



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
FES IZTACALA**

“Efecto bactericida del 8-HQS sobre la longevidad y las respuestas morfofisiológicas en flor cortada de *Gerbera jamesonii* Bolus.”

Tesis que para obtener el título de Bióloga presenta:

Maribel Alanis Montesinos

Generación: 98-01

Director de tesis: M en C Gumercindo H. De la Cruz Guzmán.

Mayo, 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS.

Ésta tesis fue realizada con mucho esfuerzo y dedicación de mi parte, debo mencionar que estoy muy orgullosa de mí porque me e dado cuenta del potencial que tengo para hacer lo que me propongo. A lo largo de mi carrera tuve momentos difíciles en los que llegue a pensar que no podía continuar pero siempre tuve personas muy importantes a mi alrededor que estuvieron apoyándome y dándome palabras de aliento para seguir adelante, esta tesis se la dedico a Dios por ser mi principal guia espiritual, a mi familia por su amor y apoyo , a mis amigos por darme el ejemplo de perseverancia y a ti mi amor Gerardo por estar conmigo y darme lo mejor de ti.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por alumbrar cada paso en mi camino , por la fuerza y salud necesaria para tener la dicha de alcanzar mis sueños.

Gracias a toda la familia Montesinos por su apoyo incondicional ya que sin ellos hubiera sido difícil mantenerme en pie, los quiero mucho. En especial te agradezco a ti mamá por el amor y comprensión que e recibido de ti en todo momento y porque se que siempre contare con tu apoyo. A ti abuelita por tus consejos , siempre te escuche y aunque algunas veces no estuve de acuerdo contigo, ahora me doy cuenta que siempre quisiste lo mejor para mi y que en ocasiones si tenias razón. A ti hermano por el ejemplo de fortaleza y lucha por alcanzar un sueño estoy muy orgullosa de ti por todo lo que has logrado. A ti papá por estar presente cuando te he necesitado y aunque no estas tan cerca de mi siempre te llevo en mi corazón.

Gracias a ti Gerardo de la Garza, mi Geras por haber participado en ver realizado este sueño como muchos otros, sobre todo gracias por estos 7 años en los que hemos compartido momentos inolvidables siempre seremos la mejor pareja del mundo , porque a pesar de los obstáculos que se nos han puesto en el camino hemos tenido la fortaleza de superarlos y ahora con más razón porque estamos convencidos de que somos el uno para el otro; gracias por tu amor, comprensión, paciencia, dedicación, cuidados y sobre todo porque fuiste un apoyo muy fuerte para salir adelante en muchas situaciones difíciles TE AMO mi amor y no solamente por quien eres si no porque desde que estoy contigo mi vida a cambiado y porque cada día despierto pensando en ti y eso me da fuerza para ser una mejor persona cuando estoy contigo.

Gracias a todos mis profesores que me ayudaron en especial a mi asesor de tesis y amigo incondicional M.C. Gumersindo de la Cruz, a mi director de tesis por su ayuda en la realización de este proyecto M.C. Alberto Arriaga, a M.C. Graciela Molina por ayudarme en la parte de bacteriología, a Biol.. Marcial y M.C. Ernesto Aguirre por su asesoría en la tesis, a M.C. Silvia Aguilar por su ayuda y asesoría en la parte de histología y en la interpretación de los datos, Biol.. Daleth Guedea y Biol.. Magdalena Torres por el apoyo técnico y contribución en la parte de histología y a la Biol.. Edith Torres por ayudarme en la identificación de la especie de la flor utilizada en la tesis.

Gracias a aquellas personas que he conocido a lo largo de mi vida y que han sido buenos amigos sobre todo que han dejado una huella muy marcada en mi por aquellos momentos que compartimos juntos, ustedes saben quienes son.

ÍNDICE

1. Resumen	8
2. Introducción	10
3. Revisión de literatura	12
3.1 Origen de la Gerbera	12
3.2 Breve descripción morfológica y clasificación taxonómica	13
3.3 Requerimientos ambientales del cultivo de Gerbera en cuanto a factores externos	14
3.3.1 Luz	14
3.3.2 Temperatura	15
3.3.3 Humedad relativa	15
3.3.4 Concentración de CO ₂	16
3.3.5 Suelo	16
3.3.6 Alteraciones fisiológicas durante la cosecha	17
3.4 Recolección y comercialización	17
3.4.1 Parámetros de calidad en recolección y comercialización	18
3.5 Pos cosecha de la Gerbera.	19
3.5.1 Calidad del agua	19
3.5.2 Compuestos preservadores	20
3.5.3 Cambios morfológicos	22
3.5.4 Cambios fisiológicos	23
4. Objetivos	
4.1 Generales	27
4.2 Particulares	27

5. Material y métodos	
5.1 Ubicación del desarrollo experimental	28
5.2 Material vegetal	28
5.3 Diseño experimental	29
5.4 Evaluaciones realizadas	29
6. Resultados y discusión	31
7. Conclusiones	47
8. Sugerencias	48
9. Literatura citada	49
10. Anexos	56

1. RESUMEN

El género *Gerbera* se ha destacado como un cultivo importante como flor de corte, al igual que otras especies, el reto es encontrar las concentraciones de preservadores de la longevidad que retarden la llegada de la senescencia. Por lo que el objetivo general del presente trabajo fue: Evaluar el efecto de 8-HQS, sacarosa y refresco de limón sobre las respuestas morfofisiológicas durante la longevidad de flor cortada de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman. Las flores fueron obtenidas directamente en un invernadero de Villaguerrero estado de México, se transportaron en seco al laboratorio de 8 de la UMF, FES-Iztacala, UNAM, donde se colocaron en agua fría durante 24 horas, posteriormente se introdujeron 12 tallos florales en cada uno de los siguientes tratamientos: 1) Agua destilada, 2) 300 ppm de 8-HQS, 3) 300 ppm de 8-HQS+Sac. al 4.5% y 4) 300 ppm de 8-HQS+Ref. al 29%. Se determinó diariamente durante 15 días el PF y CHA, registrándose un incremento del primero hasta el día 4 en todos los tratamientos con una disminución gradual hasta el día 15 sin diferencias significativas entre ellos; el CHA fue mayor en 8-HQS+Sac. durante todo el experimento coincidiendo con una mayor longevidad. En contraste, el Testigo registró el menor consumo hídrico acumulado asociado a un mayor número de UFC y menor longevidad, la cual se evaluó diariamente mediante una escala con 5 estados de marchitamiento previamente definidos. Al día 0,3,5,7 y 10 se registró el ψ en dos discos de 6 mm de diámetro obtenidos de la parte media de las lígulas centrales donde se observó una disminución de esta variable en todos los tratamientos conforme se acercaban a la senescencia. Al mismo tiempo se obtuvo la concentración de sacarosa en lígulas con similar ubicación, observándose la mayor concentración en el tratamiento de 8-HQS+Sac. sugiriendo una mayor demanda de substrato respiratorio que conllevara a una mayor longevidad. Las bacterias se obtuvieron en fracciones de 5 cm de la base del tallo al día 0,3,7 y 11, se aislaron 7 cepas bacterianas gram negativas con una morfología microscópica cocoide y bacilar las cuales se cuantificaron para obtener el número de UFC cuyo crecimiento se dio a partir del día 7, registrándose un valor más alto en el testigo seguido por 8-HQS+Ref., 8-HQS+Sac. y 8-HQS, corroborándose así el efecto

bactericida de este compuesto. Finalmente la CMI y CMB del 8-HQS fue de 150 y 300 ppm respectivamente para 5 de las 7 cepas bacterianas aisladas. La caracterización bioquímica de las bacterias mostró que todas producen urea positivas, reducen nitritos, no producen indol ni gelatinasa, y presentan un metabolismo oxidativo-fermentativo. Se llegó a la conclusión de que el doblamiento del tallo en flores de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman se asoció más a una disminución de tejido de sostén que a la senescencia de la flor; un alto consumo hídrico se asoció con un número bajo de UFC y una menor pérdida de PF, traduciéndose esto en una mayor longevidad en el tratamiento 8-HQS+Sac. con 13.2 días; las flores tratadas con 8-HQS+Ref. al 29% registraron una longevidad del 12.2 días, que comparado con el tratamiento 8-HQS+Sac. podría considerarse como un sustituto de la sacarosa.

2. INTRODUCCIÓN.

Las plantas ornamentales, entre ellas las flores de corte, son sin duda parte fundamental de la economía de cualquier nación. La oferta y la demanda de las flores esta expuesta a fuertes cambios, ya que presentan épocas bien definidas, donde deben estar disponibles para el consumidor, por que se comercializan durante todo el año ya sea a mayor o menor escala. Para poder satisfacer la demanda de flores ha sido necesario desarrollar infinidad de conocimientos y técnicas que aseguren un buen manejo pre cosecha y pos cosecha que garanticen una larga vida en el florero de las diversas especies que se comercializan actualmente (Larson, 1981).

La diversidad de factores que afectan la longevidad y apariencia de las flores, hace un campo amplio para la investigación en floricultura que se ha enfocado mucho hacia los procesos de producción y al mejoramiento genético de algunas flores cuyos resultados obtenidos han proporcionado al mercado nuevas variedades o híbridos que satisfacen el gusto de los consumidores, tal es el caso de la Gerbera spp. que en un tiempo no fue considerada como flor de corte por desarrollar un pedúnculo débil que conllevaba a un doblamiento del cuello y rápido marchitamiento en el florero, debido a que se cortaban demasiado inmaduras (Salinger, 1991). El principal problema radica en el desconocimiento de la fenología de esta flor, sin embargo; por ser una planta que produce flores con una belleza extraordinaria, en los últimos años ha aumentado el interés por hacer investigaciones sobre su fenología y selección de buenos cultivares para su producción por lo que hoy en día se pueden encontrar Gerberas de alta calidad y por lo tanto ser una de las flores más buscadas en el mercado, además de tener un precio accesible igualado al de otras flores. (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

La Gerbera al igual que cualquier flor cortada, requiere de un restablecimiento del flujo hídrico, una fuente energética para mantener la actividad respiratoria se utilizan, sacarosa, glucosa, miel de abeja, e inclusive bebidas artificiales como refresco de limón (Liao, 2000; Enríquez, 2002, Robbins, 2002). Como mejorador del flujo hídrico encontramos al ácido cítrico ya que disminuye el pH de la solución y entre los compuestos preservadores químicos que ayudan a incrementar la longevidad de la flor, una de las funciones principales de éstos compuestos es inhibir el crecimiento de microorganismos, que pudieran tapan los conductos del xilema y por lo tanto llevar a una rápida senescencia de la flor. De los más utilizados esta el 8-HQS, $Al_2(SO)_4$, $(AgNO)_3$ y (STS) (Paulin, 1997; Liao, 2000 - 2001). El uso de estos compuestos en combinaciones y/o concentraciones apropiadas para cada especie y/o cultivar ayudan a incrementar la longevidad de la flor cortada.

A través de ensayos previos se determinaron las concentraciones de sacarosa, refresco de limón y 8-HQS que incrementan la longevidad en *Gerbera jamesonii*, por lo cual; el objetivo general del presente trabajo fue: Evaluar el efecto de 8-HQS, sacarosa y refresco de limón sobre las respuestas morfofisiológicas durante la longevidad de flor cortada de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman.

3. REVISIÓN DE LITERATURA.

3.1 ORIGEN DE LA GERBERA

El nombre proviene del apellido del botánico alemán Traugott Gerber. El género comprende de 40 a 50 especies que crecen en terrenos altos al pie de la montaña, principalmente en el sureste de África y Madagascar, así como las regiones tropicales de Asia, es decir; en Ceilán, India, Nepal, Península Indochina, China e Indonesia. Las Gerberas cultivadas actualmente son híbridas de *Gerbera jamesonii*, es una planta sudafricana originaria de Transvaal a unos 700 msnm. Se importó a Inglaterra en 1887, donde se efectuó el primer cruzamiento con otra especie, la *Gerbera viridifolia*, de aquí paso a Francia y luego a Alemania con el nombre de *Gerbera jamesonii* híbrida (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

3.2 BREVE DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA Y CLASIFICACION TAXONÓMICA DE GERBERA.

Planta: herbácea, vivaz, en roseta.

Sistema radicular: Pivotante en origen, pero a medida que se desarrolla, se convierte en fasciculada y está compuesto por gruesas raíces de las que parten numerosas raicillas.

Hojas: Forma de roseta, son alargadas, de unos 40 cm, y ligeramente hendidas en los bordes; del pecíolo de algunas de ellas evolucionarán los brotes florales, que van a desarrollar unos vástagos o pedúnculos con una inflorescencia terminal en capítulo. El pedúnculo puede ser de distintos grosores, y su longitud depende del cultivar y de las condiciones ambientales existentes.

Flores: El capítulo está formado, desde el exterior hacia el interior, por varias filas concéntricas de flores femeninas liguladas, normalmente una fila de

flores hermafroditas no funcionales y, colocándose en el centro, las flores masculinas. Las flores liguladas son de forma, espesor y colores variables dependiendo del cultivar.(Figura 1)

Fruto: Es un aquenio, acostillado, con coloración marrón claro o marrón oscuro y presenta un vilano en el extremo posterior, lo que facilita su diseminación. Cada fruto contiene una semilla (Oszkinis y Lisiecka 1990; www.infoagro.com).

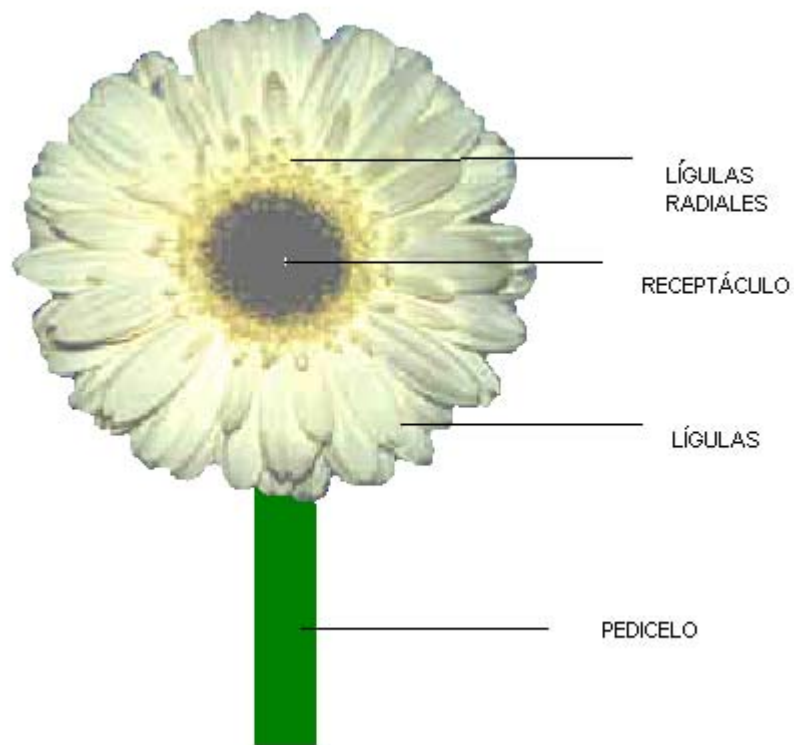


FIGURA 1. Flor de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman.

De acuerdo con estas características la flor de *Gerbera jamesonii* ha sido clasificada de la siguiente manera (cuadro 1).

División	Espermatophyta
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Dicotyledoneae
Subclase	Metchlamydae
Orden	Campanulales
Familia	Compositaeae
Género	<i>Gerbera</i> spp.
Especie	<i>Gerbera jamesonii</i>

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Gerbera jamesonii* Bolus.

3.3 REQUERIMIENTOS AMBIENTALES DEL CULTIVO DE GERBERA EN CUANTO A FACTORES EXTERNOS.

3.3.1 Luz.

La Gerbera se considera como una especie indiferente al fotoperíodo, aunque la luz influye en la emisión de los brotes laterales, que darán lugar a nuevas flores. Por lo tanto un mayor número de brotes laterales en el momento de la antesis de la primera flor, incrementa la producción total de la planta.

La luz influye en el colorido y tonalidad de las flores, aunque el comportamiento de los diferentes cultivares frente a la incidencia luminosa es muy variable. (Oszkinis y Lisiecka1990; www.infoagro.com)

3.3.2. Temperatura.

La temperatura del suelo y del ambiente influyen en la velocidad de la floración y en la longitud del pedúnculo. Asimismo la temperatura ambiental influye en la emisión de hojas, crecimiento de éstas y precocidad de la floración. La temperatura del suelo ejerce un efecto positivo sobre el diámetro de la flor y la longitud del pedúnculo, y el crecimiento de éste es mayor en periodos oscuros, dependiendo de la relación entre la temperatura del suelo y la del ambiente.

Las altas temperaturas, al momento de la plantación y el arraigamiento, pueden producir desequilibrios entre la parte aérea y las raíces de la planta, sobre todo en los suelos pesados, en los que el desarrollo de éstas es más lento.

Las bajas temperaturas pueden provocar malformaciones y abortos florales, debido a deficiencias fotosintéticas y la baja absorción de minerales a nivel de la raíz. (Oszkinis y Lisiecka1990; www.infoagro.com)

3.3.3. Humedad relativa (HR).

La HR es la cantidad de vapor de agua en el aire a una temperatura en particular, comparado con la cantidad de vapor de agua (Salisbury, 1994). Si las flores de Gerbera se encuentran en una humedad que oscila entre el 75 y 90% no presentan problemas, pero a valores mayores pueden favorecer el desarrollo de algunas enfermedades. Por ello se recomienda un control exhaustivo de la ventilación. Las variaciones de humedad elevadas entre el día y la noche y entre diferentes periodos, pueden afectar la calidad de la flor, disminuyendo su conservación pos cosecha. Una HR superior al 90 %, puede provocar manchas y deformaciones en las flores durante el invierno.

En los meses de temperaturas elevadas y fuerte ventilación crea condiciones de HR reducida que pueden afectar a la implantación del cultivo, por lo que se aconseja sombrear y aplicar riego por aspersión. (Oszkinis y Lisiecka1990; www.infoagro.com)

3.3.4. Concentración de CO₂.

El aporte de CO₂ favorece el desarrollo y la producción en Gerbera. El umbral mínimo de contenido en CO₂ de la atmósfera del invernadero, debe ser superior a 300 ppm y no rebasar las 600 ppm.

Para el aporte de CO₂ se pueden emplear humos de caldera, previamente refrigerados por dilución, o generadores específicos para la producción de CO₂. (Oszkinis y Lisiecka1990; www.infoagro.com)

3.3.5 Suelo

Entre las condiciones edáficas más indicadas para el cultivo de la Gerbera destacan:

Suelos ligeros, profundos y aireados que posibiliten un desarrollo sin limitaciones del sistema radical de la planta.

Ausencia de capas compactas en el terreno. Hay que dotar al suelo de un buen drenaje para evitar, tanto la asfixia radical a la que es tan sensible la planta, como la infección de determinados hongos que afectan al cuello y sistema radical de la Gerbera.

Terrenos poco calcáreos, con valores de pH medianamente ácidos. En el caso de no presentarse estas condiciones, la planta evoluciona con la presencia de numerosas clorosis al no poder asimilar ciertos microelementos.

Suelos provistos de materia orgánica, que deberá estar bien fermentada para evitar favorecer la presencia de determinadas enfermedades y quemaduras en el sistema radical. (Oszkinis y Lisiecka 1990; WWW.infoagro.com)

3.3.6 ALTERACIONES FISIOLÓGICAS DURANTE LA COSECHA.

En algunas variedades de *Gerbera* sobre todo las de lígulas largas, puede aparecer en ciertas épocas del año una pérdida de éstas en el capítulo floral, esto se atribuye a causas genéticas o climáticas.

Otra de las alteraciones que se presenta es la clorosis, este amarillamiento internerval de las hojas se produce cuando se riega a bajas temperaturas. El suelo frío o húmedo bloquea la asimilación del hierro por parte de la planta. Por ello se aconseja realizar aplicaciones foliares de quelato de hierro. (Oszkinis y Lisiecka 1990)

3.4 RECOLECCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN.

Existen en la actualidad más de 300 cultivares de *Gerbera jamesonii* que se diferencian en el peso, diámetro de las inflorescencias, las cuales pueden ser simples o dobles y en el color de las mismas. (Garibaldi, 1989). Ésta flor es considerada muy delicada en su manipulación, por lo que se deben adoptar una serie de precauciones en su manejo desde el instante de su recolección.

La recolección debe realizarse en las primeras horas de la mañana, antes de que las temperaturas del ambiente del invernadero sean elevadas, sujetando la base del pedúnculo y arrancándolo mediante un movimiento de torsión, de tal forma que se desprenda el callo de inserción del pedúnculo y sin que se produzca su rotura, no debiendo quedar ningún resto sobre la planta. El

capítulo de la inflorescencia debe presentar dos filas de flores masculinas abiertas, lo que se pone de manifiesto por la presencia de las anteras, aunque existen variedades en las que esta observación es difícil, y en las que se recolecta observando el cierre del corazón y la forma en que están desplegadas las lígulas.

Para comercializar las flores se emplean paneles especiales de cartón que impiden el roce de las lígulas entre ellas. El empaquetado de la flor es delicado y se recomienda que cada una de las cajas puede almacenar de 20 a 30 unidades dispuestas en dos paneles.

3.4.1 PARÁMETROS DE CALIDAD EN LA RECOLECCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE GERBERA.

En cuanto a los parámetros de calidad que sirven para la clasificación de la flor, existen diversos criterios, aunque los más empleados son:

- Longitud de la vara. Expresa un número en centímetros, medidos desde la base del pedúnculo hasta la parte superior del capítulo.
- Diámetro del capítulo. Se refiere al número de centímetros correspondientes al diámetro de la circunferencia que forman los extremos exteriores de las lígulas de la inflorescencia.
- Rigidez. Indica la rectitud y fortaleza del capítulo.
- Especificaciones. Referidas a las flores y a los tallos que deben estar exentos de daños producidos por plagas, enfermedades que alteren su aspecto y color, manchas o quemaduras producidas por productos fitosanitarios, residuos visibles de tratamientos y magulladuras y defectos de vegetación (lígulas torcidas) entre otros.

- Tolerancia de calidad. Expresa el porcentaje de varas que pueden presentar ligeros defectos, a condición de que la homogeneidad de la presentación no se vea afectada.
- Presentación de las flores en los envases. Define las categorías extra, primera y segunda en función de la conservación de los capítulos.

(www.infoagro.com)

3.5 POSTCOSECHA DE LA GERBERA.

3.5.1 CALIDAD DEL AGUA.

Uno de los pasos más importantes en el tratamiento de las flores cortadas es volver a cortar los tallos bajo agua fría (Slootweg, 1995) de 5 a 7cm de la base, con el fin de eliminar parte de la población bacteriana presente en el tallo. El agua debe ser baja en sales o sólidos totales disueltos, ya que los químicos presentes en el agua de grifo son tóxicos para algunas flores. Por ejemplo, el sodio (Na) presente en altas concentraciones es tóxico para claveles y rosas, causando quemazón por sales en las puntas y bordes de las hojas. El flúor (F) es muy tóxico para la Gerbera, Gladiola, Rosa y Fresia, por lo que se recomienda agua destilada o desionizada (Halevy y Mayak, 1979). La calidad del agua influye directamente sobre la eficiencia de las soluciones preservadoras, las cuales deben contener compuestos que actúen como biocidas, que disminuyan la transpiración, suministren carbohidratos y retarden la síntesis o acción del etileno (Van Doorn, 1986).

3.5.2 COMPUESTOS PRESERVADORES DE LA LONGEVIDAD

Entre los compuestos químicos existe una gran variedad dependiendo de la función que desempeñen para mantener durante más tiempo las flores, algunos de ellos inhiben el crecimiento de microorganismos en la solución, entre los más utilizados se encuentra el 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) que tiene como ésteres principales al 8-HQS y 8-HQC estos compuestos precipitan elementos esenciales que ayudan al crecimiento de microorganismos tales como el cobre, magnesio, hierro, y zinc (Cuellar, 1987), además de esto, tienen efectos acidificantes mejorando el flujo hídrico. Otros compuestos contienen sales de plata particularmente el $(AgNO)_3$ y STS, los cuales tienen una doble función, es decir; por un lado inhiben el anclaje del etileno a nivel de membrana y por otro, ejercen una acción bactericida en la solución (Liao 2000, Liao 2001, Paulin 1997). Los compuestos químicos como DICA y BCDMH, se ha demostrado que ambos controlan la proliferación de microorganismos, actúan mejorando la absorción de la solución (Jones, 1993). Cabe mencionar que las concentraciones de estos compuestos varían dependiendo de la flor y del cultivar (Cuadro 2)

COMPUESTOS QUÍMICOS	CONCENTRACIONES	FLORES DE CORTE
8-HQS	50 mg/L	Rosa hybrida "Sonia" "Sweet promise"
	150 mg/L	Gerbera jamesonii "Red Marleen"
	200 mg/L	,Gerbera jamesonii "Sc 4040x" "Tropic summer" "Applebbssom"
	250 mg/L	Rosa hybrida "Sonia" Clavel "Dianthus caryophyllus"

COMPUESTOS QUÍMICOS	CONCENTRACIONES	FLORES DE CORTE
8-HQC	150, 250 mg/L	Rosa hybrida L. "Gabrielle", "Scilia", "Campanulata", Liliun parkmannii L. "Nepal", Gerbera jamesonii L. "Mercy", Narcissus tazetta L. "Fortune"
	200 mg/L	Rosa hybrida "Sonia" "Polka" "Frisco" "Ilona", Chrysanthemus "Indianapolis pink"
	600 mg/L	Gladiolus "White friendship"
(AgNO) ₃	150 mg/L	Gladiolus
	200 mg/L	Rosa hybrida "Sonia" "Sweet promise"
	1000 mg/L	Clavel "Dianthus caryophyllus"
STS	2 mM	Clavel "Elliont's White", Viola, Liliun, Lanthyrus odorantus, Gypsophila, Eustoma, Euphorbia fulgens, Dendrobium, Delphinium
DICA	50 mg/L	Rosa hybrida "Gabriela", Clavel Diantus "Medea"
	250 mg/L	Gysophila paniculata L."Rzz", Alstromeria aurantica L. "Munalisa", Tulipan hybrida L. "Apeldoorn"
BCDMH	12 mg/L	Freesia hydrida L. "White bergunden"

Cuadro 2. Compuestos químicos y concentraciones utilizadas en algunas flores de corte para mejorar su longevidad (Abdel y Rogers 1986; Amateuri 1995; Jones y Hill 1993; Marousky 1973; Liao 2000; Mayak, Accati y Kofranek 1977; Rodney y Megan 1993; Stigter 1980; Van Doorn y Perik 1990).

3.5.3 CAMBIOS MORFOLÓGICOS

La senescencia de la Gerbera esta relacionada con la maduración de sus flores, los primeros síntomas se manifiestan por un ligero encorvamiento del pedúnculo, la separación gradual y pérdida de color de las lígulas, ya que conforme avanza la senescencia las lígulas caen del capítulo floral. Se ha observado que las flores con lígulas anchas, tienen una vida más larga en florero, que las de capítulos con lígulas angostas y largas, además de que las flores que tienen un color fuerte duran menos que aquellas que presentan un color tenue. Estas características no determinan la durabilidad de las flores, sin embargo, la genética intrínseca y las condiciones del cultivo son las que influyen en su longevidad como flor cortada (Oszkinis y Lisiecka, 1990). Existe un método para evaluar la longevidad de las flores cortadas, a través de la observación de los cambios morfológicos de la flor basadas en las medidas de absorción de agua y cambio de peso fresco lo cual nos indica un parámetro de longevidad para cada flor (Buys, 1981). Sin embargo, no existe una escala establecida para determinar el marchitamiento y por tanto la longevidad de las flores. En ensayos anteriores, se definió una escala en donde se diferenciaron 5 estados de marchitamiento (cuadro 3) tomando como característica principal la apariencia del escapo floral y el cambio de color en lígulas (figura 2).

ESTADO	CARACTERISTICAS
1	Buen estado
2	Escaso marchitamiento
3	Ligero doblamiento de lígulas, empieza a notarse el marchitamiento
4	Marchitamiento en lígulas y cambio color
5	Totalmente marchita

Cuadro 3. Estados de marchitamiento durante la vida postcosecha de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman



Figura 2. Estados de marchitamiento de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman

De acuerdo con esto se definió la longevidad de las flores, considerando como fin de la longevidad cuando el 90% de las unidades experimentales en cada tratamiento, llegaron al estado 3.

La longevidad de las lígulas esta determinada por su contenido de carbohidratos, por la integridad de la membrana y por los cambios del potencial osmótico en la solución, lo que visualmente vemos como perdida de turgencia de las lígulas, pérdida de peso fresco y doblamiento del tallo de la flor (Paulin 1997)

3.5.4 CAMBIOS FISIOLÓGICOS

Durante la etapa de senescencia ocurren una serie de cambios fisiológicos y bioquímicos que llevan a la muerte de tejidos y órganos. La senescencia esta relacionada con la reducción de la energía necesaria para las reacciones de síntesis y como agente retardante, se recomienda un suplemento exógeno de azúcar. La recomendación más común es agregar a la solución sacarosa en concentraciones que van de 80 a 120 mg/L (Liao, 2000) o en % de 2, 3, 4, 5, 6 ; otro es la miel de abeja de 1 a 5% (Enríquez, 2002) y bebidas gaseosas de limón como 7Up, Sprite o algún equivalente (Robbins, 2002); en un ensayo previo al presente trabajo se utilizaron 3 concentraciones de 7Up (29%, 59% y 88%), llegando a la conclusión que soluciones con refresco al 29% tuvieron un efecto mayor sobre la longevidad. La adición de un azúcar a la solución favorece en el consumo hídrico y peso fresco, al mismo tiempo que mantienen la estructura de la

membrana celular. Es importante señalar que las partículas de solutos disueltos en la solución reducen el potencial hídrico, lo cual hace más lenta la turgencia de la flor. Sin embargo, aunque los azúcares son el substrato respiratorio para las flores, estos resultan ser una fuente energética para el crecimiento de microorganismos pero también otro aporte lo dan las células periféricas al corte en la base del tallo que liberan azúcares, aminoácidos, proteínas y otros metabolitos, convirtiéndose en otra fuente principal para incrementar la población bacteriana en la base del tallo ocasionando obturación llevando rápidamente la flor a su marchitamiento. (Cuellar, 1987; Figueroa, 2001).

Cuando existe obturación del tallo por microorganismos se habla de que estos llegan a los vasos del xilema impidiendo el ascenso del agua y por lo tanto llevan más rápido a la senescencia de las flores de corte. La anatomía del tallo está constituido por tejidos denominados haces vasculares, los cuales están formados por xilema, floema y cambium. En xilema es donde se transporta el agua y sales minerales entre otros, con movimiento ascendente en el tallo, el cual está constituido principalmente por vasos por donde pasa el agua que llega a las hojas o en el caso de Gerbera directo a la corola por ser un escapo floral con las hojas ubicadas en la parte basal del tallo. En el floema se da lugar el transporte de azúcares y otros productos de asimilación. La velocidad del movimiento del agua y solutos en el xilema depende de la velocidad de transpiración. En los vasos se observan haces de células parenquimatosas orientadas en dirección al eje principal del tallo cuya función es el almacenamiento y conducción de productos. Se ha observado que en vasos pequeños la tasa de flujo del agua varía de acuerdo con el cuadrado del radio del vaso. En tallos largos y estrechos poseen vasos de gran diámetro que permiten altas tasas de flujo, puesto que la tasa de flujo varía en forma inversamente proporcional a la longitud, lo cual permite la transferencia del agua en largas distancias en un tallo pequeño de diámetro (Salisbury 1994: Lira 1994). Al respecto Marousky (1986) reportó que en la estructura vascular del escapo floral en Gerbera es diferente dependiendo del cultivar, analizando que en la parte media del tallo (aproximadamente 15 cm) se

encontraron haces vasculares de una talla de 0.46mm a 0.89mm lo cual mostró una resistencia a la postcosecha alargando su longevidad, contrario en aquellos cultivares donde el tallo a pesar de ser más ancho los haces vasculares eran de menor tamaño lo cual impedía el flujo de agua y por tanto un declinamiento en la longevidad.

La disminución en la absorción del agua en flores de corte se debe también a la oclusión vascular causada por el contenido de bacterias presentes en el tallo, embolia (formación de burbujas dentro del tallo que impiden el libre paso del agua) o combinación de ambas. El bloqueo del tallo inicia con la obstrucción física de los poros en la membrana ya sea por bacterias, por sus metabolitos o por degradación de los productos de las bacterias muertas. Esta obstrucción por bacterias es seguida por cavitación y el contenido de gas en el xilema. Cuando las bacterias crecen en el tallo afectan el transporte hídrico por el taponamiento de los conductos del xilema secándolo y la cavitación es causada aparentemente por la disminución en el consumo de agua (Marousky 1986, Van Doorn (1995). Los microorganismos presentes en la solución, son transportados a través del tallo llegando al xilema. Al respecto algunos investigadores han aislado e identificado a través de pruebas bioquímicas las bacterias presentes en el tallo de algunas flores de corte; en Snapdragon se encontraron *Flavobacterium* y *Pseudomona* (Dansereau y Vines, 1990), en Gerbera y Crisantemo se encontró a *Enterobacter* *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp* y algunos hongos (Henriëtte, 1990), en Rosa y Crisantemo se identificaron a *Escherichia coli* *Pseudomona solanacearum* y *Enterobacter* (Zagory y Reid, 1986 ; Van Doorn y Witte 1997), en Gladiolus sp. se encontró *Erwinia sp.*, *Escherichia coli* y *Bacillus cereus* (Marousky, 1980). Se ha llegado a la conclusión de que concentraciones de bacterias en el tallo mayores a 10^6 UFCml⁻¹ pueden afectar la longevidad dependiendo del tipo de flor, el cultivar y de la bacteria en crecimiento (Jones, 1993; Van Doorn y Perik, 1990).

Otro de los procesos que ocurre durante la senescencia de las flores de corte está relacionada con la transpiración que a su vez está relacionada con la absorción, ya que si esta última es más lenta que la transpiración se presenta un déficit hídrico en el tejido de la flor; la diferencia entre ambos procesos se debe a la pérdida de agua almacenada en el tejido (Lara 1994). Al respecto Amariutei (1986) señala que una tasa excesiva en la transpiración en flores de Gerbera tiene relación con un bajo índice de respiración que llevan a una disminución de peso fresco y concentración de azúcares en lígulas.

Otras de las causas de la disminución de vida en florero, es la síntesis del etileno, ya que esta hormona regula el proceso de senescencia en las tanto de manera endógena como exógena, ya sea por liberación de las mismas flores o por el etileno que se encuentra en el ambiente cuyas fuentes pueden ser motores en combustión y frutas maduras entre otras, conllevando a la marchitez de las flores cortadas. Existen flores como en el caso de Gerbera que no son sensibles al etileno por lo que esto no podría ser una causa de marchitamiento en esta especie (Paulin, 1997).

4. OBJETIVOS.

4.1 GENERAL:

Evaluar el efecto de 8-HQS, sacarosa y refresco de limón sobre las respuestas morfofisiológicas durante la longevidad de flor cortada de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman.

4.2 PARTICULARES:

Determinar el efecto de 300 ppm de 8-HQS + Sac. al 4.5 % y de 300 ppm de 8-HQS + Ref. al 29% durante la vida poscosecha en flor cortada de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman.

Aislar las bacterias presentes en el tallo de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman y determinar algunas de sus características bioquímicas.

Evaluar el efecto bactericida in vitro de 8-HQS de colonias aisladas en tallos de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman.

5. MATERIAL Y MÉTODOS.

5.1 UBICACIÓN.

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecofisiología Vegetal y Control de Plagas, ubicado en la Unidad de Morfología Función de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

5.2 MATERIAL VEGETAL.

Las flores de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman cuyo ejemplar de respaldo se encuentra en el Herbario de la FES Iztacala, UNAM con número de registro 28244, se obtuvieron en el invernadero "Azteca Floral", ubicado en el kilómetro 4 de la carretera San José-Villa Guerrero en el Estado de México. Las flores fueron cortadas por la mañana, observándose que no se les aplicara ningún tratamiento. Se transportaron en seco al laboratorio de la UMF, donde permanecieron durante 24 horas sumergidas en agua fría, a fin de simular las condiciones de manejo de la empresa que las cultiva. Posteriormente se cortaron los tallos 5cm por arriba de la base quedando éstos con una longitud de 42 cm aproximadamente. A lo largo del experimento, la T° estuvo entre 19-23.3°C y la HR entre 31 y 45%.

5.3 DISEÑO EXPERIMENTAL.

Se utilizaron 48 probetas de plástico con una capacidad de 250 ml, a cada una se le agregó 170 ml de la solución correspondiente ajustada a un pH de 3.5 (Cuadro 4) . Cada tratamiento contenía 12 unidades experimentales (UE) o flores.

TRATAMIENTOS	UNIDADES EXPERIMENTALES
Testigo (agua destilada)	12
8 HQS 300 ppm	12
8 HQS 300 ppm + Sac. al 4.5%	12
8 HQS 300 ppm + Ref. al 29%	12

Cuadro 4. Distribución de tratamientos durante el experimento realizado, las soluciones fueron ajustadas a un pH de 3.5 excepto el testigo

5.4 EVALUACIONES REALIZADAS.

5.4.1 Cuantificación de colonias bacterianas, utilizando un contador de bacterias y obteniendo el número de bacterias con la siguiente fórmula:

colonias gr./ml = número de colonias / (ml de suspensión) (dilución de la muestra)

5.4.2 Obtención de bacterias presentes en tallo al día 0,3,7, y 11, mediante la técnica descrita en el anexo 1.

5.4.3 Aislamiento de bacterias en los tallos de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman en cada tratamiento mediante la técnica de dilución por estría, hasta obtener monocultivos.

5.4.4 Obtención de la CMI y la CMB del 8-HQS en bacterias aisladas del tallo de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman, mediante la técnica de dilución en caldo, la cual se describe en el anexo 2.

5.4.5 Caracterización bioquímica de las bacterias aisladas, mediante pruebas bioquímicas las cuales se describen en el anexo 3.

5.4.6 Descripción anatómica de la parte baja, media y alta del tallo de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman mediante la técnica de cortes frescos del tallo, descrita en el anexo 4.

5.4.7 Diariamente se hicieron las siguientes evaluaciones:

- Consumo hídrico acumulado por diferencia de volumen en la probeta graduada.
- Cambio de peso fresco, con una balanza de 0.01g de precisión.
- Longevidad considerando el 90% de flores en estado 3 mediante la escala de marchitamiento.

5.4.8 Cada tercer día se realizaron las siguientes evaluaciones:

- Concentración de solutos en cada una de las soluciones con un refractómetro.
- Concentración de sacarosa en lígulas, descrita en el anexo 5.
- Potencial hídrico mediante un psicrómetro el cual mide la presión de vapor en una pequeña cámara que se encuentra en equilibrio con la de una muestra de tejido, en este caso a partir de dos discos de 6 mm de diámetro, obtenidos de la parte central de las lígulas periféricas, considerando tres repeticiones para cada tratamiento al día 0, 3, 5, 7 y 10 ,

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los resultados que se presentan a continuación se explican por bloques de acuerdo a los objetivos planteados.

Número de colonias bacterianas en tallos de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman.

En la figura 3 se muestra el resultado de cada tratamiento en cuanto al número de UFC, claramente se observa un crecimiento casi nulo de bacterias y es a partir del día 7 donde hay un aumento, siendo más notorio en el tratamiento testigo con un valor de 5.1×10^8 UFC g⁻¹ que coincidió con el inicio de la disminución de peso fresco (Figura 6) lo cual puede asociarse a un taponamiento del tallo por incremento de las UFC coincidiendo con una transición en la apariencia visual, del estado 1 al estado 2 (Cuadro 3 y Figura 2). En el tratamiento con 300ppm de 8-HQS, el número de UFC fue de 1.7×10^8 UFCg⁻¹, menor en comparación con el control, comprobándose de esta forma el efecto inhibitorio de este compuesto sobre la población bacteriana. Henriëtte (1986), encontró en flor cortada de Gerbera que una concentración de 1×10^6 de UFC disminuye la longevidad por efecto de un taponamiento que se ve reflejado en un doblamiento del tallo. En el presente trabajo, las UFC no determinaron el fin de la longevidad y ésta no fue determinada por doblamiento del tallo ya que en base a un análisis histológico del tallo se comprobó que existe una distribución diferencial de tejido de sostén a lo largo del tallo floral, atribuyéndose el doblamiento a una disminución de colénquima y esclerénquima, tejidos que proporcionan el sostén (Figura 4). Esto coincide con lo descrito por Jones (1993) quien comprobó el uso de otros germicidas como DICA, BCDMH y 8-HQC, en diferentes concentraciones en flores como: Liliium, Gerbera, Narcissus y Fresi, donde los efectos de dichos germicidas fue favorable en retardar la senescencia de las flores con un número UFC de 1×10^6 indicando que las especies de bacterias encontradas en la solución no afectaron su longevidad, sin embargo en otras flores como Rosa y Diantus no

se tuvo el mismo efecto ya que aumento el número de UFC a 1×10^8 atribuyéndose este aumento a la concentración de los germicidas utilizados. Por su parte Van Doorn (1995), contribuye con su trabajo que el número de UFC, en flor cortada de Clavel que la longevidad se reduce con una concentración de bacterias iguales o superiores a 1×10^8 y que la composición de la flora bacteriana no tiene ningún efecto sobre el tiempo de vida de la flor, es decir, que dependiendo del germicida, de la concentración y la flor que se utilice, la longevidad puede estar determinada por el número de UFC en la solución que puede o no ser afectada.

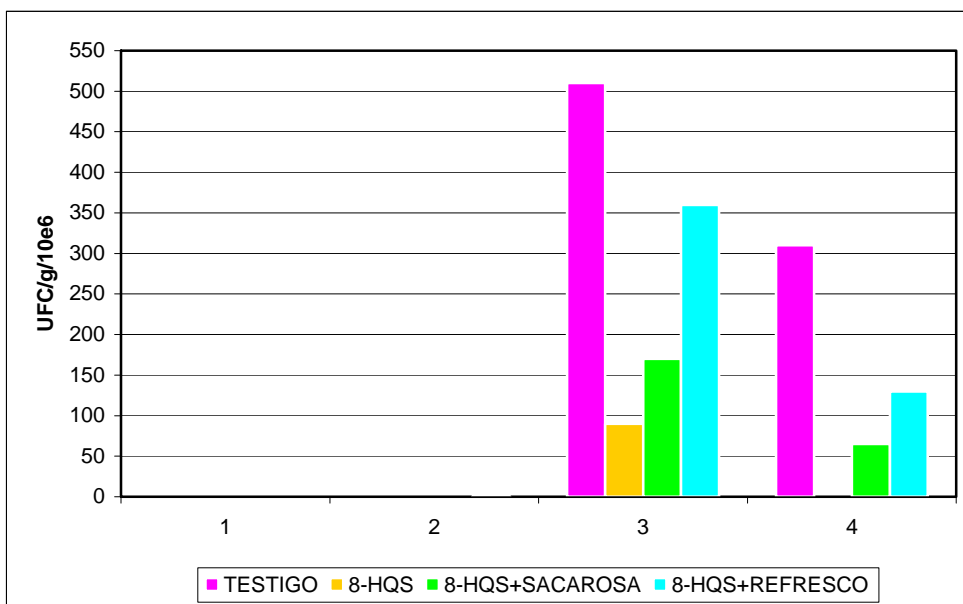


Figura 3. Número de UFC en cada tratamiento durante 4 evaluaciones. 1=día 0, 2=día 3, 3=día 7 y 4=día 11.

Características morfológicas de las bacterias presentes en el tallo de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman mediante la Tinción de Gram.

De las 7 cepas bacterianas aisladas todas fueron gram negativas con una morfología microscópica cocoide y bacilar principalmente (cuadro 5). Esto coincide con el trabajo realizado por Henriëtte (1990) quien aisló e identificó a 6 bacterias Gram negativas en el tallo de *Gerbera jamesonii*.

BACTERIAS.

BACTERIA	FORMA	TINCIÓN DE GRAM	COLOR DE LA COLONIA
A	Coco	Negativo	Blanco
B	Bacilo	Negativo	Blanco
C	Cocobacilo	Negativo	Amarillo
D	Bacilo	Negativo	Café
E	Bacilo	Negativo	Crema
F	Bacilo	Negativo	Amarillo intenso
G	Cocos	Negativo	Anaranjado

Cuadro 5. Morfología microscópica de las bacterias encontradas en los tallos de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman.

Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima bactericida (CMB) de 8-HQS en bacterias aisladas de tallos de *Gerbera jamesonii* cv. *Dalman*.

En el cuadro 8 se puede observar que las bacterias señaladas como F y C presentaron una CMI de 150ppm de 8-HQS, mientras que la CMB fue de 75ppm de 8-HQS, en comparación con las demás que su CMB fue de 300ppm de 8-HQS mientras que la CMI fue de 150ppm de 8-HQS. Esto se debe a que cada bacteria aislada presenta diferentes características bioquímicas (cuadro 7) por lo tanto su forma de crecimiento y de multiplicación es distinta.

BACTERIA	CMB de 8-HQS en ppm	CMI de 8-HQS en ppm
A	300	150
B	300	150
C	150	75
D	300	150
E	300	150
F	150	75
G	300	150

Cuadro 6. CMI y CMB de 8-HQS en las diferentes bacterias aisladas del tallo de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman.

Características bioquímicas de las bacterias aisladas.

El siguiente cuadro muestra las características bioquímicas de las bacterias aisladas del tallo.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	A	B	C	D	E	F	G
Movilidad	I	M	M	M	I	M	I
Agar Mc	-	+	-	-	-	-	-
Agar Ms	-	-	-	-	+	+	-
Catalasa	+	-	+	+	+	+	+
OF C/T	+	+	+	+	+	+	+
OF S/T	+	+	+	+	+	+	+
Agar Hierro – Kleger	A/S	A/A	A/S	A/S	A/A	A/S	A/S
Citrato	-	+	-	-	-	-	-
Licuefacción de Gelatina	-	-	-	-	-	-	-
Rojo de metilo	-	+	+	-	+	-	-
Oxidasa							
Urea	+	+	+	+	+	+	+
Reducción de nitratos	+	+	+	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	-	-

Cuadro 7. Características bioquímicas. I inmóvil, M móvil, A/S alcalino sin cambio, A/A alcalino ácido.+ (prueba positiva) y – (prueba negativa).

La caracterización bioquímica es una herramienta útil para la identificación de las bacterias, en este trabajo solamente se describen algunas características sin llegar a la identificación.

Descripción anatómica del tallo de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman.

La epidermis está formada por una sola capa de células en forma tubular o cuadrada; la superficie externa de las paredes presenta una cutícula en forma de una lámina continua. Los tricomas de origen epidérmico son uniseriados, pluricelulares con dos células en la base.

La corteza primaria, situada entre la epidermis y el sistema vascular, está formada por tejido parenquimatoso con células de forma isodiamétrica que van aumentando en tamaño conforme se disponen hacia el cilindro vascular, esta región tiene un grosor de 300 μm , en la parte media es de 380 μm y en la parte alta de 625 μm ; aumentando su grosor hacia el ápice del tallo. En el interior del cortex hay tejido de esclerenquima a manera de casquete asociado a los tejidos vasculares, en la parte basal del tallo estos casquetes se unen entre sí por medio de células de parénquima con paredes esclerosadas formando un anillo más o menos continuo.

El sistema vascular se encuentra situado internamente a la corteza primaria, consta de un cilindro discontinuo, constituido por haces vasculares de tipo colateral, en donde se distingue el floema externo y el xilema interno, que se diferencia centrífugamente. Los haces vasculares en desarrollo son de tamaño más pequeño (Cuadro 8). El número de haces vasculares se incrementa en forma acropétala, encontrando en la base del tallo 54 haces vasculares, en la parte media 56 y en la parte alta 61.

En los haces vasculares bien desarrollados el xilema presenta los vasos conductores solitarios o agrupados en hileras radiales de 3 a 5 vasos. En la base del tallo el número total de vasos es de 186 con un diámetro promedio de 18 μm mientras que en la parte media del tallo su número aumenta a 222 vasos y su diámetro se reduce a 16.5 μm ; en la parte superior del tallo el número es de 123 con un diámetro promedio de 15.2 μm (Cuadro 8).

La médula al centro del tallo, está rodeada por el sistema vascular, presenta células de parénquima de forma isodiamétrica; en la base del tallo tiene un diámetro de 325 μ m, encontrándose mejor desarrollada en la parte media con 350 μ m de diámetro, mientras que en la parte superior es de 337 μ m (Cuadro 8).

Este análisis permitió descartar al doblamiento del tallo como un criterio para definir fin de la longevidad ya que en la parte apical el tejido de sostén (colénquima y esclerénquima) disminuye visiblemente (cuadro 8; figura 4). Debido a éste análisis la longevidad no pudo ser determina por doblamiento del tallo, ya que las características descritas señalan una pequeña diferencia en el número de haces vasculares en las tres diferentes partes del tallo, sin embargo en la parte media hubo el mayor número de vasos, esto indica que el flujo de agua fue más rápido a comparación de las otras asociado también al diámetro de los mismos. Estos resultados coinciden con lo descrito por Marousky (1986) quien hace una descripción anatómica en las mismas partes del tallo en diferentes cultivares de Gerbera, donde señala que la curvatura del tallo se debe a la poca cantidad de tejidos que dan sostén al tallo.

TALLO	BAJA	MEDIA	ALTA
1.- Epidermis	Uniseriada	Uniseriada	Uniseriada
2.- Cortex	300 μm	380 μm	625 μm
3.-Número de haces vasculares	54	56	61
Floema	160 μm	88 μm	74 μm
Xilema	15 μm	15 μm	12 μm
Número total de vasos	186	222	123
Diámetro de vasos (μm)	18 5.17	16.5 4.95	15.2 3.09
Máximo	3	3	4
Mínimo	12	12	10
4.-Médula (diámetro)	325 μm	350 μm	337.5 μm

Cuadro 8. Características cuantitativas de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman en la posición basal, media y alta del tallo.

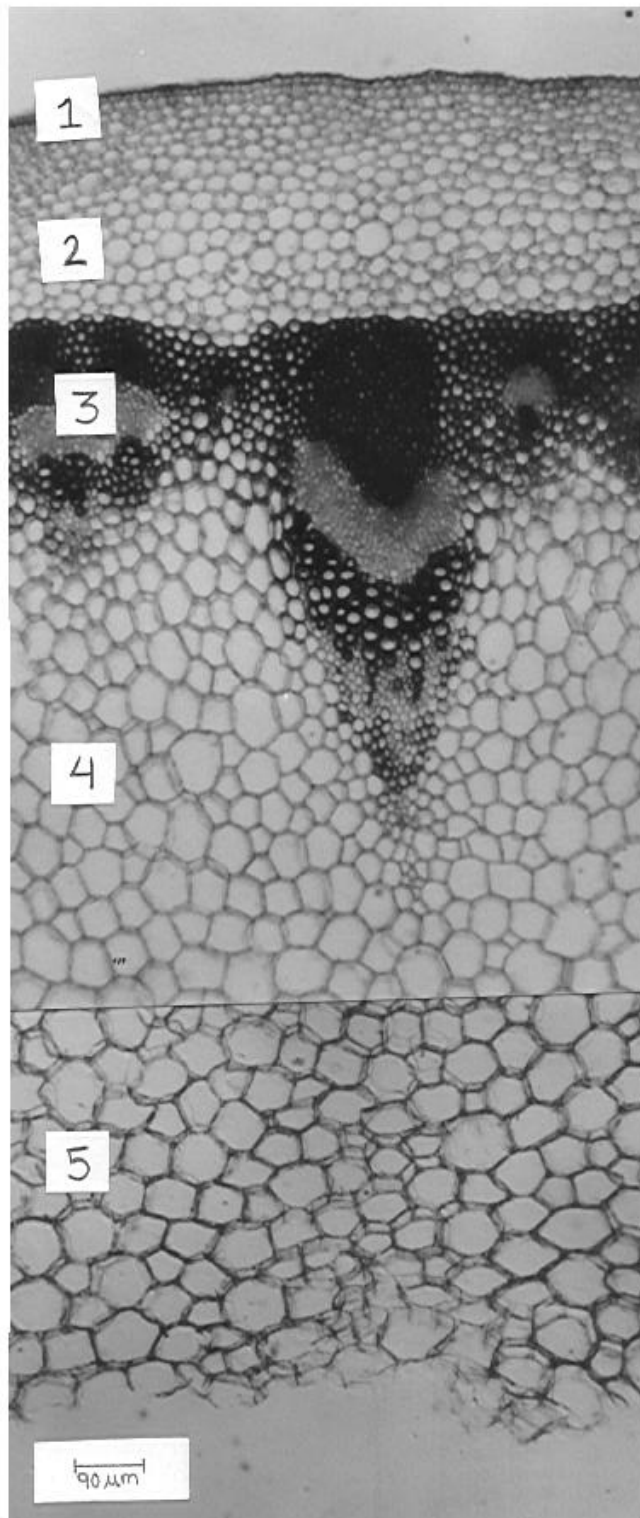


Figura 4. A) corte transversal de tallo (10 cm por arriba de la base) en *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman, Epidermis (1); Cortex (2); Haces vasculares (3); Células de Parénquima (4); Médula (5).

Concentración de solutos en la solución.

No se registraron cambios en la concentración de solutos en las soluciones utilizadas para los tallos de *Gerbera jamesonii* (Cuadro 9), lo cual sugiere que tanto el agua como los solutos son transportados de manera uniforme a través del xilema hasta el escapo floral. En el tratamiento de 8-HQS + Ref. de limón se registró un valor refractométrico de 3.4°brix seguido por 8-HQS + Sac. con 4.6°brix. En el tratamiento Testigo y 8-HQS se registraron 0°brix (Cuadro 9).

TRATAMIENTO	DÍA 1	DÍA 5	DÍA 9	DÍA 12
TESTIGO	0	0	0	0
8-HQS	0	0	0	0
8-HQS + Sac	4.6	4.6	4.6	4.6
8-HQS + Ref.	3.4	3.4	3.4	3.4

Cuadro 9. Valores refractométrico expresados en ° brix de las soluciones utilizadas durante la vida postcosecha de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman

Longevidad.

El cuadro 10 muestra la longevidad que tuvieron las flores de Gerbera con diferentes tratamientos. Se consideró como fin de la longevidad cuando el 90% de las flores de un tratamiento llegaban al estado 3.

TRATAMIENTO	LONGEVIDAD (días)
Testigo	10.3
8-HQS	9.7
8-HQS + Sac	13.2
8-HQS + Ref.	12.2

Cuadro 10. Longevidad considerada cuando el 90% de las flores llegaron al estado 3 en los cuatro tratamientos.

Consumo Hídrico Acumulado (CHA).

Todos los tratamientos tuvieron un CHA ascendente. En la figura 5 se puede observar que al día 13, las flores sometidas al tratamiento 300ppm 8-HQS + Sac. de registraron un consumo hídrico promedio de $50.5 \text{ ml} \pm 0.015$, mientras que el resto de los tratamientos fluctuó entre 36 y 45ml considerando la cantidad de solutos disueltos en la solución, se esperaría que el testigo tuviera el mayor CHA debido a su nula cantidad de solutos, sin embargo; no fue así, probablemente la disminución del ascenso de agua se debe a la aparición gradual de UFC en estos tallos ya que al día cero se registraron $.036 \times 10^6$ UFC y al día 11 aumentaron a 310×10^6 (Figura 3). Aunque algunos autores (Jones 1993, Van Doorn y Perik 1990) mencionan que la aparición de bacterias o el número de UFC mayores a 10^6 no provocan daños en la flor, aquí se demuestra que en *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman si tienen un efecto en el flujo del agua a través del

tallo, ya que la acumulación de bacterias probablemente contribuyeron al decremento en la absorción de agua y una longevidad menor (Cuadro 10). De acuerdo con esto existe una relación con la absorción de agua y la longevidad, ya que hay una influencia directa sobre el mantenimiento de la turgencia en los pétalos reflejándose en la senescencia de la flor (Stigter, 1980). El tratamiento de 8-HQS+Sac. fue quien tuvo mayor CHA asociándose a un menor número de UFC, al día 11 fue de 65×10^6 UFC, sugiriendo que este número no tiene influencia sobre la velocidad de flujo hídrico. La inhibición de bacterias presentes en el tallo en este tratamiento fue de 80% comparado con el testigo al día 11 (Figura 3).

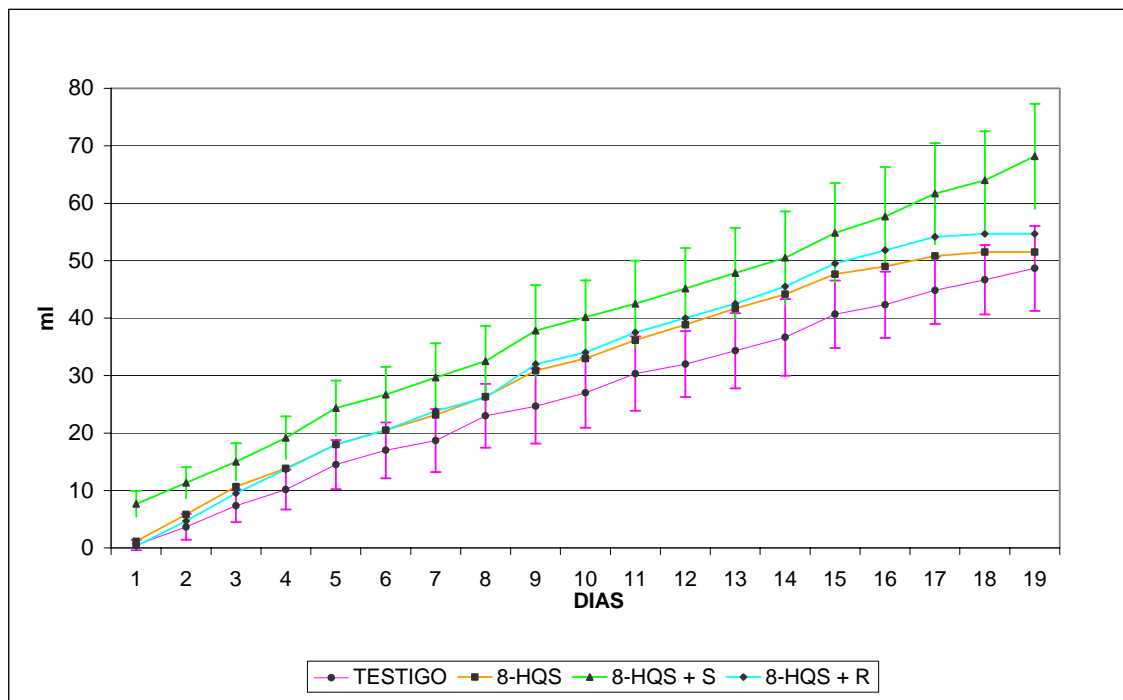


Figura 5. Efecto de los tratamientos en el Consumo Hídrico Acumulado (CHA) de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman.

Peso Fresco (PF).

Durante el experimento las flores de *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Dalman aumentaron su PF hasta el quinto día en todos los tratamientos, notándose a partir del día 6 una disminución gradual hasta el final, siendo 8-HQS+Ref. quien registro el mayor peso hasta el día 9 con 28.72g sin diferencias entre tratamientos. La pérdida de peso en 8-HQS+Sac. fue más lenta a partir del día 9 (Figura 6), esto asociado a un mayor CHA (Figura 5) que dio como resultado una longevidad de 13 días (Cuadro 10). Lo cual coincide con lo reportado por Marousky (1969) quien considera al peso fresco como un criterio de longevidad. Por otra parte Stigter (1980) menciona que cuando el peso disminuye existe un efecto sobre la escala de marchitamiento de las flores de corte, observándose que a partir del día 6 el peso en todos los tratamientos disminuyó gradualmente notándose que el 73% del total de las flores de cada tratamiento se encontraban en estado 2 de la escala de marchitamiento (Figura 6, Cuadro 3).

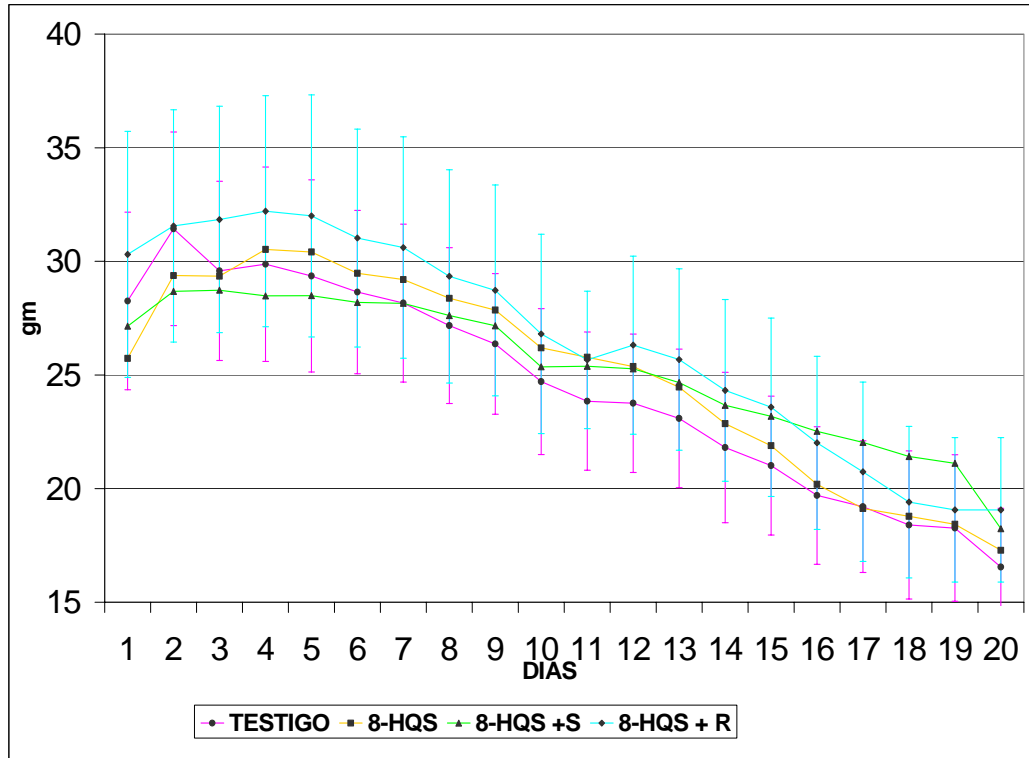


Figura 6. Peso Fresco (PF) de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman.

Concentración de sacarosa en lígulas.

Las evaluaciones en cada tratamiento se realizaron al día 0,3,6,9 y 11 despu es de iniciado el experimento, observándose que las lígulas de *Gerbera jamesonii* cv. *Dalman* en el tratamiento 8-HQS+Sac. en todas las evaluaciones tuvieron una concentración de sacarosa mayor en comparación con los demás tratamientos. De acuerdo con lo reportado con Amariutei (1986) la concentración de azucares en lígulas está relacionada con el índice de respiración, ya que es mayor en aquellas inflorescencias que presentan un alto contenido de azucares como fue el caso del tratamiento 8-HQS+Sac. quien además tuvo una longevidad de 13 días superando por poco a los demás tratamientos (Cuadro 10). De las evaluaciones realizadas, al día 3 no registraron diferencias significativas entre tratamientos oscilando sus valores entre 213.44 y 535.33 μg^{-1} de tejido fresco, Al día 6 se observó que 8-HQS+Sac. tuvo un incremento en su concentración de sacarosa de 256.78 μg^{-1} . Al día 11 el tratamiento 8-HQS+Sac. tuvo una mayor concentración de 5004.77 μg^{-1} de tejido fresco, siendo éste el dato más alto de todos los tratamientos durante las evaluaciones realizadas. Para manejo de información este valor fue considerando como el 100% de la concentración de sacarosa en lígulas para cada una de las evaluaciones realizadas obteniendo el porcentaje de los demás tratamientos en cada tiempo de evaluación. El tratamiento testigo tuvo su máxima concentración al día con 6.27%; 8-HQS+Ref. al día 11 con un 17.60% y 8-HQS con 10.69% respectivamente. Como ya se había mencionado la adición de una fuente de carbohidrato a la solución favorece a la longevidad de la flor y la turgencia en las lígulas, lo cual se vio reflejado en el tratamiento 8-HQS+Sac. cuya longevidad fue de 13 días, mientras que en 8-HQS+Ref. fue de 12 días, la diferencia de un solo día en cuanto a longevidad en estos dos tratamientos (Cuadro 10), podría dejar la opción de sustituir la sacarosa por el refresco de limón la 29%.

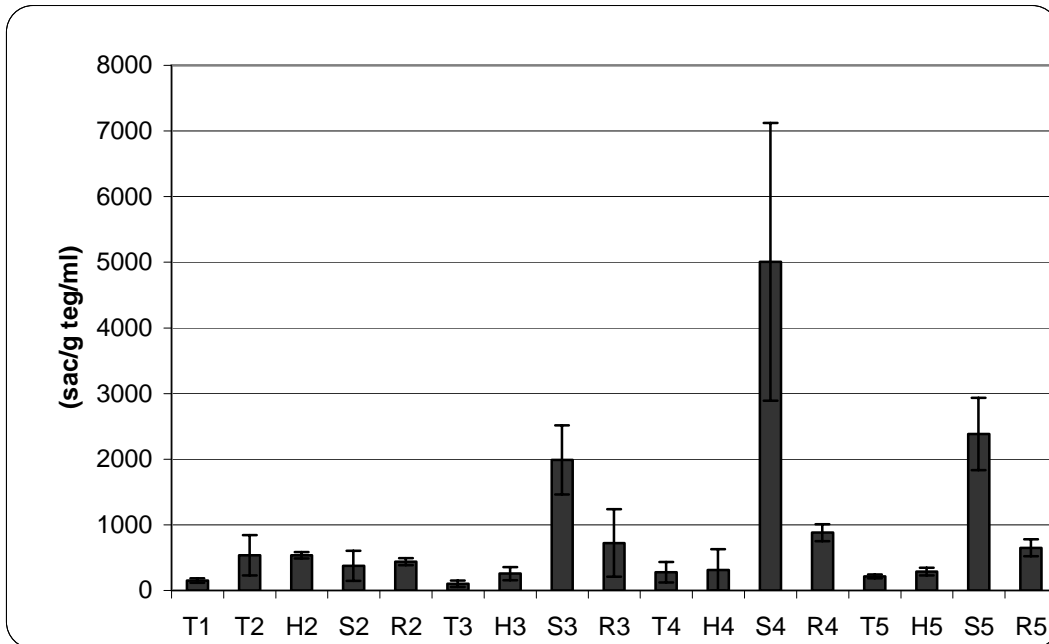


Figura 7. Concentración de sacarosa en lígulas de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman. Donde T=testigo, H=8-HQS, S=8-HQS+sacarosa y R=8-HQS+refresco. 1= día 0, 2= día 3, 3= día 6, 4= día 9 y 5= día 11.

Potencial hídrico en lígulas de Gerbera .

Se realizaron evaluaciones con un psicrómetro al día 0, 3, 5, 7 y 10. Al día 0 se registró un potencial hídrico en lígulas de -0.79 bares disminuyendo al día 5 en todos los tratamientos, especialmente en 8-HQS+Sac. con -12.87 bares, quien además tuvo una concentración de solutos en la solución de 4.6° brix. La disminución en el potencial hídrico en lígulas fue más evidente conforme se acercaba el fin de la longevidad, en los diferentes tratamientos. Esto coincide con lo descrito por Van Doorn (1996) al medir potencial hídrico en diferentes cultivares de Rosa, donde observó que el potencial hídrico al inicio del experimento fue de -0.6 bares habiendo ciertas diferencias dependiendo del cultivar y las condiciones hídricas hasta el quinto día, después del quinto día hubo una marcada disminución del potencial hídrico lo cual coincidió con la abscisión de los pétalos en todos los cultivares.

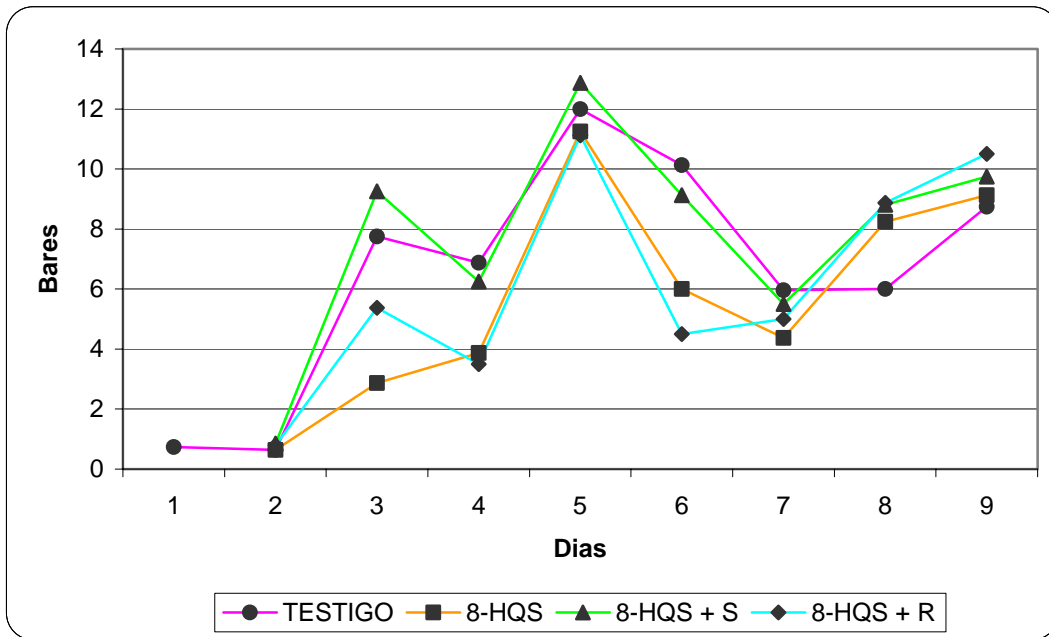


Figura 8. Potencial hídrico en lígulas de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman.

7. CONCLUSIONES

- 1) La CMI y CMB de 8-HQS para 5 de las 7 cepas aisladas fue de 150 y 300 ppm respectivamente.
- 2) El uso de 300 ppm de 8-HQS en la solución tuvo un efecto bactericida en flores de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman.
- 3) La caracterización bioquímica de las bacterias mostró que todas producen ureasa, reducen nitritos, no producen indol ni gelatinasa, y presentan un metabolismo oxidativo-fermentativo.
- 4) El doblamiento del tallo en flores de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman se asoció más a disminución de tejido de sostén que a la senescencia de la flor.
- 5) Un alto consumo hídrico en el tratamiento 8-HQS+Sac. asociado a un bajo número de UFC y una menor pérdida de peso dieron como resultado una mayor longevidad.
- 6) Las altas concentraciones de sacarosa en lígulas estuvieron asociadas a la adición de sacarosa exógena en la solución y a una mayor longevidad.
- 7) Para el caso de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman tratada con 8-HQS+Ref. registró una longevidad de 12 días, por lo que el refresco de limón al 29% podría ser considerado como un sustituto de la sacarosa, ya que el tratamiento de 8-HQS+Sac. registró una longevidad de 13 días con una concentración de sacarosa al 4.5% .
- 8) Se registró una disminución de potencial hídrico en lígulas de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman al día 5, siendo más notorio en el tratamiento 8-HQS+Sac. ya que empezaba la transición del estado 1 al 2 en la escala de marchitamiento.

8. SUGERENCIAS

El presente trabajo propone algunas sugerencias para prolongar la vida en florero de *Gerbera jamesonii* Bolus cv Dalman.

1.- Aquellos distribuidores que pretendan comercializar esta flor independientemente del cultivar, deben obtenerlas en un invernadero o con un distribuidor que les asegure que el tiempo de corte en el invernadero no sobrepase las 24 horas, para poder rehidratarlas durante unas horas en agua fría realizando un corte tangencial debajo del agua de 5 cm de longitud.

2.- Para obtener una mejor apariencia y una mayor longevidad de esta especie, se recomienda utilizar una solución que contenga ya sea sacarosa al 4.5% o refresco de limón (7up) al 29% + 300 ppm de 8-HQS, ajustándola a un pH de 3.5, el agua utilizada tanto para la rehidratación como la elaboración de las soluciones debe ser baja en sales (agua destilada).

3.- Para evitar el doblamiento de los tallos e impedir el flujo de agua se debe poner un popote en el tallo para que este se mantenga recto durante su exhibición.

Para aquellos que deseen continuar experimentado con esta especie pero con diferentes cultivares es recomendable que sigan los anteriores pasos, además de probar otros compuestos químicos y distintas concentraciones como los que se sugieren en el Cuadro 4, para finalmente recomendar el uso de una solución para un cultivar distinto. Para medir la longevidad se debe llevar un registro diario de los cambios que presente la flor si es posible tomar fotografías y establecer una escala de marchitamiento, considerando que no todos los cultivares son iguales, como referencia se puede considerar el de este trabajo ya que fue establecido y estandarizado desde experimentos anteriores.

9. LITERATURA CITADA.

- 1 Abdel K.H., M.N. Rogers, 1986, Post harvest treatment of Gerbeja jamesonii, Acta Hort. 113:97-107.
- 2 Amariutei A., 1995 (A), Physiological and biochemical changes of cut Gerbera inflorescences during vase life, Acta Horticulturae 405: 372 - 380.
- 3 Amariutei A., 1995 (B), Changes in the ultrastructure of cut Gerbera inflorescences during vase life, Acta Horticulturae 405: 108 - 116 .
- 4 Amariutei A., 1986, Researches concerning some metabolism aspects of cit flowers, Acta Horticulturae 181: 331- 337.
- 5 Baker F.J. y M.R Breach., 1990, Manual de técnicas de microbiología médica, Edit. Acribia, Zaragoza – España.
- 6 Buys C.A. y H.G Cours., 1981, Water uptake as a criterion for the vase life of cut flowers, Acta Horticulturae, 113:127-136.
http://www.actahort.org/books/113/113_17.htm
- 7 Cuellar, M. B. 1987. El uso de preservantes en flor cortada (rosa sp.) usando diferentes dosis de concentración. Tesis de Licenciatura: Ingeniero agrícola. UNAM. Facultad De Estudios Superiores. Cuautitlán. Cuautitlán Izcalli, Estado.de México. p. 65.
- 8 Dansereau B. Y H.M Vines, 1990, In-stem movement, isolation and identification of two bacteria and their antibiotic sensitivity, Acta Horticulturae 41 : 183- 197.

- 9 Enriquez O.M del R.,2002 , Efecto del nitrato de plata y miel de abeja sobre la longevidad de flor cortada *Gladiolus* sp. c.v. "Borrega", V Congreso Nacional Agronómico: Gestión de Sistemas Agrícolas Sostenibles, Universidad Autónoma Chapingo Departamento de Fitotecnia.
- 10 Figueroa, C. I., 2001, Cambios fisiológicos en postcosecha de dos cultivares de rosa con diferente duración en florero. Tesis de Maestría en horticultura. Unidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia. Chapingo, México. p 66.
- 11 Finegold S.M. y E.J Baron, 1989, Diagnóstico microbiológico, Edit. Panamericana, 7° edición, , Buenos Aires – Argentina.
- 12 Flores cortadas 2002/2003 , Oficina Holandesa de flores.
- 13 Flores M. S., Rivera A.V. y A.A. Chávez, 1998, Manual teórico práctico: sección de bacteriología, UNAM, ENEP Iztacala.
- 14 Garibaldi A. y R. Jona, 1989, Parameters influencing Gerbera cut flower longevity, Acta Horticulturae, 261:63-68.
http://www.actahort.org/books/261/261_7.htm
- 15 Garnica R. R., 1996. Longevidad poscosecha de *Alstromeria*, *Aster*, *Limonium*, *Rosa* y *Minigerberas*; en bouquets con película platica, Tesis profesional Fitotectia UNACH.
- 16 Goszczynska D. M. y R. N. Rudnicki, 1988, Storage of cut flowers, Reseach Rev. 10:35-61.
- 17 Halevy, A.H., 1976, Water relations of cut flowers, Acta Hort. 64:223-230.

- 18 Halevy A.H. y S. Mayak, 1979, Senescence and postharvest physiology of cut flowers. Horticultural Review Vol. 1:204-223.
- 19 Henriette M.C., 1986, Investigations into the influence of the microflora from stems of cut flowers on the vase life of Rose "Sonia"; Gerbera "Fleur" and Chrysanthemum "Spider", Acta Hort. 181: 415-418.
- 20 Henriette M.C., 1990, Microorganisms from freshly harvested cut flower stems and developing during the vase life of chrysanthemum, gerbera and rose cultivars, Scientia Horticulturae 43 : 129-144.
- 21 Hesham A. y N. Marlin, 1986, Postharvest treatment of Gerbera jamesonii, Acta Horticulturae 181: 169- 176.
- 22 Jones R.B. y M. Hill, 1993, The effect of germicides on the longevity of cut flowers, J.Amer.Soc.Hort.Sci. 118 (3) : 350-354.
- 23 Larson R. A., 1988, Introducción a la floricultura, AGT, México.
- 24 Li Jen Liao, 2000, Postharvest life of cut rose flowers as affected by silver thiosulfate and sucrose, Bot.Bull.Acad.Sin. 41: 299-303
- 25 Li Jen Liao, 2001, Vase life of Eustoma grandiflorum as affected by aluminum sulfate, Bot.Bull.Acad.Sin. 42: 35-38.
- 26 Lara M.B., 1994, Evaluación de diferentes es tipos de azúcares en preservadores florales en postcosecha de rosa (rosa sp) variedad Vega. Tesis de Licenciatura: Ingeniero agrícola. UNAM. Facultad De Estudios Superiores. Cuautitlán.. Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

- 27 Lira S.R.H., 1994, Fisiología Vegetal, Edit. Trillas, México D.F.
- 28 Mac Faddin J.F., 1991, Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica, Panamericana, México.
- 29 Marousky F.J., 1969, Vascular blokage water absorption stomatal opening and respiration of cut "Better times" roses treated with 8-HQC and sucrosa, J.Amer.Soc.Hort.Sci. 94 : 223-266.
- 30 Marousky F.J., 1973, Recent advances in opening but cut Chrysanthemum flowers, Hort. Science, 8 (3): 13-15.
- 31 Marousky F.J., 1980, Inhibition of cut flower bacteria by 8-hydroxyquinoline citrate, Acta Horticulturae 113: 81 – 87.
- 32 Marousky F.J., 1986, Vascular structure of the Gerbera scape, Acta Horticulturae 181: 399 – 405.
- 33 Mayak S., G.E. Accati, A.M. Kofranek, 1977, Carnation flower longevity : microbial populations as related to silver nitrate stem imprednation, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 102 (5): 673-639.
- 34 Morales G. E., 1994, Evaluación del almacenamiento en frío y algunas sustancias conservadoras sobre la calidad y la longevidad de la flor de gladiola (*Gladiolus spp.*), Tesis profesional. Fitotectia UACH.
- 35 Nell T.A. y M.S Reid, 2002, Poscosecha de las flores y las plantas, Edit. Hortitecna, 2° edición, Bogotá Colombia.
- 36 Oszkinis K. y Lisiecka A., 1990, Gerbera, Edamex.

- 37 Parra Q.R., O.J. Rodríguez y H.V González., 1999, Transpiración , potencial hídrico y prolina en zarzamora bajo deficit hídrico, Colegio de posgraduados, Especialidades en Fruticultuta y Genética, pp.125-130.
- 38 Paulin André, 1997, La poscosecha de las flores cortadas :Bases fisiológicas, 2° edición, Centro Nacional de Investigaciones Agrícolas en Francia.
- 39 Robbins J., 2002, , Universidad de California en Davis http://info.ag.uidaho.edu/homewise/homewise_010602sp.htm
- 40 Sacalis N. J., 1993, Cut Flower, prolonging freshness: postproduction care and handling. Seals Batavia, Illinois USA.
- 41 Salinger J.P., 1991, Producción comercial de flores, Edt.Acribia S.A. Zaragoza España.
- 42 Salisbury F.B. y C.W. Ross, 1994, Fisiología vegetal, Edit. Iberoamericana, México D.F.
- 43 Slootweg G., 1995, Effect of water temperature on water uptake and vase life of different cut flowers, Acta Horticulturae 405 : 67- 74.
- 44 Stefan, G. y D Gray,. 1990. Growth determination and medium analysis en Pollar J.W y J.M Walker. Methods in molecular biology, Plant Cell and Tissue Culture Humana. Press. 13-27
- 45 Stigter H.C.M., 1980, Water balance aspects of cut and intact "Sonia" Rose plants, and effects of glucose, 8-hydroxyquinoline sulfate and sulfate and aluminium sulfate, Acta Hort. 113: 97-107.
- 46 Taiz L. y E. Zeiger, 1991, Plant Physiology, The Benjamin Cummings publishing Company, Inc. California USA.

- 47 Tejero D.J.D., 1987, *Plantae: introducción al estudio teórico – práctico de las plantas con embrión*, ENEP Iztacala, UNAM
- 48 Van Doorn W.G., 1989, Role of physiological processes, microorganisms and air embolism in vascular blockage of cut rose flowers, *Acta Horticulturae* 261.
- 49 Van Doorn W.G., 1995, Vascular occlusion in cut rose flowers: a survey, *Acta Horticulturae* 405 : 58- 65.
- 50 Van Doorn W.G., 1997, Sources of the bacteria involved in vascular occlusion of cut rose flowers, *Amer.Soc.Hort.Sci.* 122(2):263-266.
- 51 Van Doorn W.G. y A.Vojinovic, 1996, Petal abscission in Rose flowers: Effects of water potential, light intensity and light quality, *Annals of Botany* 78: 619-623.
- 52 Van Doorn W.G. y B.C.H. Waltmann, 1986, Effects of exogenous bacterial concentrations on water relations of cut Rose flowers. Bacteria in the basin water, *Acta Hort.* 181:459-462.
- 53 Van Doorn W.G., Y. De Witte y B.C.H.Waltmann, (1986), Effect of exogenous bacterial concentrations on water relations of cut rose flowers, *Acta Horticulturae* 181 : 459 - 462.
- 54 Van Doorn W.G. y R.R.J.Perik, 1990, Hydroxyquinoline citrate and low pH prevent vascular blockage in stems of cut rose flowers by reducing the number of bacteria, *J.Amer.Soc.Hort.Sci.* 115 (6): 979-981.
- 55 Van Doorn W.G. y Y. Witte., 1997, Sources of the bacteria involved in vascular occlusion of cut rose flowers, *J.Amer.Soc.Hort.Sci.* 122 (2): 263-266.

56 Van Meeteren U., 1980, Role of pressure potential in keeping quality of cut gerbera inflorescences, *Acta Horticulturae*. 113; 143-150.

57 Zagory D. y M.S. Reid (1986), Evaluation of the role of vase microorganisms in the postharvest life of cut flowers, *Acta Horticulturae* 181.

58 WWW.infoagro.com

ABREVIATURAS.

8-HQS = 8-hidroxiquinoleina de sulfato

8-HQS + Sac. = 8-hidroxiquinoleina de sulfato + sacarosa

8-HQS + Ref. = 8-hidroxiquinoleina de sulfato + refresco de limón

Al_2SO_4 = sulfato de aluminio

AgNO_3 = nitrato de plata

STS = tiosulfato de plata

DICA = dicloroisocianurato de sodio

BCDMH = 1-bromo-3 cloro-5,5 dimetilhidrógeno

CO_2 = bióxido de carbono

KOH = hidróxido de potasio

PF = peso fresco

pH = potencial de hidrógeno

T° = temperatura

HR = humedad relativa

CHA = consumo hídrico acumulado

ψ = potencial hídrico

UFC = unidades formadoras de colonias

CMI = concentración mínima inhibitoria

CMB = concentración mínima bactericida

ppm = partes por millón

mg = miligramos

ml = mililitros

g = gramos

cm = centímetros

mm = milímetros

nm = nanómetros

μ l = microlitros

μ m = micrometros

10. ANEXOS.

1.-Técnica para la obtención de bacterias presentes en el tallo.

- De cada flor se tomaron 5 cm del tallo para descortezarlo, pesarlo y cortarlo en rodajas de 1 a 2 mm y se depositaron en un frasco, al cual se le agregó una solución salina fisiológica a una porción 10 veces de su peso (ejemplo: 3 g de tallo + 30 ml de solución) y se colocó el frasco en agitación por 5 min. a 37 °C.
- Se hicieron diluciones seriadas hasta 1:1000 en tubos de ensayo de 15X100 con tapón de rosca adicionando 9 ml de solución salina fisiológica.
- Al primer tubo se le agregó 1 ml de la solución que contenían los fragmentos del tallo y se mezcló, de éste tubo el cual es la dilución 1/10 se retiró 1 ml y se agregó al siguiente tubo cuya dilución es 1/100, se realizó la misma operación para el tercer tubo de la dilución 1/1000, y de este último se depositaron 50 µl en dos cajas de petri que contenían 20 ml de agar Mueller Hinton (MH) y se esparcieron con un triángulo de vidrio para incubarlos a 37°C durante 24 hrs.
- En algunos casos no se observó crecimiento bacteriano, por lo que se dejaron incubar durante 24 hrs más.
- Se contaron las UFC y se calcularon por gramo de peso fresco.
- En algunos casos el UFC excedió de 300 por lo que se realizaron más diluciones.

2.- Determinación de la CMI y la CMB.

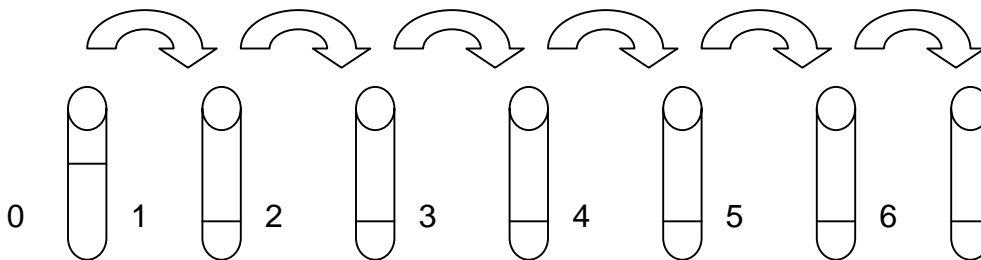
1.- Las bacterias previamente aisladas, se sembraron en agar Muller Hinton masivamente con un isopo de madera, durante 24 hrs a 37°C

2.- Se agregaron 3 ml de solución salina fisiológica (SSF) y con la ayuda de un portaobjetos se rasparon las bacterias para homogenizarla con la solución

3.- Con una pipeta Pasteur se tomó la muestra y se introdujo a tubos Ependorf para centrifugarlos a 3000 rpm

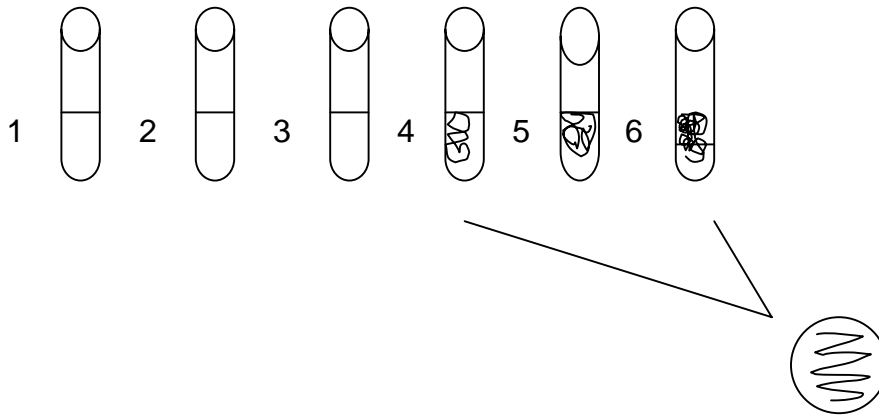
4.- En un tubo de ensaye se agregaron 20 ml de SSF y se fueron agregando poco a poco las bacterias hasta que la turbidez fuera igual al tubo de la suspensión bacteriana previamente elaborada

5.- Se preparó una serie de 6 tubos con caldo MH para cada bacteria, en el tubo 1 se agrego 1 ml de 8-HQS a 300 ppm, el cual se fue diluyendo hasta el tubo 5, ya que el 6 fue el control. Se les agrego 1 ml de la suspensión de las bacterias (1×10^6 UFC/ ml) a cada tubo y se incubaron durante 24 hrs a 37°C



tubo 0 contiene 8-HQS a 300 ppm el cual se fue diluyendo

6.- Se observó la turbidez a simple vista, de los tubos que no estaban turbios se tomo 0.1 ml y se cultivaron en agar MH, al igual que el tubo control



3.- Características bioquímicas.

La identificación de las bacterias se hizo con la ayuda de pruebas bioquímicas que se muestran a continuación.

Tinción de Gram.

Es utilizada para diferenciar bacterias gram positivas y gram negativas, esto depende principalmente de la composición de la membrana celular.

Soluciones:

- (1) cristal violeta al 0.5%
- (2) solución de lugol
- (3) alcohol cetona
- (4) safranina

Método.

- A) tomar con el asa una pequeña porción de la colonia bacteriana en un portaobjetos, agregar una gota de agua y dejar secar
 - B) aplicar (1) durante 60 segundos y lavar con agua
 - C) agregar (2) durante 60 segundos y enjuagar con (3) y después con agua
 - D) agregar (4) durante 60 segundos y enjuagar con agua
- Catalasa

Determina la capacidad de los microorganismos para liberar O_2 a partir de peróxido de hidrógeno por degradación enzimática (catalasa).

Solución:

(1) H_2O_2 al 30%

Método:

- A) tomar con el asa una pequeña porción de la colonia bacteriana en un portaobjetos
 - B) con un gotero o un pipeta Pasteur agregar una gota de (1)
 - C) observar de inmediato la formación de burbujas (liberación de gas)
- Citrato

Determina la capacidad de un microorganismo para utilizar como fuente única de carbono, en su metabolismo, el citrato.

Medio:

(1) citrato de Simmons

Método:

- A) Preparar el medio según las indicaciones en tubos enclinados
 - B) Sembrar las bacterias con una asa
 - C) incubar a $37^\circ C$ durante 24 hrs.
- Indol

Determina la capacidad de un microorganismo para producir indol a partir del triptofano presente en el agua peptona.

Medio:

(1) medio sim

soluciones:

(2) reactivo de erlich

(3) cloroformo

Método:

- A) se prepara el medio según las indicaciones
- B) las bacterias se siembran por punción

- C) se incuba a 37°C durante 24 hrs.
- D) Se agregan 5 gotas de (2) y 1 ml de (3)
- E) Se observan resultados
- Rojo de metilo

Determina la capacidad de un microorganismo para producir ácido en caldo dextrosa fosfatado.

Medio:

- (1) medio de Clark y Lubs (caldo RM/VP)
- (2) rojo de metilo

Método:

- A) Preparar el medio según las indicaciones
- B) Las bacterias se siembran diluyéndolas en el medio
- C) Se incuban a 37°C de 48 a 72 hrs
- D) Se agregan en los tubos cinco gotas de (2) y observar el cambio de color
- Nitratos

Determina la capacidad de un microorganismo para reducir los nitratos a nitritos, a nitrógeno gas o hidroxilamina.

Reactivos:

- (1) ácido acético al 30% + alfa- naftilamina 0.5%
- (2) ácido sulfanílico 0.8%

Método:

- A) en bacterias previamente sembradas en Agar MC se agrega directamente al cultivo 1 ml de (1) y 1 ml (2) y se observa el cambio de color
- Oxidasa

Determina la presencia de las enzimas de oxidasa.

Reactivo:

- (1) reactivo de Kovacs: diclorhidrato de tetrametil - -fenilendiamina al 1%

Método:

A) en bacterias previamente sembradas en Agar MC se agrega directamente al cultivo 1 ml de (1) y se observa el cambio de color

- Ureasa

Determinar la capacidad de un microorganismo para producir ureasa que transformará la urea en amoníaco.

Medio:

(1) Caldo de urea Broth (Difco Laboratories Detroit Michigan, USA)

Método:

A) preparar el medio en tubos según las indicaciones

B) sembrar por dilución con una asa las bacterias

C) incubar a 37°C durante 24 hrs.

- Movilidad

Método de gota pendiente:

A) en un cubreobjetos tomar con el asa una pequeña porción de bacterias y agregar una gota de agua poner encima un portaobjetos unido en los extremos por bolitas de plastilina y voltear

B) observar al microscopio óptico si las bacterias tienen movilidad

- Oxidación – fermentación

Determinar el metabolismo oxidativo o fermentativo de un hidrato de carbono.

Medio:

(1) medio básico de OF de Hugh y Leifson

Método:

A) por cada bacteria se prepararon dos tubos con el medio según las indicaciones

B) en un tubo la bacteria se sembró por punción y se le agrego 1 ml aceite mineral tapándose el tubo

C) en el otro tubo se sembró la bacteria y se destapo el tubo

D) se incuban a 37°C por 24 hrs.

- Licuefacción de la gelatina

Determinar la capacidad de un organismo de producir enzimas de tipo proteolítico (gelatinasas) que licuan la gelatina.

Medio:

(1) gelatina nutritiva

Método:

- A) se prepara el medio según las indicaciones
 - B) se toma con el asa una porción de la colonia bacteriana y se siembra por punción
 - C) se incuba a 37°C por 24 hrs
 - D) trascurrido este tiempo se mete al refrigerador durante una hora y se observan los resultados
- Reacciones en agar triple azúcar

Determinar la capacidad de un organismo de atacar un hidrato de carbono específico incorporado en un medio de crecimiento básico, con producción o no de gases, junto con la determinación de posible producción de (SH)₂.

Medio:

(1) agar hierro Kligler

Método:

- A) el medio se prepara según las indicaciones en tubos de manera horizontal
- B) se siembran las bacterias y se incuban a 37°C por 24 hrs.

MEDIO	TIPO	FUNCIÓN
Agar Mueller Hinton	Enriquecimiento ⁽¹⁾	Utilizado para favorecer el crecimiento de bacterias gram negativas
Agar Mac Conkey.	Diferencial ⁽²⁾	Diferencia microorganismos fermentadores de lactosa (gram negativos)
Agar Sal Manitol	Selectivo ⁽³⁾	Favorece el crecimiento de estafilococos

Método para preparar la suspensión bacteriana.

1.- Se preparan 20 ml de la suspensión bacteriana a 10^8 UFC según la escala de Mc Farland

2.- Se prepara H_2SO_4 y $BaCl_2$ al 1 % y se mezclan para obtener 0.5 de UFC en 20 ml

4.-Técnica histológica para cortes en tallo.

Esta técnica se realiza con ejemplares vivos o preservados sin necesidad de llevar a cabo un procedimiento más complejo. En este caso los tejidos vegetales fueron fácilmente estudiados en vivo ya que conservaron su estructuración celular. Ésta técnica se llevo a cabo siguiendo las recomendaciones de Aguilar (1998)

- A) Se utilizaron tallos cuyo diámetro no sobrepaso 1.5 cm (que estén en periodo de crecimiento)
- B) Se cortaron en tamaños de 3 a 4 cm de longitud con la ayuda de una navaja de rasurar. Se hicieron cortes libres, con un solo movimiento de navaja (transversal), a manera de guillotina de afuera hacia adentro seleccionando los cortes más delgados y dejándolos en una caja petri con agua.
- C) El mejor corte se colocó en un portaobjetos con safranina durante 5 min. Se retiró el exceso de colorante y se montó en gelatina incolora, para posteriormente observarlos al microscopio.

5.- Determinación de la concentración de sacarosa en lígulas de *Gerbera jamesonii* cv. *Dalman* con el método de antrona ácida (Stefan y Gray, 1990)

Se tomó 1g de tejido fresco de lígulas, al día 0, 3, 5, 7 y 10 para determinar la concentración de sacarosa, las muestras se maceraron con agua destilada. Las soluciones utilizadas fueron: KOH 30% (p/v), reactivo de antrona (se disuelven 150 mg de antrona en 100 ml de H₂SO₄ 70% (v/v) quedando la solución de color amarillo) y sacarosa 1mg/ml.

Preparación de la curva de calibración.

1. Se pipeteo 20,40,60,80 y 100 µL de la solución estándar de sacarosa, en tubos por duplicado, se llevaron a un volumen de 100 µL con agua destilada, para los tubos problema se pipeteo 20µl del macerado de las lígulas.
2. Se añadió 100 µL de KOH al 30% en cada tubo y se mezcló.
3. Los tubos se cubrieron con aluminio y fueron puestos en baño maria durante 10 minutos, dejándose enfriar posteriormente.
4. Se añadió 3 ml del reactivo de antrona al primer tubo y se mezcló para ponerlo en baño maria a 40°C durante 20 minutos, exactamente 2 minutos después se repitió el proceso con el siguiente tubo y así sucesivamente.
5. La absorbancia del tubo que contenía 100 µL de la solución estándar de sacarosa fue aproximadamente de 1.1 ± 0.1 a 620 nm.
6. Se hizo la curva de calibración de las concentraciones de sacarosa mg/mL.
7. Finalmente se leyeron las soluciones de los tubos con un Espectrofotómetro UV – VIS 1201 Shimadzu.