoles y no suberina, que aunque su composición involucra fenoles, hay otros compuestos de composición similar que forman parte de la estructura de los haces vasculares (Kolattukudy, 1981).



**Figura 7.** Contenido de fenoles totales ( $\text{mg g}^{-1}\text{pf}$ ) de la parte basal (4 cm) de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente. Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco.  $n=5$  tallos  $\pm$  EE.

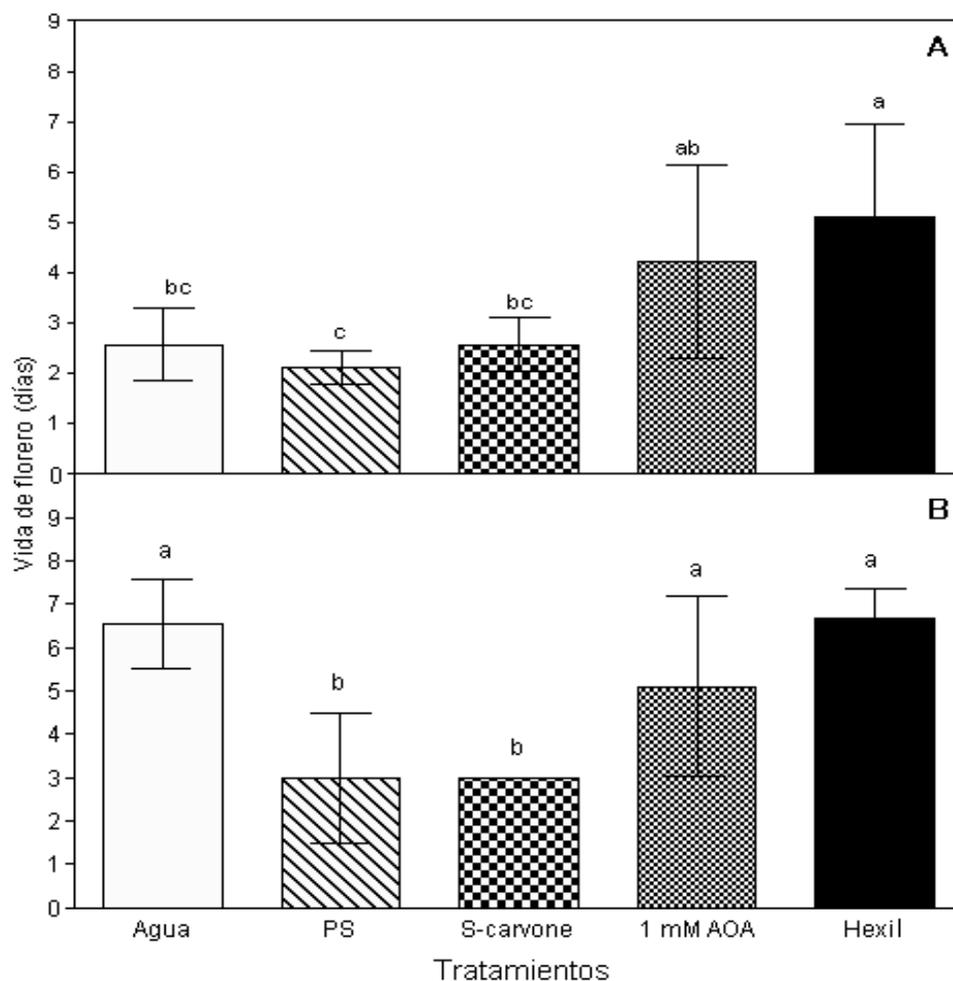
## EXPERIMENTO II

### 4.7. Vida de florero

Durante la vida de florero de la rosa, la aparición de doblamiento de cuello (bent neck) o el marchitamiento de las hojas y pétalos, son considerados indicativos del término de la vida de florero (Ketsa y Narkbua, 2001). En algunas otras especies se considera la abscisión de flores o inflorescencias (Rattanawisalanon *et al.*, 2003).

La Figura 12 muestra la vida de florero de los tallos en dos temperaturas: ambiente (A) y refrigeración (B) ambas durante el periodo seco.

Los tallos colocados en agua y luego sometidos a periodo seco redujeron su vida de florero a solamente 2.1 y 3.0 d para temperatura ambiente y refrigeración respectivamente, mientras que los tallos que se mantuvieron siempre en agua duraron 2.5 y 6.5 d respectivamente. Ello se atribuye a que cuando las flores se exponen a periodos sin agua, se reduce la hidratación de las paredes celulares de los haces vasculares, la capacidad de flujo de agua en éstas y la capacidad de humedecer la pared del lumen, lo que impide la entrada de agua. Por ello la aplicación de surfactantes al agua de florero restablece la entrada de agua al lumen, mejoran la hidratación y prolongan la vida de florero (van Doorn y Otma, 1995).



**Figura 8.** Vida de florero de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente 20°C (A) y temperatura de refrigeración (2°C) (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco.  $n=9 \pm EE$ .

Los tallos tratados con S-carvone no fueron significativamente diferentes de los tallos tratados con agua + periodo seco (2.5 y 3 d), a pesar de que este compuesto es un inhibidor eficiente de la biosíntesis de suberina al retrasar la actividad de PAL (Oosterhaven *et al.*, 1995). Estos resultados tampoco concuerdan con los de Williamson *et al.* (2002), en tallos de *Hakea franciscana* encontraron que el tratamiento con S-carvone (0.05%) aplicado antes de un periodo seco de 12 h a 5°C, incrementó en 40% la vida de florero.

A temperatura ambiente, la vida de florero de los tallos tratados con 1 mM AOA (4.2 y 5.1 d) y con 4-hexilresorcinol (5.1 y 6.6 d), fue significativamente mayor que los tallos que se mantuvieron en agua con periodo seco, con un incremento de 40 y 50% para AOA y 4-hexilresorcinol respectivamente. El tratamiento con AOA ha mostrado buenos resultados en la vida de florero, en tallos de clavel donde con  $4 \text{ mol m}^{-3}$  de AOA aplicados durante 10 h, con un periodo seco de 12 h, se logró una mejora en la capacidad de hidratación de los tallos y un incremento en su resistencia al estrés hídrico (Mayak *et al.*, 1985).

El 4-hexilresorcinol se ha demostrado su acción antibactericida y su eficacia en la inhibición de enzimas como la catecol oxidasa, que oxida los compuestos fenólicos con orto-(1,2) y grupos OH vecinos (3,4,5-trihidroxi), por lo que se le conoce como *o*-difenol oxidasa (*o*-difenol oxidoreductasa), además de ser capaz de convertir monofenoles a *o*-dihidroxi fenoles, por lo que también se le conoce como monofenol monoxigenasa (van Doorn y Vaslier, 2002). Los productos metabólicos de esta enzima podrían obstaculizar los haces vasculares y por tanto obstruir el flujo de agua y nutrientes al tallo floral (He *et al.*, 2006).

En tallos de crisantemo (*Dendrathera grandiflora*) y *Bouvardia sp* tratados con 4-hexilresorcinol 10 mM por 5 h también se logró retrasar el marchitamiento y mantener la conductividad hídrica (Vaslier y van Doorn, 2003), por lo que se ha sugerido que puede actuar como surfactante. Sin embargo, al comparar su efecto con el del surfactante Agral-LN, en ambos tratamientos los mencionados autores observaron que la tensión superficial disminuyó, pero que el tratamiento con 4-hexilresorcinol tuvo mayor efecto en la vida de florero, lo que muestra un efecto secundario como inhibidor enzimático.

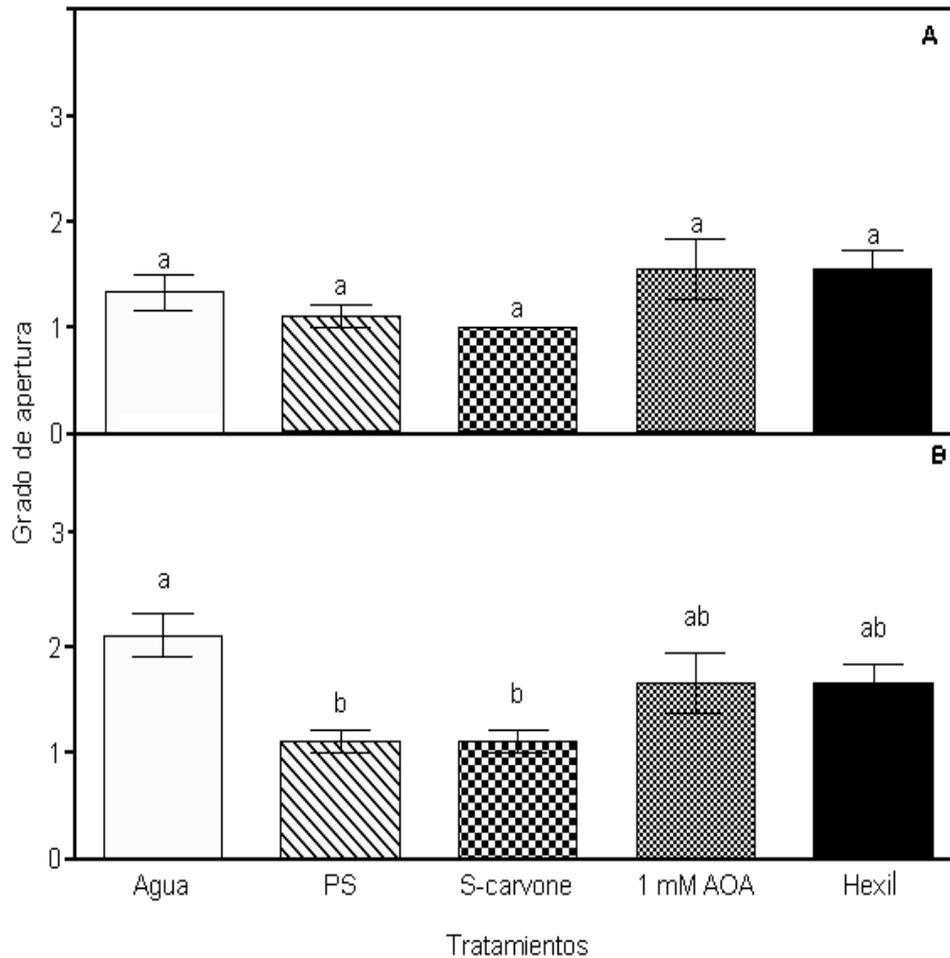
El efecto del almacenamiento a baja temperatura fue notable, ya que en los tallos de rosa en constante hidratación la vida de florero se incrementó hasta en 250 %. En el resto de los tratamientos también mejoró la vida de florero, aunque en menor proporción (entre 11 y 50%). Ello demuestra que el periodo seco disminuye la vida de florero y que las bajas temperaturas ayudan a evitar el deterioro de las flores de corte al reducir la actividad metabólica. Debido a que la temperatura es uno de los factores principales de deterioro de las flores de corte, el mantenimiento de la cadena de frío (2-5°C) en estos

productos es fundamental para reducir su intensidad respiratoria y el agotamiento de carbohidratos disponibles en el tallo floral.

El pH ácido de las soluciones también contribuye a prolongar la vida de florero de las especies florales, al inhibir el desarrollo bacteriano y mejorar el flujo de agua, lo que favorece la hidratación (Ketsa y Narkbua, 2001; Harlevy y Mayak, 1981). Sin embargo, en este trabajo el pH no pareció jugar un papel determinante en los resultados obtenidos, puesto que las soluciones con menor pH no mostraron los mejores resultados en vida de florero (S-carvone pH=5.52; agua destilada pH=6.1; AOA pH=2.02 y 4-hexilresorcinol pH=6.34). Es decir, que en este estudio la vida de dependió más de los compuestos que se aplicaron a la solución como indicaron Ketsa y Narkbua (2001), más que al pH de la solución.

#### **4.8. Apertura del botón floral**

En este experimento se pudo apreciar que el empleo de bajas temperaturas durante el periodo seco no favoreció la apertura del botón floral de rosa 'Grand Gala' como se muestra en la Figura 9. En cuanto al efecto de las soluciones de pulso, se observó que el tratamiento con S-carvone redujo la absorción de agua por los tallos (Figura 10) y por ello retrasó la apertura floral. Esto se atribuye a que la expansión celular requiere incrementar volumen y pared celular, por tanto requiere aumentar la superficie de área celular y la entrada de agua para elevar la presión de turgencia. Al respecto, cuando la presión de turgencia se reduce, se reduce también la velocidad de expansión celular (Hopkins, 1999). La reducción de la presión de turgencia conduce a abatir el potencial hídrico de las células por la pérdida pasiva de agua (Mayak *et al.*, 1985). De hecho, todos los tallos tratados con S-carvone se mantuvieron en el mismo estado de apertura hasta el final de la vida de florero, lo que estuvo asociado con la constante pérdida de peso (Figura 10) y la baja transpiración (Figura 11). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre tratamientos de pulso, en tallos sometidos a temperatura ambiente.



**Figura 9.** Apertura floral de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco.  $n = 9 \pm EE$ .

Las bajas temperaturas permitieron mejorar la vida postcosecha de las flores de corte, debido a que los tallos almacenados en frío reducen considerablemente la actividad metabólica (transpiración, respiración y consumo de carbohidratos) (Ho y Nichols, 1977).

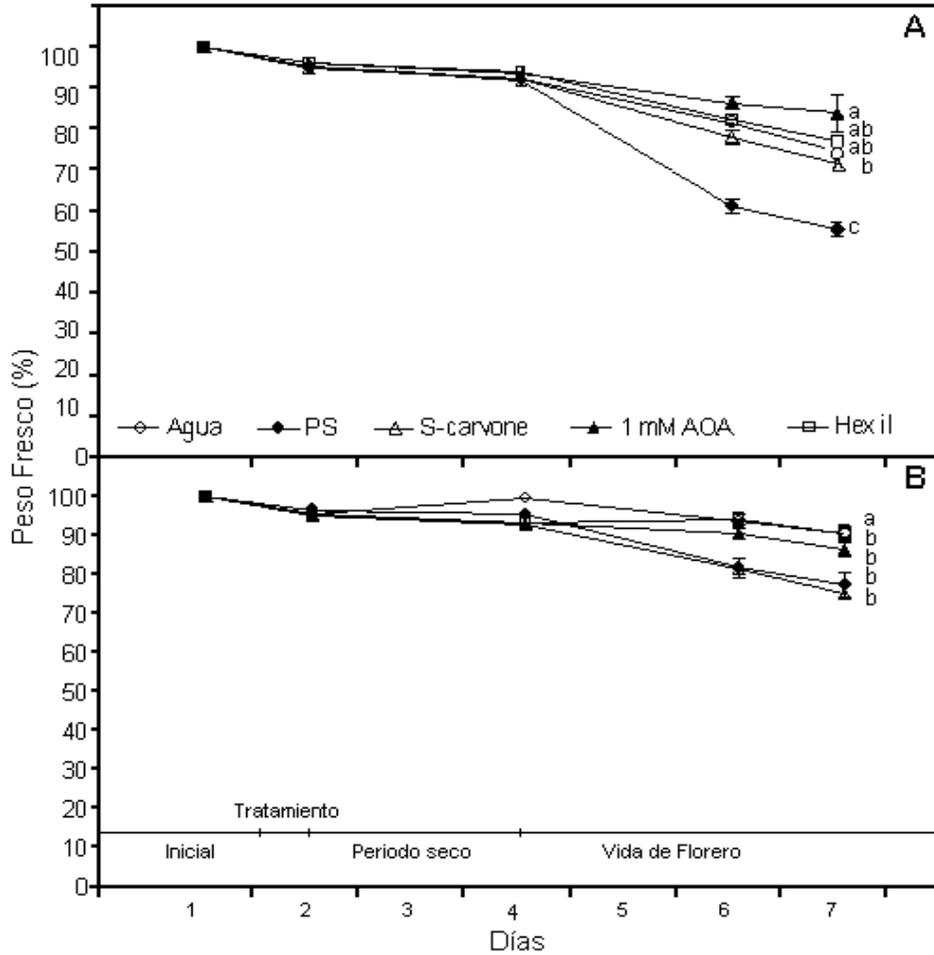
#### 4.9. Peso fresco

A temperatura ambiente los tallos tratados con AOA manifestaron la menor pérdida de peso (11-20%), seguidos de los tratados con hexilresorcinol (20-28%), de agua sin periodo seco (16-33%) y tratados con S-carvone (15-32%); la mayor pérdida ocurrió en el tratamiento de agua con periodo seco (33-50%) (Figura 10 A). La pérdida de calidad en apariencia del botón floral coincidió con pérdidas de peso que oscilaban entre 11 y 50%.

Mayak *et al.* (1985) reportaron un incremento en la absorción de agua en claveles (*Dianthus caryophyllus* L.) 'White Slim' tratados con AOA ( $4 \text{ mol m}^{-3}$ ) por 10 h y seguidos de 12 h de periodo seco. Estos autores consideran que este compuesto reduce la pérdida de agua en el tallo floral al disminuir la permeabilidad de las membranas celulares mediante la modificación de la proporción fosfolípidos:esteroles. Además, los autores agregan que el estrés hídrico disminuye la concentración de fosfolípidos en las membranas, mientras que el AOA aumenta los niveles de fosfolípidos y mantiene constantes los de esteroles.

En condiciones de refrigeración, los tallos que se mantuvieron en agua incrementaron su peso entre 5 y 10%, comportamiento que podría atribuirse a que la baja temperatura favorece la hidratación. Después del periodo seco (cuando los tallos se colocaron a temperatura ambiente), sólo los tallos tratados con 4-hexilresorcinol incrementaron su peso, su mientras que el resto de los tratamientos siguió con la tendencia a la baja (Figura 10B). Es decir, que la pérdida de peso en tallos refrigerados durante el periodo seco, fue considerablemente menor que en tallos mantenidos a temperatura ambiente.

Al final de la evaluación (7 d), se pudo apreciar claramente el efecto de la temperatura, ya que los tallos tratados con agua y periodo seco la diferencia en pérdida de peso entre ambas temperatura fue mayor a 20%, y en el resto de tratamientos fue de 10%. Estas diferencias son muy importantes puesto que pérdidas de peso de 5% en flores de corte representan pérdida de calidad. Lo anterior destaca la importancia de mantener las ornamentales a bajas temperaturas el mayor tiempo posible, ya que atrasa el deterioro de la calidad (Reid, 2002).



**Figura 10.** Peso fresco (%) de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración (2°C) (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco.  $n=9 \pm EE$ .

Al comparar los tallos tratados con S-carvone con los tallos colocados en agua+periodo seco se encontraron diferencias significativas a temperatura ambiente, mientras que a temperatura de refrigeración no las hubo. Este resultado es contrario a lo encontrado por He *et al.* (2006) quienes probaron diferentes concentraciones de S-carvone (0.032, 0.318 y 0.636 mM) en *Grevillea* ‘Crimson Yul-lo’, y encontraron que los tallos así tratados perdieron menos peso fresco y mejoraron la absorción de solución, lo que atribuyeron a la inhibición de PAL. En ese mismo trabajo los autores evaluaron la

aplicación de 4-hexilresorcinol (2.5, 5.0 y 10 mM), compuesto que redujo la obstrucción vascular acción que atribuyeron principalmente a la inhibición de la catecol oxidasa.

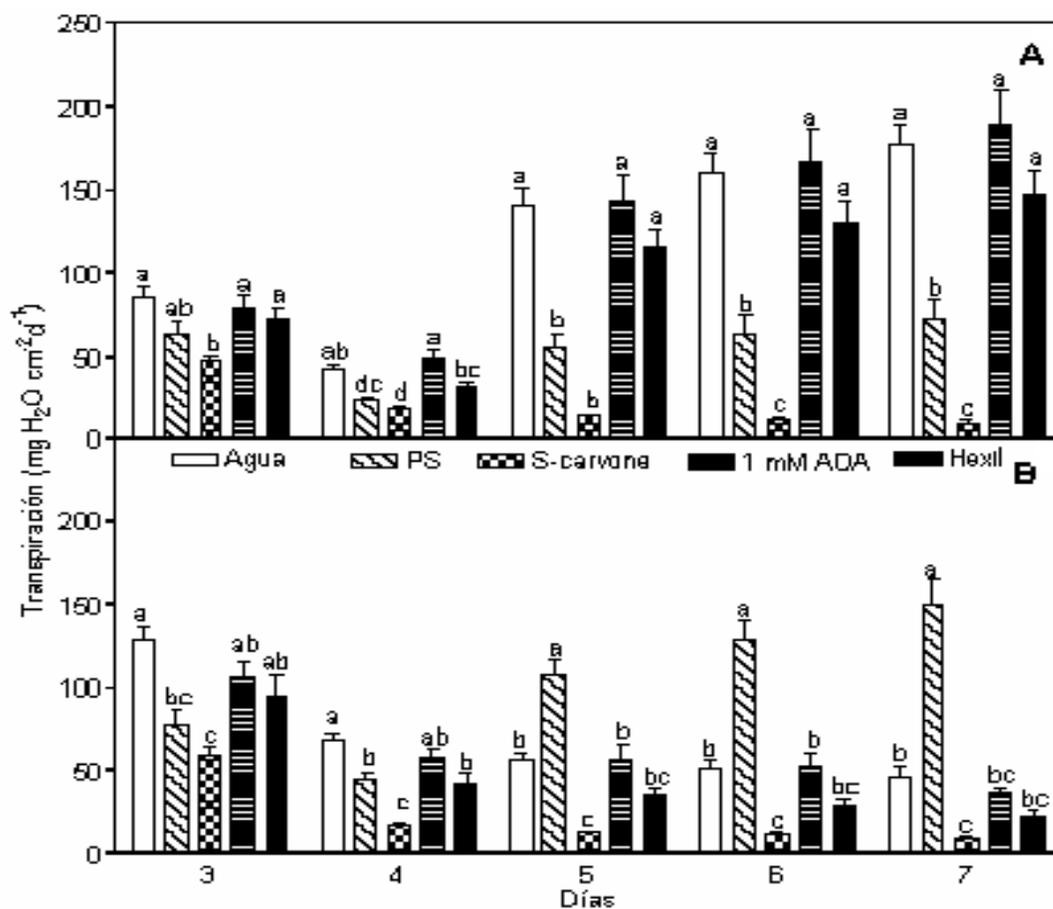
#### **4.10. Transpiración**

La transpiración es la pérdida de agua de la planta en forma de vapor a través de lenticelas y estomas (Hopkins, 1999). En el caso de los tallos de rosa, la principal vía de pérdida de vapor de agua es a través de las hojas, ya que los pétalos carecen de estomas (van Doorn, 1997). En la Figura 11 se muestran las pérdidas de agua por transpiración que tuvieron los tallos florales durante la vida de florero.

En este estudio la transpiración de los tallos decreció hasta el día 4, sobretodo en los tratados con S-carvone donde la transpiración se mantuvo muy reducida durante todo el periodo de evaluación. En el resto de los tratamientos la transpiración se recuperó a partir del día 5. Este comportamiento se observó tanto en temperatura ambiente como en refrigeración.

En el florero a temperatura ambiente, después del periodo seco, los tallos tratados con AOA junto con los tratados con agua sin periodo seco y 4-hexilresorcinol, mostraron mayor transpiración. Esto permite inferir que tales compuestos no indujeron el cierre de estomas. Sin embargo, no existen evidencias directas que corroboren el cierre estomático.

En los tallos mantenidos a baja temperatura durante el periodo seco (Figura 11B), la tasa de transpiración fue menor que la tasa de transpiración que la de los tallos mantenidos a temperatura ambiente. También en frío los tallos colocados en agua+periodo seco tuvieron pérdidas considerables de agua, probablemente por la pérdida de capacidad en la absorción de agua, lo que les impidió mantener el balance hídrico y provocó el marchitamiento acelerado con 3 d de vida de florero (Figura 8).

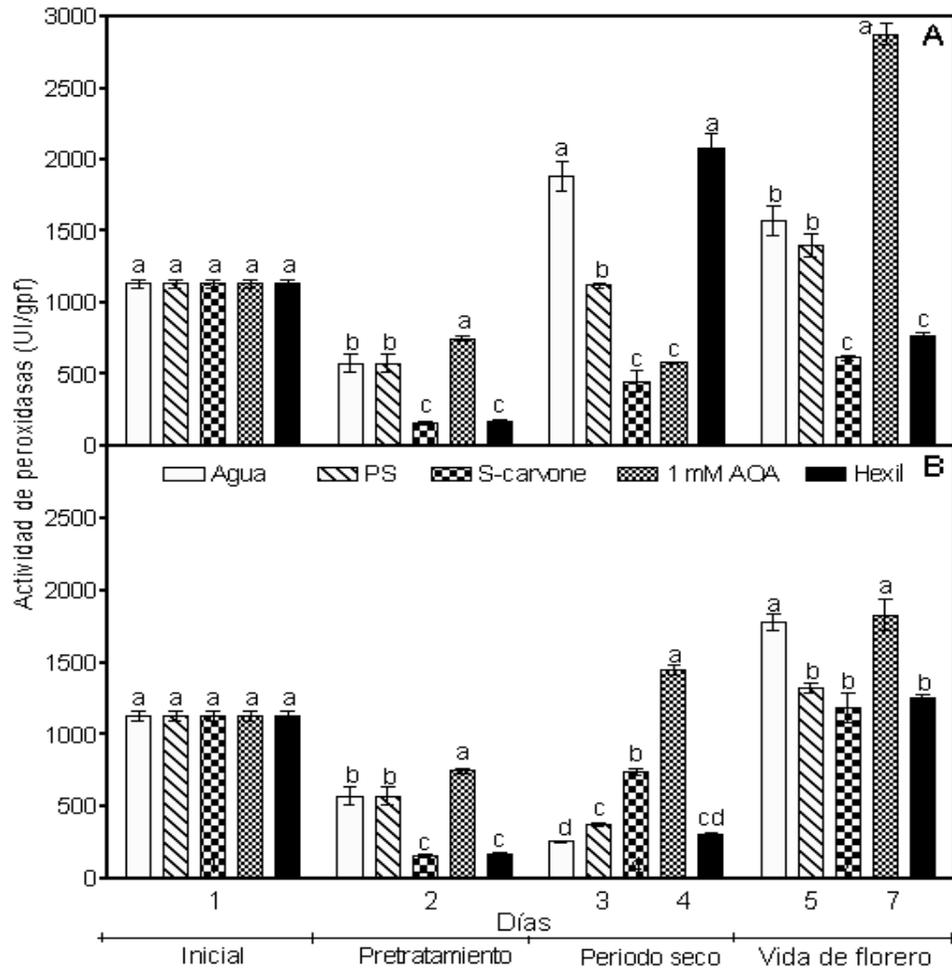


**Figura 11.** Transpiración ( $\text{mg H}_2\text{O d}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ) de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración ( $2^\circ\text{C}$ ) (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco.  $n=10 \pm \text{EE}$ .

#### 4.11. Actividad de peroxidasas (PO)

La actividad de peroxidasas es importante porque son enzimas que se encuentran en la pared celular involucradas en el metabolismo de compuestos fenólicos. Actúan en uno o más grupos hidroxilo e incluyen fenoles extracelulares, la polimerización de monolignoles para la formación de lignina, la cual se ha relacionado con la obstrucción vascular (Vaslier y van Doorn, 2003; van Doorn y Cruz, 2000). También actúan en la oxidación y catálisis de numerosos fenoles y compuestos aromáticos (Frylinck *et al.*,

1987). Pero no se han publicado hasta el momento, estudios que evalúen dicha actividad en este fenómeno.



**Figura 12.** Actividad de peroxidasa (UI g<sup>-1</sup>pf) de tallos de rosa ‘Grand Gala’ sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración (2°C) (B). Letras diferentes en la misma temperatura indican diferencias significativas (Tukey 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco. n=5 ± EE.

En este estudio se encontró que, en general, que el tratamiento disminuyó la actividad de peroxidasa, aunque después presentó una recuperación significativa principalmente en los tallos mantenidos a temperatura ambiente (Figura 12 A). La mayor actividad de peroxidasa en el post-tratamiento se detectó en los tallos mantenidos en

agua y con 4-hexilresorcinol; luego, a los 7 d la actividad de esta enzima se incrementó drásticamente en los tallos tratados con AOA, y los de menor actividad fueron los tallos tratados con S-carvone y 4-hexilresorcinol.

Nótese que los tallos tratados con S-carvone y con 4-hexilresorcinol fueron los que mantuvieron la actividad enzimática más baja en el periodo seco, pero que en ambos tratamientos recuperaron mejor la actividad de peroxidasa. Durante el periodo seco y al final del estudio, el tratamiento que dio mayor actividad fue el de AOA, seguido de los de 4-hexilresorcinol y agua.

Estos resultados mostraron que S-carvone inhibe la actividad de peroxidasas, y con un efecto prolongado. Sin embargo, la corta vida de florero mostrada en este tratamiento (Figura 7) hace pensar que su uso pudiera resultar conveniente solamente a una concentración menor a la utilizada en este experimento (0.1%) que no acortara la vida de florero.

Algunos investigadores han probado este compuesto a 0.005% en solución de florero y obtenido mayor vida de florero en *Hakea franciscana* (Williamson *et al.*, 2002) y a concentraciones de 0.036, 0.318 y 0.636 mM en *Grevillea 'Crimson Yul-lo'* (He *et al.*, 2006). Estos mismos autores, mediante análisis de cortes anatómicos de segmentos terminales del tallo por microscopía electrónica de transmisión (MET) demostraron que el S-carvone inhibió la rápida cicatrización del tejido, la cual se manifiesta como una modificación de las punteaduras del xilema. Si bien, este compuesto dio un efecto inhibitorio sobre la actividad de peroxidasas, quizás la dosis utilizada afectó otros aspectos del metabolismo que contribuyeron a reducir la vida de florero de los tallos de rosa 'Grand Gala'.

El hexilresorcinol se ha identificado como un inhibidor específico de la catecol oxidasa en flores de crisantemo (*Dendrathera grandiflora*) por ejemplo, van Doorn y Vaslier (2002) lo probaron en soluciones de pulso en concentraciones de 2 y 10 mM durante 5 h a 20°C, seguido de un periodo seco de 24 h a 5°C; encontraron que retrasa el marchitamiento del follaje entre 4 y 12 veces, respectivamente. Además, los autores apreciaron que este compuesto disminuye la tensión superficial e inhibe peroxidasas y catecol oxidadas, pero no a lacasa. Es importante mencionar que en el citado experimento

no se hicieron pruebas de actividad enzimática ni de productos metabólicos, sino que se evaluó el efecto del compuesto en el marchitamiento del follaje y en la pérdida de agua de segmentos del tallo.

En el presente estudio destaca el hecho de que los tallos tratados con 4-hexilresorcinol y los colocados en agua y periodo seco sólo mostraron diferencias significativas en la actividad de PO hasta después del tratamiento y al final del periodo de evaluación ( $p < 0.001$ ). El mismo comportamiento se observó con AOA. Estos resultados muestran que la obstrucción vascular no puede ser atribuida completamente a la actividad de peroxidasas, dado que su actividad fue mayor en los tallos tratados con AOA, 4-hexilresorcinol y los mantenidos en agua. Entonces, sería conveniente en el futuro evaluar la actividad de otras enzimas, tales como polifenol oxidasa y otras que puedan intervenir en la producción de compuestos derivados del metabolismo secundario y que puedan obstruir los haces vasculares e impedir la circulación del agua.

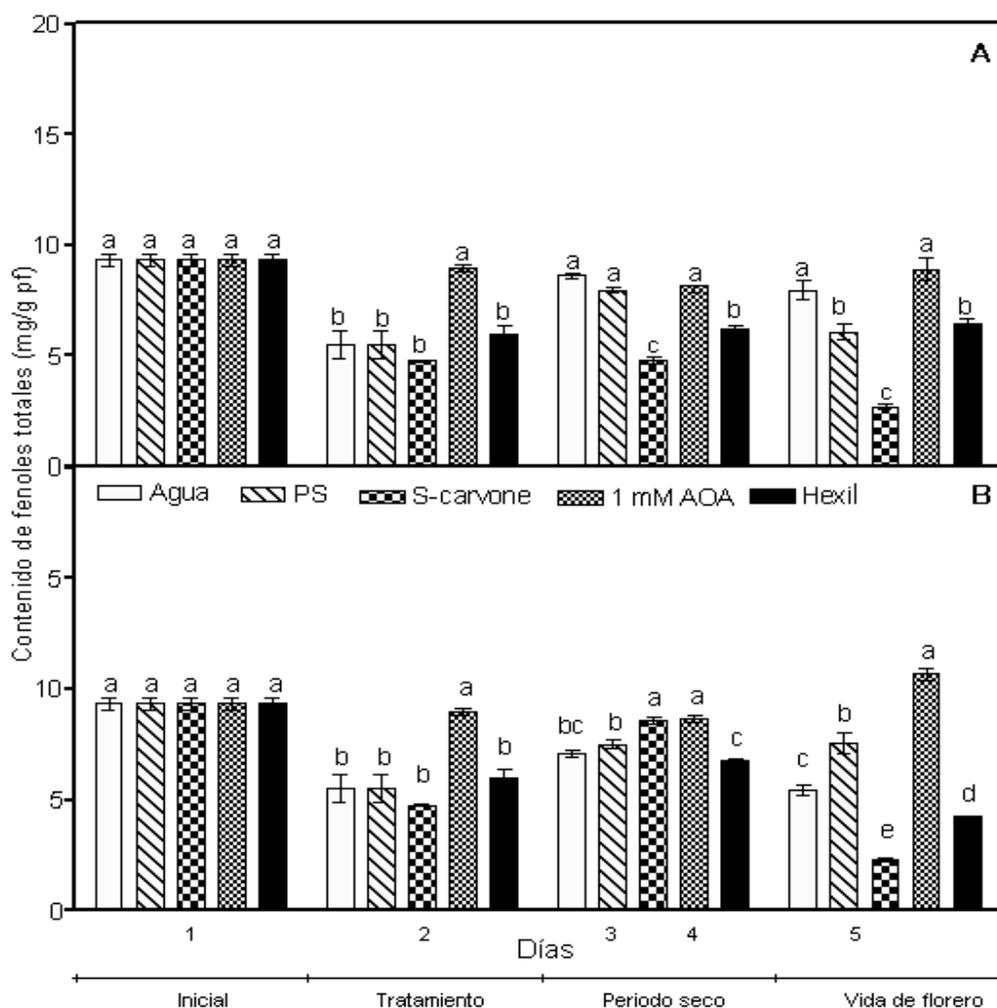
También, es recomendable completar estos estudios con análisis a nivel anatómico, pues se ha observado que los compuestos producidos en respuesta al daño (principalmente suberina) se depositan en los espacios intercelulares de las células parenquimatosas del xilema, adyacentes a los vasos del xilema dañado, y luego se mueven dentro de las punteaduras que conectan los vasos del xilema y se dispersan hasta las paredes secundarias de éstos. También se ha propuesto que debido a su composición, la membrana de las punteaduras puede modificar su estructura dando lugar a la secreción de compuestos. La tinción del material depositado indicaría la presencia de compuestos fenólicos, como suberina (Gold y Robb, 1995; Schmit *et al.*, 1997).

#### **4.12. Fenoles totales**

El término de fenoles totales agrupa a un conjunto de diversos metabolitos que tienen en común un anillo aromático. Sus funciones biológicas son diversos (soporte, protección contra patógenos, depredadores y daño mecánico) y pueden diferenciarse por la ruta metabólica de la que proceden (Levy y Peña, 1999).

En la Figura 13 se muestra que a partir del la toma inicial, es decir a la llegada de los tallos florales al laboratorio, el contenido de compuestos fenólicos se redujo, en una

magnitud dependiente del tratamiento que se aplicó. Así, a temperatura ambiente, los tallos tratados con AOA fueron los que mantuvieron con menor cambio la concentración inicial, mientras que en los tallos tratados con S-carvone la concentración se redujo más que en cualquier otro tratamiento; este resultado no corresponde tampoco con la menor vida de florero (Figura 8) y con las pérdidas de peso fresco (Figura 10).



**Figura 13.** Contenido de fenoles totales ( $\text{mg g}^{-1}\text{pf}$ ) de la parte basal (4 cm) de tallos de rosa 'Grand Gala' sometidos a diferentes soluciones de pulso (12 h) y periodo seco (48 h) a temperatura ambiente (A) y temperatura de refrigeración ( $2^{\circ}\text{C}$ ) (B). Letras diferentes en el mismo periodo de evaluación indican diferencias significativas (Tukey, 0.05). PS representa al tratamiento de agua destilada con periodo seco.  $n = 5$  tallos  $\pm$  EE.

En los tallos que fueron refrigerados, hubo menor reducción del contenido de fenoles totales (Figura 13) que en temperatura ambiente.

Al final de la evaluación en tallos ambiente, los tallos tratados con AOA fueron los que mantuvieron el mayor contenido de fenoles, al igual que los tallos tratados con agua + periodo seco y mantenidos en agua, los tratamientos que tuvieron menor contenido de fenoles fueron 4-hexilresorcinol y S-carvone.

Dado que los mejores tratamientos en vida de florero y apertura floral fueron los tallos tratados con AOA y 4-hexilresorcinol (Figuras 8 y 9) es evidente que no existe relación, ya que el primero mantuvo e incluso incrementó el contenido de fenoles totales, y el segundo los redujo pero no tanto como S-carvone. Tal vez esto se deba a que el contenido de fenoles totales no es una variable adecuada para determinar la obstrucción vascular.

La respuesta de S-carvone demuestra su acción inhibitoria a nivel de PAL, y la consecuente reducción de compuestos fenólicos acumulados (Williamson *et al.*, 2002).

Se recomienda realizar estudios a nivel anatómico para conocer el efecto de los compuestos fenólicos en la acumulación (principalmente suberina), y estudios para la evaluación de otras enzimas relacionadas en la producción de dichos compuestos.

## VI. CONCLUSIONES

El período seco (48 h) a  $18 \pm 2$  °C en tallos de rosa 'Grand Gala' reduce significativamente (hasta 50%) la vida de florero y por ello abate el potencial comercial de los tallos. Los tratamientos aplicados con 4-hexilresorcinol (5mM) y AOA (1 mM y 2 mM) durante 12 h permitieron mantener las características de calidad de los tallos, al conservar e incluso aumentar la vida de florero y en comparación con los tallos de rosa mantenidos constantemente en agua.

El uso de baja temperatura durante el período seco incrementó más de 60% la vida de florero de los tallos de rosa 'Grand Gala' mantenidos en agua constantemente. La baja temperatura también incrementó un día en promedio la vida de florero de los tallos del resto de los tratamientos. En estas condiciones, se observó la menor actividad de enzimas peroxidasas y de acumulación de compuestos fenólicos en los tallos mantenidos durante el período seco.

A pesar de que se han reportado los beneficios del uso de S-carvone en reducir la obstrucción vascular e incrementar la vida de florero en diversas especies florales, en el presente experimento tal compuesto sí inhibió la actividad de peroxidasas e incluso la acumulación de fenoles totales, pero no mostró resultados positivos en la vida de florero de los tallos de rosa 'Grand Gala', debido quizás a la concentración utilizada (0.1%) superior a la reportada en otros estudios.

Las diferencias en la transpiración de los tallos de rosa estuvieron poco asociadas con la vida de florero y la apertura del botón floral, en particular a temperatura de refrigeración.

## VII. LITERATURA CITADA

- ASERCA, 2006. La floricultura mexicana, el gigante que esta despertando. Revista Claridades Agropecuarias 6:3-38.
- Bernards, M. A. and N. G. Lewis. 1998. The macromolecular aromatic domain in suberized tissue: a changing paradigm. *Phytochemistry* 47:915-933.
- Cid, C. 1992. La absorción de agua en la postcosecha de flor cortada. Revista Hortofruticultura 10:88-92.
- Come D. 1991. Biological bases of the use of cold in ornamental horticulture. *Acta Horticulturae* 298:21-28.
- Corbineau, F. 1992. The Cooling of flowers and plants. *International Floriculture Papers and Statistics*. pp 15-28.
- Cottle W. and P. E. Kolattukudy. 1982. Abscisic acid stimulation of suberization. *Plant Physiology* 70:775-780.
- Faragher, J. D. and S. Mayak. 1984. Physiological responses of cut rose flowers to exposure to low temperature: changes in membrane permeability and ethylene production. *Journal of Experimental Botany* 156:965-974.
- Frylinck L., I. A. Dubery and J. C. Schabort. 1987. Biochemical changes involved in stress response and ripening behaviour of  $\gamma$ -irradiated mango fruit. *Phytochemistry* 26:681-686.
- García M., M. 2004. Descripción del proceso de empaque y postcosecha de la rosa (*Rosa* sp.) como flor de corte. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. 80 pp.
- Gold, J. and Robb, J. 1995. The role of the coating response in *Craigella* tomatoes infected with *Verticillium dahliae*, races 1 and 2. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 47:141-157.
- Gookin, T., D. A. Hunter and M. S. Reid. 2003. Temporal analysis of alpha and beta-expansin expression during floral opening and senescence. *Plant Science* 164:769-781.
- Haard N. F., and M. Cody. 1978. Response of edible plant tissues to stress conditions. 2<sup>o</sup> Edition. Ed. Food and Nutrition, Press INC. New York, USA.
- Halevy A. H. and S. Mayak. 1981. Senescence and postharvest physiology of cut flowers. *Horticulturae Review* 3:59-143.

- He, S., D. C. Joyce, D. E. Irving and J. D. Faragher. 2006. Stem end blockage in cut *Grevillea* 'Crimson Yul-lo' inflorescences. *Postharvest Biology and Technology* 41:78-84.
- Ho L. C. and R. Nichols. 1977. Traslocation of  $^{14}\text{C}$ -sucrose in relation to changes in carbohydrate content in rose corollas cut at different stages of development. *Annual Botany*. 41: 227-242.
- Hofman, I. N. 1992. The importance of preshipment treatment. *International Floriculture Papers and Statistics* pp 15-28.
- Hopkins, W. G. 1999. *Introduction to plant physiology*. 2° Edition. John Wiley and Sons, Inc. New York, EUA. 512 pp.
- Hwan K., S., J. W. Kronstad and B. E. Ellis. 1996. Purification and characterization of phenylalanine ammonia-lyase from *Ustilago maydis*. *Phytochemistry* 43:351-357.
- INEGI. 1999. Anuario Estadístico. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. pp. 447
- Jankiewicz, L. S. 2003. Reguladores del crecimiento, desarrollo y resistencia en plantas. *Propiedades y acción*. Mundi prensa. México, D. F. pp. 295-316.
- Jacques M., J., A. Fleuriet and J. Billot. 1990. *Fruit phenolics*. Ed. CRC. Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA. 378 pp.
- Ketsa, S. and N. Narkbua. 2001. Effect of aminooxyacetic acid and sucrose on vase life of cut roses. *Acta Horticulturae* 543:227-234.
- Kolattukudy, P. E. 1981. Structure, biosynthesis y biodegradation of cutin and suberin. *Annual Review Plant Physiology* 32:539-567.
- Kuklinski, C. 2000. *Farmacognosia*. Ed. Omega. Barcelona, España. Pp. 97-167.
- Levy T., S y C. Peña V. 1999. Metabolitos secundarios y alelopatía. *Acta Científica Potosina* 14: 36-65.
- Lukaszewka A. J., G. R. Dreise, F. J. Pérez-Zuñiga and N. Gorinl. 1989. Effect of cold storage on changes in the contents of total and individual free amino acids in corollas from cut 'Sonia' roses. *Journal American Society Horticultural Science* 114:293-297.
- Martínez-Tellez, M. A. and M.T. Lafuente. 1997. Effect of high temperatura conditioning of ethylene, phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of chilled 'Fortune' mandarine fruit. *Journal Plant Physiology* 150:674-678.

- Mayak, S., A. Borochoy and T. Tirosh. 1985. Transient Water Stress in Carnation Flowers: effect of amino-oxiacetic acid. *Journal of Experimental Botany*. 166:800-806.
- Mensink, G. J. and W. G. van Doorn. 2001. Small hydrostatic pressures overcome the occlusion by air emboli in cut rose stems. *Journal Plant Physiology* 158:1495-1498.
- Nell, T. A. and M. S., Reid. 2000. Flower and plant Care. Society of American Florist. United States of America. pp. 14-45.
- Nowak, J. y R. M. Rudnicki, 1990. Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens and potted plants. Ed. Timber Press. Portland, Oregon. USA. pp. 29-52.
- Oosterhaven, K., K. J. Hartmans, J. J. C. Scheffer and L. H. W. van der Plas. 1995. S-carvone inhibits phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity and subertization during wound hearing of potato tubers. *Journal Plant Physiology* 146:288-294.
- Rattanawisalanon, C., S. Ketsa and W. G. van Doorn. 2003. Effect of aminooxyacetic acid and sugars on the vase life of *Dendrobium* flowers. *Postharvest Biology and Technology* 29:93-100.
- Reid, M. S. 2002. Postharvest handling system: ornamental Crops. In. Postharvest technology of horticultural crops. Ed. University of California Agriculture and Natural Resources Publication 3311. U.S.A. 535 pp.
- Rhodes, M., J., C., A. C. R. Hill and L. S. C. Wooltoton. 1976. Activity of enzymes involved in lignin biosynthesis in sewed root disks. *Phytochemistry*. 15:707-710.
- Salisbury, J. y C. W. Ross. 1992. Fisiología vegetal. 4ª edición. Ed. Iberoamericana. México, Distrito Federal, México. 759 p.
- Serrano, M., G. Martínez, M. T. Pretil, F. Riquelme and F. Romojaro. 1992. Cold storage of rose flowers (*Rosa hydrida*, M. cultivar 'Visa'): physiological alterations. *Scientia Horticulturae* 51:129-137.
- Schmit, U., Richter, H.G. and Mucbe, C. 1997. TEM study of wound-induced vessel occlusions in European ash (*Fraxinus excelsior* L.) *IAWA Journal* 18:403-411.
- van Doorn, W. G. 1990. Aspiration of air at the cut surface of rose stems and its effect on the uptake of water. *Journal Plant Physiology* 137:160-164.
- van Doorn W. and E. J. Woltering. 1991. Developments in the use of growth regulators for the maintenance of post-harvest quality in cut flowers and potted plants. *Acta Horticulturae* 298:195-209.

- van Doorn, W. 1993. Vascular occlusion in stems of cut rose. Ph. D. Thesis, Agricultural University. Wageningen, The Netherlands.
- van Doorn, and E. Otma. 1995. Vascular occlusion in cut flowering rose stems exposed to air: role of water entry into the lumina of the xylem conduits opened by cutting. *Journal Plant Physiology* 145:78-82.
- van Doorn, W and M. Reid. 1995. Vascular occlusion in stems of cut rose flowers exposed to air: role of xylem anatomy and rates of transpiration. *Physiology Plantarum* 93:624-629.
- van Doorn, W. G. 1997. Water relations of cut flowers. *Horticultural Review* 18:1-85.
- van Doorn, W. and P. Cruz. 2000. Evidence for a Holding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers. *Postharvest Biology and Technology* 19:73-83.
- van Doorn W. and N. Vaslier. 2002. Wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers: roles of peroxidase and catechol oxidase. *Postharvest Biology and Technology* 26:275-284.
- van Meeteren, U. 1989. Water relations and early leaf wilting of cut chrysanthemums. *Acta Horticulturae* 261:129-135.
- van Meeteren, U. 1992. Role of air embolism and low water temperature in water balance of cut chrysanthemum flowers. *Scientia Horticulturae* 51:275-284.
- van Meeteren and van Gelden. 1999. Effect of time since harvest and handling conditions on rehydration ability of cut chrysanthemum flowers. *Postharvest Biology and Technology* 16:169-177.
- van Ieperen, U. van Meeteren and H. van Gelder. 2000. Fluid ionic composition influences hydraulic conductance of xylem conduits. *Journal of Experimental Botany* 51:769-776.
- van Meeteren, U., H. van Gelder, and W. van Ieperen. 2000. Reconsideration of the use of deionized water as vase water in postharvest experiments on cut flowers. *Postharvest Biology and Technology* 18:169-181.
- van Ieperen, W, U. van Meeteren and J., Nijssen. 2002. Embolism repair in cut flower stem: a physical approach. *Postharvest Biology and Technology* 25:1-14.
- van Meeteren, U., H. van Gelder and W., van Ieperen. 2005. Effect of growth conditions on postharvest rehydration ability of cut chrysanthemum flowers. *Acta Horticulturae* 669:287-295.

- van Meeteren, U., L. Arévalo-Galarza and W. van Doorn. 2006. Inhibition of water uptake after dry storage of cut flowers: Role of aspired air and wound-induced processes in Chrysanthemum. *Postharvest Biology and Technology* 41:70-77.
- Vaslier, N. and W. G. van Doorn. 2003. Xylem occlusion in bouvardia flowers: evidence for a role of peroxidase and catechol oxidase. *Postharvest Biology and Technology* 28:231-237.
- Walters, D. R. 2003. Review: Poliamines and plant disease. *Phytochemistry* 64:93-107.
- Williamson, V. G., J. Farager, S. Parsons and P. Franz. 2002. Inhibiting the postharvest wounding response in wildflowers. Rural Industries Research and Development Corporation. 70 pp.
- Witte, Y. and W. G. van Doorn. 1991. The mode of action of bacteria in the vascular occlusion of cut rose flowers. *Acta Horticulturae* 298:165:170.
- Zieslin N., F. Starkman and E. Zamski. 1989. Bending of rose peduncles and the activity of phenilalanine ammonia lyase in the peduncle tissue. *Plant Physiology Biochemistry* 27:431-436.

## ANEXO 1

### PREPARACION DE LAS SOLUCIONES REGULADORAS PARA EL ANÁLISIS ENZIMÁTICO DE FENILALANINA AMONIALIASA

**Buffer de borato sódico:** se pesaron 6.8 g de ácido bórico y 0.3 g de NaOH, cada uno se colocó en un matraz aforado, se añadió agua desionizada para disolver y se aforaron a 1 L. se midió el pH de la solución de ácido bórico y se ajustó el pH a 8.8 con la solución de NaOH. La solución se dividió en 2 y a una parte se le agregó 1% de polivinil pirrolidone (PVP). Ambas soluciones se envasaron en frascos color ámbar y se almacenaron a 4 °C.

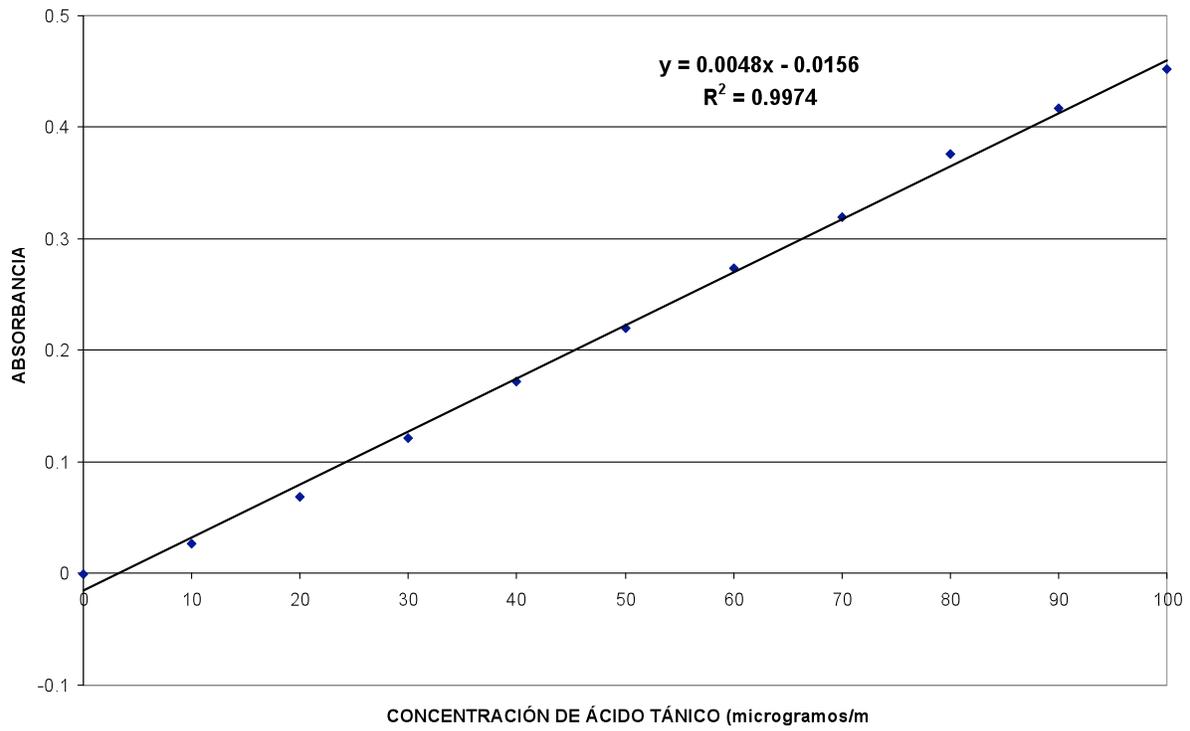
**Buffer de acetato de amonio:** se pesaron 7 g de acetato de amonio, se disolvieron en 1 L de agua desionizada, se midió el pH y se ajustó a 7.7 con  $\text{NH}_3$ . La solución se dividió en 2 y a una parte se le agregó 1% de polivinil pirrolidone (PVP). Ambas soluciones se envasaron en frascos color ámbar y se almacenaron a 4 °C.

**ANEXO 2**  
**PREPARACION DE LAS SOLUCIONES REGULADORAS PARA EL ANÁLISIS**  
**ENZIMÁTICO DE PEROXIDASAS**

**Buffer de TRIZMA:** Se preparó con 6.057g de reactivo TRIZA a los que se adicionaron 500 mL de agua destilada, esta solución se aforó a 500 mL. Por otro lado, se preparó una segunda solución con 4.14 mL de ácido clorhídrico en 450 mL de agua destilada, ésta se aforó a 500 mL. En un vaso de precipitados se mezclaron los 500 mL de solución de TRIZA y se le adicionó la solución de ácido hasta llegar a un pH de 5.1; una parte de esta solución reguladora fue adicionada con 1% polivinil pirrolidone (PVP).

**ANEXO 3**  
**CURVA PATRÓN PARA EL CÁLCULO DE FENOLES TOTALES**

**CURVA PATRÓN DE ÁCIDO TÁNICO**



## ANEXO 4

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO EXPERIMENTO I

Dependent Variable: **VIDA FLORERO**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	548.834783	137.208696	31.14	<.0001
Error	110	484.608696	4.405534		
Corrected Total	114	1033.443478			

Dependent Variable: **APERTURA**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	20.40000000	5.10000000	12.63	<.0001
Error	95	38.35000000	0.40368421		
Corrected Total	99	58.75000000			

Dependent Variable: **PESO FINAL**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	6590.56753	732.28528	15.35	<.0001
Error	82	3912.51581	47.71361		
Corrected Total	91	10503.08335			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION 1**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	7704.51560	1926.12890	3.16	0.0239
Error	40	24372.01393	609.30035		
Corrected Total	44	32076.52953			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION 2**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	10997.54400	2749.38600	3.45	0.0163
Error	40	31843.55288	796.08882		
Corrected Total	44	42841.09688			

Dependent Variable: **TRANSPIRACIÓN 3**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	14483.67926	3620.91981	4.11	0.0070
Error	40	35242.95640	881.07391		
Corrected Total	44	49726.63566			

Dependent Variable: **TRANSPIRACIÓN 4**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1727.668761	431.917190	2.41	0.0648
Error	40	7160.501657	179.012541		
Corrected Total	44	8888.170418			

Dependent Variable: **PAL INICIAL**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Error	15	0.88283456	0.05885564		
Corrected Total	19	0.88283456			

Dependent Variable: **PAL PRETRAT**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.17953948	0.04488487	1.30	0.3157
Error	15	0.51931114	0.03462074		
Corrected Total	19	0.69885061			

Dependent Variable: **PAL PERIODO SECO**

Sum of

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.12745006	0.03186252	3.00	0.0526
Error	15	0.15917162	0.01061144		
Corrected Total	19	0.28662169			

Dependent Variable: **PAL MITAD VF**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.36290681	0.12096894	3.26	0.0593
Error	12	0.44485288	0.03707107		
Corrected Total	15	0.80775970			

Dependent Variable: **PAL FINAL**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.23348858	0.05837215	2.82	0.0631
Error	15	0.31087761	0.02072517		
Corrected Total	19	0.54436619			

Dependent Variable: **FENOLES INICIALES**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Error	15	39.49485649	2.63299043		
Corrected Total	19	39.49485649			

Dependent Variable: **FENOLES PRETRAT**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	50.4251936	12.6062984	2.04	0.1403
Error	15	92.7289677	6.1819312		
Corrected Total	19	143.1541613			

Dependent Variable: **FENOLES PERIODO SECO**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	14.91838075	3.72959519	7.04	0.0021
Error	15	7.95073249	0.53004883		
Corrected Total	19	22.86911324			

Dependent Variable: **FENOLES MITAD VF**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	66.00243369	22.00081123	29.88	<.0001
Error	12	8.83707120	0.73642260		
Corrected Total	15	74.83950489			

Dependent Variable: **FENOLES FINALES**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	12.81383400	3.20345850	2.01	0.1441
Error	15	23.86427342	1.59095156		
Corrected Total	19	36.67810742			

## ANEXO 5

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO EXPERIMENTO II

Dependent Variable: **VIDA DE FLORERO (INTERACCIÓN TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	232.4000000	25.8222222	16.03	<.0001
Error	80	128.8888889	1.6111111		
Corrected Total	89	361.2888889			

Dependent Variable: **VIDA FLORERO (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	59.8666667	14.9666667	9.39	<.0001
Error	40	63.7777778	1.5944444		
Corrected Total	44	123.6444444			

Dependent Variable: **VIDA DE FLORERO (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	118.0888889	29.5222222	18.14	<.0001
Error	40	65.1111111	1.6277778		
Corrected Total	44	183.2000000			

Dependent Variable: **APERTURA (INTERACCIÓN TEMPERATURA\*TRATAMIENTO)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	9.9555556	1.10617284	3.69	0.0007
Error	80	24.0000000	0.3000000		
Corrected Total	89	33.9555556			

Dependent Variable: **APERTURA (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	2.3111111	0.5777778	2.04	0.1072
Error	40	11.3333333	0.2833333		
Corrected Total	44	13.6444444			

Dependent Variable: **APERTURA (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	6.5333333	1.6333333	5.16	0.0019
Error	40	12.6666667	0.3166667		
Corrected Total	44	19.2000000			

Dependent Variable: **PESO FINAL (TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	6590.56753	732.28528	15.35	<.0001
Error	82	3912.51581	47.71361		
Corrected Total	91	10503.08335			

Dependent Variable: **PESO FINAL (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	3994.947524	998.736881	17.73	<.0001
Error	40	2253.610667	56.340267		
Corrected Total	44	6248.558191			

Dependent Variable: **PESO FINAL (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1643.040215	410.760054	10.40	<.0001
Error	42	1658.905147	39.497742		
Corrected Total	46	3301.945362			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 5 (INTERACCIÓN TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F

Model	9	51034.0564	5670.4507	9.23	<.0001
Error	90	55285.8835	614.2876		
Corrected Total	99	106319.9399			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 5 (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	9037.54802	2259.38701	5.59	0.0010
Error	45	18179.51345	403.98919		
Corrected Total	49	27217.06147			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 5 (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	28250.93910	7062.73478	8.57	<.0001
Error	45	37106.37003	824.58600		
Corrected Total	49	65357.30913			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 6 (INTERACCIÓN TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	25592.34294	2843.59366	18.06	<.0001
Error	90	14173.35205	157.48169		
Corrected Total	99	39765.69499			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 6 (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	6614.29358	1653.57339	15.55	<.0001
Error	45	4785.89854	106.35330		
Corrected Total	49	11400.19212			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 6 (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	15082.72920	3770.68230	18.08	<.0001
Error	45	9387.45351	208.61008		
Corrected Total	49	24470.18271			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 7 (INTERACCIÓN TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	218044.7294	24227.1922	31.04	<.0001
Error	90	70249.9318	780.5548		
Corrected Total	99	288294.6611			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 7 (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	129078.4640	32269.6160	28.13	<.0001
Error	45	51619.3298	1147.0962		
Corrected Total	49	180697.7938			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 7 (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	49415.63618	12353.90905	29.84	<.0001
Error	45	18630.60198	414.01338		
Corrected Total	49	68046.23816			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 8 (INTERACCIÓN TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	326122.2895	36235.8099	35.11	<.0001
Error	90	92874.7989	1031.9422		
Corrected Total	99	418997.0884			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 8 (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	177778.1645	44444.5411	27.84	<.0001
Error	45	71826.4123	1596.1425		
Corrected Total	49	249604.5768			

Dependent Variable: **TRANSPIRACION DÍA 8 (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	80619.7359	20154.9340	43.09	<.0001

Error	45	21048.3866	467.7419
Corrected Total	49	101668.1225	

Dependent Variable: **PEROXIDASAS INICIALES (INTERACCIÓN TEMPERATURA\*TRATAMIENTO)**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	0.0000	0.0000	0.00	1.0000
Error	40	225164.9209	5629.1230		
Corrected Total	49	225164.9209			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS INICIALES (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.0000	0.0000	0.00	1.0000
Error	20	112582.4605	5629.1230		
Corrected Total	24	112582.4605			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS INICIALES (TEMPERATURA REFREIGERACION)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.0000	0.0000	0.00	1.0000
Error	20	112582.4605	5629.1230		
Corrected Total	24	112582.4605			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS PRETRATAMIENTO (INTERACCIÓN TEMPERATURA\*TRATAMIENTO)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	2858713.658	317634.851	37.92	<.0001
Error	40	335066.325	8376.658		
Corrected Total	49	3193779.983			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS PRETRATAMIENTO (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1429356.829	357339.207	42.66	<.0001
Error	20	167533.163	8376.658		
Corrected Total	24	1596889.992			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS PRETRATAMIENTO (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1429356.829	357339.207	42.66	<.0001
Error	20	167533.163	8376.658		
Corrected Total	24	1596889.992			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS PERIODO SECO (INTERACCIÓN TEMPERATURA\*TRATAMIENTO)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	20283826.63	2253758.51	151.42	<.0001
Error	40	595369.52	14884.24		
Corrected Total	49	20879196.14			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS PERIODO SECO (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	10921167.03	2730291.76	98.73	<.0001
Error	20	553063.20	27653.16		
Corrected Total	24	11474230.23			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS PERIODO SECO (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	4945494.247	1236373.562	584.49	<.0001
Error	20	42306.321	2115.316		
Corrected Total	24	4987800.568			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS FINALES (INTERACCIÓN TEMPERATURA\*TRATAMIENTO)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	17999345.30	1999927.26	79.05	<.0001
Error	40	1011935.15	25298.38		
Corrected Total	49	19011280.45			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS FINALES (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Sum of					
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F

Model	4	16121686.43	4030421.61	167.34	<.0001
Error	20	481691.58	24084.58		
Corrected Total	24	16603378.01			

Dependent Variable: **PEROXIDASAS FINALES (TEMPERATURA REFRIGERACIÓN)**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	1868094.489	467023.622	17.62	<.0001
Error	20	530243.563	26512.178		
Corrected Total	24	2398338.052			

Dependent Variable: **FENOLES INICIALES (INTERACCIÓN TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Error	40	13.85018800	0.34625470		
Corrected Total	49	13.85018800			

Dependent Variable: **FENOLES INICIALES (TEMPERATURA AMBIENTE)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Error	20	6.92509400	0.34625470		
Corrected Total	24	6.92509400			

Dependent Variable: **FENOLES INICIALES (TEMPERATURA REFRIGERACION)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	0.00000000	0.00000000	0.00	1.0000
Error	20	6.92509400	0.34625470		
Corrected Total	24	6.92509400			

Dependent Variable: **FENOLES PRETRATAMIENTO (INTERACCIÓN TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	107.9545701	11.9949522	13.14	<.0001
Error	40	36.5186240	0.9129656		
Corrected Total	49	144.4731941			

Dependent Variable: **FENOLES PRETRATAMIENTO (TEMPERATURA AMBIENTE)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	53.97728504	13.49432126	14.78	<.0001
Error	20	18.25931200	0.91296560		
Corrected Total	24	72.23659704			

Dependent Variable: **FENOLES PRETRATAMIENTO (TEMPERATURA REFRIGERACION)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	53.97728504	13.49432126	14.78	<.0001
Error	20	18.25931200	0.91296560		
Corrected Total	24	72.23659704			

Dependent Variable: **FENOLES PERIODO SECO (INTERACCIÓN TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	9	70.75197808	7.86133090	52.25	<.0001
Error	40	6.01778640	0.15044466		
Corrected Total	49	76.76976448			

Dependent Variable: **FENOLES PERIODO SECO (TEMPERATURA AMBIENTE)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	51.73159640	12.93289910	76.90	<.0001
Error	20	3.36366160	0.16818308		
Corrected Total	24	55.09525800			

Dependent Variable: **FENOLES PERIODO SECO (TEMPERATURA REFRIGERACION)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	14.84779896	3.71194974	27.97	<.0001
Error	20	2.65412480	0.13270624		
Corrected Total	24	17.50192376			

Dependent Variable: **FENOLES FINALES (INTERACCIÓN TEMPERATURA \* TRATAMIENTO)**

	Sum of				
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F

Model	9	321.8117949	35.7568661	72.16	<.0001
Error	40	19.8214772	0.4955369		
Corrected Total	49	341.6332721			

Dependent Variable: **FENOLES FINALES (TEMPERATURA AMBIENTE)**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	112.4072152	28.1018038	43.88	<.0001
Error	20	12.8073468	0.6403673		
Corrected Total	24	125.2145620			

Dependent Variable: **FENOLES FINALES (TEMPERATURA REFRIGERACION)**

Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	207.5405854	51.8851463	147.94	<.0001
Error	20	7.0141304	0.3507065		
Corrected Total	24	214.5547158			