CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

PROGRAMA DE POSGRADO EN AGROPLASTICULTURA

NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE CALCIO EN LA VIDA POSCOSECHA DE GERBERA (*Gerbera jamesonii* L.)

TESIS

MAESTRIA EN CIENCIAS EN AGROPLASTICULTURA

Presenta:

Alberto García González.

Asesores:

Dra. Lluvia de Abril Alexandra Soriano Melgar.

Dr. René Darío Peralta Rodríguez.

Saltillo, Coahuila de Zaragoza. Diciembre, 2020.

CONACYT
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

Programa de Maestría en Ciencias en Agroplasticultura

Saltillo, Coahuila a 16 de diciembre de 2020

Coordinación de Posgrado

P R E S E N T E

Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de tesis preparado por **ALBERTO GARCÍA GONZÁLEZ** titulado " Nanopartículas de óxido de calcio en la vida poscosecha de gerbera (*Gerbera jamesonii* L.)", el cual fue presentado el día 16 de diciembre de 2020, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento corresponde a la versión final del documento de tesis.

Atentamente,

SINODALES

Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernández
Presidente

Dra. Ileana Vera Reyes
Secretario

Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar
Vocal

Vo. Bo. de los Asesores

Dra. Lluvia de Abril A. Soriano Melgar

Dr. René Darío Peralta Rodríguez

TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN AGROPLASTICULTURA

AUTOR: ALBERTO GARCÍA GONZÁLEZ **FIRMA** _____

TITULO: Nanopartículas de óxido de calcio en la vida poscosecha de gerbera (*Gerbera jamesonii* L.).

ASESORES: Dra. Lluvia de Abril A. Soriano Melgar **FIRMA** _____

Dr. René Darío Peralta Rodríguez **FIRMA** _____

El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 16 **de** Diciembre **de** 2020

CENTRO DE INVESTIGACION EN QUIMICA APLICADA

Sello de la Institución

Dr. Oliverio Santiago Rodríguez Fernández
Director General del CIQA

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Ciencias en Agroplasticultura

TESIS

Nanopartículas de óxido de calcio en la vida poscosecha de gerbera (Gerbera jamesonii L.)

Presentada por:

ALBERTO GARCÍA GONZÁLEZ

Para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Agroplasticultura

Asesorado por:

Dra. Lluvia de Abril Alexandra Soriano Melgar
Dr. René Darío Peralta Rodríguez

SINODALES

Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernández
Presidente

Dra. Ileana Vera Reyes
Secretario

Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar
Vocal

Saltillo, Coahuila. México. **Diciembre, 2020**

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Ciencias en Agroplasticultura

TESIS

Nanopartículas de óxido de calcio en la vida poscosecha de gerbera (*Gerbera jamesonii* L.)

Presentada por:

ALBERTO GARCÍA GONZÁLEZ

Para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Agroplasticultura

Asesorado por:

Dra. Lluvia de Abril Alexandra Soriano Melgar
Dr. René Darío Peralta Rodríguez

Saltillo, Coahuila. México. **Diciembre, 2020**

DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la Parte Experimental así como en la Parte de Resultados y Discusiones de este documento y que forman parte de las actividades de investigación y desarrollo realizadas durante el período que se me asignó para llevar a cabo mi trabajo de tesis, será propiedad del Centro de Investigación en Química Aplicada.

Saltillo, Coahuila a 16 de diciembre de 2020

ALBERTO GARCÍA GONZÁLEZ

Nombre y Firma

RESUMEN

Las flores de gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) se posicionan entre las cinco flores de corte más importantes del comercio mundial, debido a su atractiva apariencia. La vida de poscosecha de las flores de gerbera es típicamente corta (1-4 semanas dependiendo del cultivar) debido a la flexión del tallo, la cual es crítica en la determinación de su valor comercial y vida útil. Por lo anterior, este proyecto tuvo como objetivo evaluar la eficacia de soluciones florero a base de nanopartículas de óxido de calcio (CaO-NP) en flores de gerbera (*Gerbera jamesonii* variedad 'Forza'). Los tratamientos empleados fueron: control negativo (solo agua), control benéfico (solución de cloruro de calcio $CaCl_2$, a 2,000 ppm o 0.2 %), glicerol al 0.1 %, 50 ppm de CaO-NP, 100 ppm de CaO-NP y 150 ppm de CaO-NP. Se evaluaron diferentes parámetros cada tres días durante 18 días de almacenamiento, los cuales se enfocaron en los principales atributos físicos y de calidad de las flores de gerbera. Los resultados obtenidos muestran un efecto positivo de los tratamientos de CaO-NP sobre la curvatura del pedicelo, modificando la firmeza de esta zona del tallo y disminuyendo la pérdida de peso del tallo floral completo. Por otro lado, no se encontraron cambios en las características bioquímicas y antioxidantes en tejidos de tallo y pétalos por la aplicación de CaO-NP. Además, se encontró que los tratamientos de CaO-NP disminuyeron el número de microorganismos en las soluciones florero durante los primeros días de almacenamiento. La aplicación de calcio (Ca) en forma de CaO-NP tiene la ventaja de que se requiere en menor cantidad en comparación con un producto comúnmente empleado ($CaCl_2$ al 0.2 %) como conservador de flores de corte, dando resultados similares para las variables antes mencionadas. Por lo que el tratamiento con las CaO-NP aplicadas en soluciones florero puede considerarse como una alternativa para mantener la calidad y vida de poscosecha de las flores de gerbera

Palabras clave: *Gerbera jamesonii L., flores de corte, tratamientos poscosecha, soluciones florero, vida útil.*

ABSTRACT

Gerbera flowers (*Gerbera jamesonii* L.) are positioned among the five most important cut flowers in world trade due to their attractive appearance. The postharvest life of gerbera flowers is typically short (1-4 weeks depending on the cultivar) due to stem bending, which is critical in determining their commercial value and shelf-life. Therefore, this project aimed to evaluate the efficacy of vase solutions based on calcium oxide nanoparticles (CaO-NP) in gerbera flowers (*Gerbera jamesonii* cv. 'Forza'). The treatments applied were: negative control (water only), positive control ($CaCl_2$, calcium chloride solution at 2,000 ppm or 0.2 %), 0.1 % glycerol, 50 ppm CaO-NP, 100 ppm CaO-NP and 150 ppm CaO-NP. Different parameters were evaluated every three days during 18 days of storage, which focused on the main physical and quality attributes of the gerbera flowers. The results obtained show a positive effect of CaO-NP treatments on the curvature of the pedicel, modifying the firmness of this area of the stem and decreasing the weight loss of the whole flower stem. On the other hand, no changes in biochemical and antioxidant characteristics were found in stem and petal tissues by the application of CaO-NP. In addition, it was found that CaO-NP treatments decreased the number of microorganisms in the vase solutions during the first days of storage. The application of calcium (Ca) in the form of CaO-NP has the advantage that it is required in less quantity compared to a product commonly used (0.2 % $CaCl_2$) as a cut flower preservative, giving similar results for the variables mentioned above. Therefore CaO-NP applied in vase solutions can be considered as an alternative to increase the quality and postharvest of gerbera flowers.

Keywords: *Gerbera jamesonii L., cut flowers, postharvest treatments, vase solutions, shelf-life.*

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de Maestría.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada y cada uno de sus integrantes, por el apoyo brindado durante mi formación profesional en la institución.

Al proyecto número 314907 denominado "Apoyo para acciones de mantenimiento de infraestructura científica laboratorio nacional de micro y nanofluídica - LABMYN 2020" por el financiamiento de este trabajo de tesis.

A mis Asesores de Tesis, Dra. Lluvia de Abril Alexandra Soriano Melgar y Dr. René Darío Peralta Rodríguez por su incondicional apoyo, disponibilidad, dedicación, tiempo y conocimientos compartidos que me permitió enriquecer mi formación profesional durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.

A mis Sinodales por enriquecer este trabajo de tesis con sus comentarios, sugerencias y correcciones durante la revisión del presente.

A mis padres, Antonia González García y Alberto García Blancas, por haberme apoyado incondicionalmente en todo momento, por sus consejos y palabras de aliento.

A mi esposa e hijo, Citlali Valeria Espinosa Nava por darme todo su apoyo y amor, así como su paciencia para concluir con esta meta, y mi hijo Oziel Alberto García Espinosa por ser siempre mi inspiración, motivación y orgullo en la vida.

DEFINICIONES

Curvatura: “f. Cualidad de curvo. f. Desviación continua de la línea curva respecto de una línea recta”.

Doblez: “m. o f. Parte que se dobla o pliega en una cosa. U. menos c. f”.

Escapo: “En Botánica, (del lat. *scapus*, tallo de las plantas) el escapo floral es el tallo que está desprovisto de hojas y presenta las flores en el ápice”.

Flexión: “f. Acción y efecto de doblar el cuerpo o algún miembro”.

Pedicelo: “Soporte delgado y alargado que sostiene una sola flor o un solo fruto”.

Pedúnculo: “En botánica se llama pedúnculo o pedicelo”. “Tiene la estructura de un tallo y es responsable de la sustentación y conducción de la savia a las flores”.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS.....IV
ÍNDICE DE FIGURAS V

I. INTRODUCCIÓN..... 1
I.1. Floricultura. 1
I.2. Gerberas. 2
I.3. Problemas en la vida poscosecha de las flores de corte. 2
I.4. Tratamientos poscosecha. 3
I.4.1. Soluciones florero. 3
I.4.1.1. Soluciones con calcio. 4
I.5. Mecanismos de acción del calcio implicados en la poscosecha de flores..... 5
I.6. Nanopartículas en la floricultura. 6
I.7. Nanopartículas de calcio. 6
I.7.1. Nanopartículas de óxido de calcio. 7
II. HIPÓTESIS 9
III. OBJETIVOS 10
III.1. Objetivo general. 10
III.2. Objetivos particulares. 10
IV. MATERIALES Y MÉTODOS 11
IV.1. Material vegetal. 11
IV.2. Preparación de las dispersiones de nanopartículas de óxido de calcio. 12
IV.3. Tratamientos. 12
IV.4. Parámetros físicos, de calidad visual y vida poscosecha. 14
IV.4.1. Vida de florero. 14
IV.4.2. Consumo de agua. 14
IV.4.3. Curvatura del pedicelo (°). 14
IV.4.4. Firmeza del escapo. 14
IV.4.5. Parámetros de calidad mediante escalas arbitrarias. 15

IV.4.6. Presencia visual de cenicilla polvorienta. 17
IV.4.7. Pérdida de peso. 17
IV.4.8. Diámetro de la flor. 18
IV.4.9. Color. 18
IV.5. Parámetros bioquímicos y antioxidantes. 18
IV.5.1. Clorofilas *a, b* y totales. 18
IV.5.2. Compuestos fenólicos totales. 19
IV.5.3. Capacidad antioxidante total. 20
IV.6. Efecto de las nanopartículas de óxido de calcio en el tallo de la flor mediante microscopia electrónica de barrido (SEM). 20
IV.7. Conteo de bacterias en las soluciones florero. 21
IV.8. Diseño experimental y análisis estadístico. 21
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES 23
V.1. Efecto de las nanopartículas de óxido de calcio sobre parámetros físicos, de calidad visual y vida poscosecha. 23
V.1.1. Vida de florero. 23
V.1.2. Consumo de agua. 24
V.1.3. Curvatura del pedicelo. 26
V.1.4. Firmeza del escapo. 29
V.1.5. Parámetros de calidad mediante escalas arbitrarias. 32
V.1.5.1. Escala de deshidratación y/o pérdida de la turgencia. 32
V.1.5.2. Síntomas de marchitamiento y/o cambio de color (oscurecimiento). 33
V.1.5.3. Calidad general. 35
V.1.6. Presencia visual de cenicilla polvorienta. 37
V.1.7. Porcentaje de pérdida de peso. 39
V.1.8. Diámetro de la flor. 41
V.1.9. Color. 44
V.2. Efecto sobre parámetros bioquímicos y antioxidantes. 47
V.2.1. Clorofilas *a, b* y totales. 47

V.2.2. Compuestos fenólicos totales. 50
V.2.3. Capacidad antioxidante total. 51
V.3. Efecto de las nanopartículas de óxido de calcio en el tallo de la flor mediante Microscopia Electrónica de Barrido (SEM). 55
V.4. Efecto de las nanopartículas de óxido de calcio sobre la carga bacteriana en las soluciones florero. 57
V.4.1. Conteo de bacterias en las soluciones florero. 57
VI. CONCLUSIONES 60
VII. PERSPECTIVAS 61
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 62
IX. ANEXOS 74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Representación del color de los pétalos de flores de gerbera sometidas a diferentes tratamientos, evaluados a partir de los valores L, *a** y b*. 43

Tabla 2. Carga microbiológica de las diferentes soluciones florero y días evaluados. 53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. (A) Empaque para la protección de las flores de gerbera al ser transportadas; (B) flores antes de sacarlas del empaque; (C) mantenimiento de las flores en agua purificada hasta la aplicación de los tratamientos. 11

Figura 2. (A) Corte del tallo dentro de la solución florero para evitar embolia aérea; (B) floreros utilizados para el experimento; (C) condiciones de almacenamiento de las flores durante su vida poscosecha. 13

Figura 3. Escala arbitraria considerada para la evaluación del cambio en la turgencia o deshidratación de la flor de gerbera. 15

Figura 4. Escala arbitraria considerada para la evaluación de los síntomas de marchitamiento y/o cambios de color (oscurecimiento) en flores de gerbera. 16

Figura 5. Escala arbitraria considerada para la evaluación de la calidad visual total de la flor de gerbera. 16

Figura 6. Escala arbitraria considerada para la evaluación de la presencia visual de cenicilla en flores de gerbera. 17

Figura 7. Consumo de agua (%) en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C..... 25

Figura 8. Curvatura del pedicelo en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C..... 27

Figura 9. Firmeza del escapo en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C..... 30

Figura 10. Escala de deshidratación en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C..... 32

Figura 11. Escala de cambio de color/daño en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. 34

Figura 12. Escala de calidad general en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C..... 36

Figura 13. Presencia visual de cenicilla en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. 38

Figura 14. Porcentaje de pérdida de peso (% PP) en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. 40

Figura 15. Diámetro de las flores de gerbera (%) tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C..... 42

Figura 16. Color en (A) luminosidad (L); (B) *a** y (C) *b** de las flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C.. 45

Figura 17. Clorofilas (A) *a*, (B) *b* y (C) totales (µg g^{-1} de tejido fresco) de tallos gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. 49

Figura 18. Compuestos fenólicos totales (mg EAG g^{-1} de tejido fresco) en (A) tallo y (B) pétalos de flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. 51

Figura 19. Capacidad antioxidante total (µmoles EAG g^{-1} de tejido fresco) en (A) tallo y (B) pétalos de flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. 53

Figura 20. Presencia de nanopartículas de óxido de calcio en tres regiones del tallo de flores de gerbera tratadas con CaO-NP 100 ppm durante 24 horas a 25 °C..... 56

I. INTRODUCCIÓN

I.1. Floricultura.

La floricultura como rama de la horticultura relacionada con el crecimiento, manejo, mantenimiento y comercialización de plantas ornamentales, se ha convertido en una industria de rápido crecimiento debido a la urbanización y al aumento del nivel de vida de las personas, haciendo de la floricultura una de las actividades comerciales más importantes en la agricultura (Wani *et al.,* 2018). También puede definirse como "una disciplina de horticultura relacionada con el cultivo de florales y plantas ornamentales para jardines y para la floristería, que comprende la industria floral" (Getu, 2009).

En la comercialización de flores a nivel mundial participan gran cantidad de países, ya sea como importadores o como exportadores. Casi la mitad de las exportaciones mundiales provienen de Holanda (Países Bajos), Colombia en segundo lugar y el resto de los países que destacan son: Alemania, Bélgica, Italia, Ecuador y Kenia (Ramírez *et al*., 2017). En términos de importaciones, Alemania es el principal comprador, representando alrededor del doble de los siguientes países: Estados Unidos de América, Holanda, Reino Unido y Francia (Ramírez *et al*., 2017). Dentro de las flores de mayor demanda e importancia económica destacan las rosas, los crisantemos, los tulipanes, los claveles, los lilium y las gerberas. Así, las flores de gerbera se posicionan entre las cinco flores de corte más importantes del comercio mundial (Deng y Bhattarai, 2018).

La floricultura es una de las actividades agrícolas con mayor rentabilidad en México, y el país tiene la capacidad de ser potencia exportadora en este rubro (Tejeda *et al*., 2015). En este país, la floricultura es considerada una de las actividades del sector agrícola, que es generadora de altos ingresos en comparación a cultivos tradicionales y de baja productividad (Ramírez *et al.,* 2017). En México, la producción de flores demanda mucha mano de obra, generando 188 mil empleos directos y 50 mil eventuales dependiendo de la temporada, así como, más de un millón de trabajos indirectos anualmente

(SAGARPA, 2018). SAGARPA (2015) reporta que, para nuestro país, las flores de mayor importancia económica son la rosa (*Rosa* sp.) seguida de la gerbera.

I.2. Gerbera.

La gerbera es nativa de Transvaal (África del Sur), nombrada así en honor al botánico alemán Trangott Gerber (Herreros, 1975). Pertenece a la familia de las Asteraceae, herbácea, vivaz, de crecimiento en roseta, cuyo cultivo puede durar varios años, aunque comercialmente solo interesa cultivarla durante dos o tres años, según las variedades y las técnicas de manejo empleadas (Soroa, 2005). El género *Gerbera* comprende numerosas especies (*G. jamensonii, G. viridifolia, G. asplenifolia, G. kunzeana,* por mencionar algunas), siendo más comercializada y extendida *G. jamensonii* (Arce *et al.,* 2017).

Gerbera es una de las flores de corte más importantes, que ha crecido con éxito bajo diferentes condiciones climáticas en varias regiones del mundo y que cumple con las exigencias de varios mercados. Este éxito se debe principalmente a la amplia gama de colores y formas de la flor (Singh *et al.,* 2017). Las flores de gerbera son muy populares y comercializadas en todo el mundo, además, debido a su atractiva apariencia, excelentes caracteres agronómicos como el diámetro floral, la longitud del tallo y el vigor, su capacidad de desarrollarse bajo diferentes climas y su larga vida poscosecha (Minerva y Kumar, 2012; Hema *et al.,* 2018).

I.3. Problemas en la vida poscosecha de las flores de corte.

Las flores cortadas presentan una vida de florero muy reducida, la cual depende de la variedad, debido a que son productos altamente perecederos y su vida útil debe prolongarse al máximo para garantizar la fidelidad de los consumidores (Senapati *et al.,* 2016). La corta vida poscosecha de las flores de ornato está relacionada con el marchitamiento, el bloqueo vascular por aire o microorganismos y la producción de etileno (Sudaria *et al.,* 2017). Sin embargo, en particular las flores de gerbera no son susceptibles al etileno (Woltering y Van Doorn, 1988; Reid, 1989), y su vida poscosecha se ha logrado ampliar de 3 días hasta 21 días debido a las nuevas y mejoradas variedades (Deng y Bhattarai,

2018). Por lo que la vida poscosecha de la gerbera depende mucho de la variedad. Por lo anterior, otros factores importantes a considerar durante la poscosecha de las flores de corte son el potencial genético de la variedad de la flor, la temperatura y condiciones de almacenamiento (In *et al.,* 2016). Ya que, un mal manejo y almacenamiento puede incrementar la senescencia y marchitamientos de las flores de corte. La senescencia de las flores se presenta mediante la curvatura del vástago, la cual se produce durante el primer período de vida de florero y es un problema importante en la gerbera (Naing *et al.,* 2017). Por lo que, un ángulo de la flor por arriba de 45° denota el fin de la vida útil de esta flor (Mentcarelli *et al.,* 1995). Además, el doblez del tallo se acompaña de la pérdida de la firmeza, pérdida de agua o deshidratación de las flores, pérdida de peso y pérdida de la calidad visual (Baas *et al.,* 1995).

La longevidad poscosecha de las flores de gerbera tiene una importancia crítica en la determinación de su valor comercial y, por lo tanto, existe demanda comercial para prolongar su vida útil poscosecha (Shabanian *et al.,* 2019). Es por ello que existe una gran necesidad de diseñar soluciones conservantes efectivas para las flores de gerbera y hacer frente a los trastornos fisiológicos y bioquímicos, y extender su período de comercialización (Shabanian *et al.,* 2019).

I.4. Tratamientos poscosecha.

I.4.1. Soluciones florero.

Una medida para ayudar a alargar la vida de florero se deriva de la adición de fuentes exógenas de microbiocidas o germicidas, carbohidratos y compuestos de sustancias acidificantes presentes en los conservantes florales comerciales, los cuales son aplicados en soluciones florero (Schmitt *et al.,* 2014). Las soluciones florero tienen la finalidad de proveer una cantidad adicional de azúcar, hidratar la flor, alargar la vida de las flores sensibles al etileno, aportar la energía que la flor requiere para mantenerse “viva” por más tiempo y, sobre todo, reducir el desarrollo de microorganismos en el tallo que pueden llegar a obstruir el paso del agua por taponamientos de los haces vasculares (Reid, 2009; Hema *et al.,* 2018).

En la actualidad, para prolongar la vida útil de las flores de corte existe una variedad de conservantes disponibles comercialmente, que se dividen en varios grupos según sus funciones: 1) agentes antibacterianos, los cuales incluyen a la 8-hidroxiquinolina (8-HQS), al nitrato de plata y a las nanopartículas (NP) de plata; 2) eliminadores de radicales libres, los cuales incluyen al benzoato de sodio, al ácido salicílico y al ácido ascórbico, y 3) los inhibidores de etileno, los cuales incluyen al tiosulfato de plata (STS) y al 2,5-norbornadieno (2,5-NBD) (Li *et al.,* 2018). Además de estas soluciones florero, también se aplican soluciones a base de calcio (Ca).

I.4.1.1. Soluciones con calcio.

Desde hace un par de décadas, se ha estudiado el uso de soluciones de Ca como soluciones florero para alargar la vida de las flores de corte. Esto se debe principalmente a que el Ca estabiliza la pared celular, ayudando a mantener la membrana celular y aumentando la rigidez y la firmeza. Además, se ha demostrado que el Ca aplicado en soluciones florero aumenta el flujo del agua debido a su asociación con la pectina de las paredes celulares que componen al xilema (Van Leperen y Van Gelder, 2006). Las aplicaciones de Ca generalmente se realizan a partir de soluciones con cloruro o lactato de Ca, las cuales en flores de gerbera han permitido modificar la vida de florero, logrando alcanzar alrededor de 24 días poscosecha (Geshnizjany *et al.,* 2014; Combrink, 2017). Geshnizjany *et al.* (2014) evaluaron los efectos del cloruro de Ca ($CaCl_2$), las NP de plata y sus combinaciones sobre flores cortadas de *Gerbera jamesonii* ‘Carambole’, demostrando que la combinación de tratamientos puede proporcionar un alto papel conservante que aumenta la vida en florero de las flores cortadas de gerbera. Además, se observó que estos dos tratamientos podrían prevenir eficazmente el trastorno del doblamiento de cuello y el bloqueo del tallo en esta planta ornamental; la vida poscosecha más larga de las flores se obtuvo cuando se aplicaron los tratamientos de 5 ppm NP de plata (15 días) y 5 ppm NP de plata + 1% $CaCl_2$ (13 días) (Geshnizjany *et al.,* 2014).

En otro trabajo realizado por González-Aguilar y Zavaleta-Mancera, (2012) probaron tres concentraciones de $CaCl_2$ (0.1, 0.5 y 1.0 %) en plantas de *Gerbera jamesonii* variedades 'Duela' y 'Shirlaine', en donde los autores reportaron que la concentración de 0.5 % fue el mejor tratamiento, aumentando la vida media florero hasta por 25 d para 'Duela' y 24 d para 'Shirlaine'. Perik *et al.* (2014) estudiaron el efecto del $CaCl_2$ aplicándolo como soluciones pulso en poscosecha durante 24 h en flores de gerbera cv. Tamara, reportando resultados favorables al retrasar el tiempo de flexión del tallo durante la vida de florero. En el mismo sentido, Combrink (2017) disminuyó la flexión del tallo con la solución florero de 24 meq L^{-1} $CaCl_2$, efecto que atribuye a que el Ca podría haber fortalecido el vástago, aumentando la resistencia a la flexión.

I.5. Mecanismos de acción del calcio implicados en la poscosecha de flores.

Uno de los principales trastornos fisiológicos que disminuyen la calidad de las flores de gerbera es el doblamiento o flexión del tallo; esta ocurre a nivel del cuello o del pedicelo, ambos se pueden llegar a presentar durante la poscosecha de las flores de gerbera, cuya diferencia radica en la altura del tallo en donde se presenta el doblez (Deng y Bhattarai, 2018). El uso de soluciones de Ca como soluciones florero ayuda a mitigar este problema (doblez o flexión del tallo), debido principalmente a que el Ca estabiliza la pared celular, ayudando a mantener la membrana celular y aumentando la rigidez y la firmeza (Combrik, 2017). Nikbakht *et al.* (2008) informaron que la acumulación de Ca en los escapos florales de gerbera es de gran importancia debido a que influye en la vida de poscosecha y en la incidencia del doblamiento del tallo.

El Ca es un macroelemento esencial que imparte rigidez estructural significativa a las paredes celulares de la planta, que proporcionan el soporte mecánico principal a toda la planta (Li *et al.,* 2012a). El Ca puede incrementar la vida poscosecha de flores de corte, debido a que ocasiona un retraso de los eventos fisiológicos relacionados con la senescencia, tales como: disminución en la absorción de agua, mayor pérdida de transpiración de agua, disminución del peso fresco, flexión del tallo o la prevención de enfermedades durante la propagación (Sosa, 2007).

I.6. Nanopartículas en la floricultura.

En los últimos años se ha incursionado en la aplicación de NP en soluciones florero. Shafiee-Masouleh (2018) menciona que las principales NP que se emplean en soluciones florero y han tenido buenos resultados en las flores de gerbera en poscosecha son las NP de plata. Li *et al.* (2012b) evaluaron el efecto antibacteriano de las NP de plata aplicadas como soluciones pulso en la vida poscosecha de Rosa cv. 'Movie star', reportando que el tratamiento NP de plata a 50 ppm durante 1 h disminuyó significativamente el bloqueo vascular relacionado con bacterias. En el mismo sentido, Salas-Solís *et al.* (2018) estudiaron el efecto de la sacarosa y ácido cítrico en soluciones con NP de plata en la vida de florero de *Rosa hybrida* cv. 'Freedom', reportando que el tratamiento de NP de plata 1 ppm y ácido cítrico (pH 3) generó la vida de florero más prolongada y el mayor consumo de agua además del mayor peso fresco relativo.

De igual modo, El-Serafy *et al.* (2019) estudiaron el efecto de las NP de silicio (Si) sobre la longevidad y la calidad poscosecha de la rosa cortada 'Gold Star', empleando los tratamientos de 0, 1, 2 y 3 ppm, reportando que las Si-NP lograron incrementar la vida poscosecha y, en especial, el tratamiento de 2 ppm maximizó la longevidad y mejoró la calidad poscosecha de las rosas cortadas. Recientemente, se ha comenzado a indagar sobre el uso de NP de Ca (Ca-NP) en diferentes productos poscosecha.

I.7. Nanopartículas de calcio.

En el caso de las Ca-NP, se han estudiado desde hace algunos años. En un estudio reciente se aplicaron Ca-NP y Ag-NP en concentraciones de hasta 40 ppm, siendo ésta la mejor concentración reportada para mantener por más tiempo la calidad poscosecha de flores de Alstroemeria (Samadzadeh, 2017). Cabe señalar que es el único reporte hasta el momento de la aplicación de Ca-NP en soluciones florero. Además, de que no se especifica el tamaño de la NP ni el compuesto de procedencia, ya que solo se hace mención a Ca-NP.

Por otro lado, se han llevado a cabo otras investigaciones de la aplicación de Ca-NP, tal es el caso de Ranjbar *et al*. (2019) quienes evaluaron el efecto de la fertilización foliar con Ca-NP comparado con $CaCl_2$ (fertilización convencional) previo a la cosecha de manzana (*Malus domestica* Borkh 'Red Delicious') en concentraciones de 0, 1.5 y 2.0 %, reportando que la mejor calidad y cantidad de fruta (rendimiento) se obtiene con los tratamientos de Ca-NP, en especial cuando se aplicó al 2 %. Nuevamente, en este estudio no se indica el nanocompuesto, solo se mencionan como Ca-NP.

En el mismo sentido, Lichanporn *et al.* (2019) evaluaron el efecto de NP de carbonato de Ca ($CaCO_3$) en la fruta de longkong (*Lansium domesticum*) para alargar la vida poscosecha. En otro trabajo realizado por Lo'ay y Ameer (2019), estudiaron el efecto de las Ca-NP para el alivio del ennegrecimiento interno de la fruta de mango cv. 'Hindi Be-Sennara', a baja temperatura; en donde no se especifica el nanocompuesto de Ca. Pero, al parecer el efecto es debido al uso de los antioxidantes y no a las NP. Cabe señalar que hasta el momento son los únicos trabajos encontrados sobre la aplicación de Ca-NP en pre- y poscosecha, los cuales en su gran mayoría no indican el origen de los nanocompuestos

I.7.1. Nanopartículas de óxido de calcio.

El óxido de Ca (CaO) es un compuesto inorgánico importante obtenido típicamente de la piedra caliza u otros materiales que contengan $CaCO_3$, ampliamente distribuido en todo el mundo y económico (CALCINOR, 2020). El CaO (*bulk* o partícula) se utiliza en muchas aplicaciones como la industria del cemento, la producción de biodiesel, los biosensores, la ingeniería de tejidos, la industria del petróleo, la iluminación eléctrica y la producción de energía (Chinthakuntla *et al.,* 2014). El CaO es de particular interés ya que se considera un material seguro para los seres humanos y los animales (Anantharaman *et al.,* 2016). Actualmente no existen regulaciones sobre el uso de CaO como aditivo alimentario, excepto en Estados Unidos Americanos (EUA), donde no se permite el uso de CaO en algunos productos como: miel, mantequilla, leche fermentada, etc. (Hoseinnejad *et al.,* 2017), por las modificaciones que genera en los

productos; mientras que en México es muy conocido el uso del CaO para la elaboración de productos nixtamalizados (Linares, 2009).

A escala nanométrica, las CaO-NP han encontrado varias aplicaciones como: catalizador de diversas transformaciones orgánicas (Safaei-Ghomi *et al.,* 2013), material adsorbente para capturar CO_2 a alta temperatura (Arpin y Yusup, 2011) y también como agentes antimicrobianos (Ro *et al.,* 2015). Las CaO-NP, pueden ser utilizadas como agentes antibacterianos en la industria de los alimentos, teniendo un potencial significativo para disminuir el contenido de microorganismos, en concentración de 100 ppm según Tang *et al.* (2013). Mientras que Ro *et al.* (2015) indicaron que el alto potencial de las CaO-NP en alimentos se debe a que puede evitar el desarrollo de microorganismos patogénicos.

Por todo lo anterior, este trabajo pretende determinar el efecto que tienen las CaO-NP aplicadas en soluciones florero sobre la calidad y vida poscosecha de flores de gerbera, en donde se espera que las NP modifiquen la firmeza y mantengan la calidad visual de éstas por más tiempo.

II. HIPÓTESIS

Las CaO-NP aplicadas en soluciones florero incrementarán la firmeza del pedicelo, mantendrán por más tiempo las características fisicoquímicas, de calidad visual y de poscosecha, modificarán la respuesta antioxidante y disminuirán el contenido microbiano, prolongando así la vida útil de las flores de gerbera.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general.

Evaluar el efecto de las CaO-NP aplicadas en soluciones florero sobre la vida y calidad poscosecha de flores de gerbera.

III.2. Objetivos particulares.

a) Determinar el efecto de las CaO-NP sobre parámetros físicos, de calidad y apariencia visual de las flores de corte de gerbera.
b) Medir el contenido de pigmentos en tallos (clorofilas) y color en flores (escala CIELab) para determinar el efecto de las CaO-NP sobre la pigmentación y/o color de las flores de gerbera.
c) Analizar el efecto de las CaO-NP sobre la respuesta antioxidante (compuestos fenólicos y capacidad antioxidante total) de tallos florales de gerbera en poscosecha.
d) Determinar el contenido de bacterias en las soluciones florero y determinar si los tratamientos de CaO-NP causan algún efecto inhibitorio a partir del conteo bacteriano.
e) Constatar la presencia o la ausencia de las CaO-NP en los haces vasculares del tallo de gerbera.
f) Evaluar si los tratamientos a base de CaO-NP aplicadas como soluciones florero aumentan la vida útil de las flores de gerbera.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Material vegetal.

Se obtuvieron flores de gerbera (*Gerbera jamesonii* variedad 'Forza') de productores de la localidad de Tenancingo, Guerrero, las cuales son desarrolladas bajo condiciones de invernadero y sistema de riego. Una vez cortadas las flores, éstas fueron protegidas con malla y celofán (Figura 1A), colocadas en agua y transportadas bajo condiciones de refrigeración (1-4 °C), a las instalaciones de CIQA el mismo día de corte. Una vez en el Laboratorio de Poscosecha, se llevó a cabo el retiro de la malla y el celofán (Figura 1B), así como la selección de las flores, las cuales, finalmente, fueron colocadas en agua purificada y mantenidas en frío (alrededor de 15 °C) hasta la aplicación de los tratamientos (Figura 1C).

Figura 1. (A) Empaque para la protección de las flores de gerbera al ser transportadas; (B) flores antes de sacarlas del empaque; (C) mantenimiento de las flores en agua purificada hasta la aplicación de los tratamientos.

IV.2. Preparación de las dispersiones de nanopartículas de óxido de calcio.

Las NP fueron adquiridas en la empresa Sigma Aldrich con características de diámetro de partícula <160 nm y 98 % de pureza, comercializadas como CaO-NP (Merck, 2020a). Las CaO-NP no son solubles, además de que tienden a precipitar, por lo que se llevó a cabo su estabilización mediante diferentes productos químicos, siendo el glicerol a 0.1 % el que permitió mantener a las CaO-NP más estables durante al menos 72 h (periodo de seguimiento del diámetro de partícula). El valor del diámetro de partícula promedio fue de 249.6 nm durante el periodo evaluado.

Para la preparación de las dispersiones utilizadas como soluciones florero, se mezclaron las CaO-NP con glicerol al 0.1 %, posteriormente se adicionó agua desionizada y nuevamente se mezcló por agitación. Finalmente, estas dispersiones fueron utilizadas como soluciones florero para los diferentes tratamientos y se consideró un control adicional con glicerol (0.1 %) para determinar si este estabilizante tiene o no efectos sobre las flores de corte.

IV.3. Tratamientos.

Los tratamientos fueron los siguientes: (1) control negativo (solo agua destilada), (2) control positivo (solución de $CaCl_2$ a 2,000 ppm o 0.2 %), (3) glicerol al 0.1 % (control del estabilizante), (4) 50 ppm de CaO-NP, (5) 100 ppm de CaO-NP y (6) 150 ppm de CaO-NP. Estos fueron considerados a partir de pruebas preliminares, en donde el uso de $CaCl_2$ al 2 % o 20, 000 ppm y glicerol al 0.1 %, cuya concentración generó daños considerables y una rápida pérdida de la vida poscosecha de las gerberas; mientras que las flores tratadas con CaO-NP (50, 100 y 150 ppm) mantuvieron su calidad por más tiempo. Es por lo anterior que se disminuyó la concentración de $CaCl_2$ en el experimento final.

Los tallos florales una vez dentro de las soluciones florero, recibieron un nuevo corte en diagonal con ayuda de unas tijeras afiladas, las cuales fueron previamente colocadas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.05 % y enjuagadas con agua destilada. El corte bajo el agua se realizó para evitar la

embolia aérea y permitir el flujo de la solución florero a través del tallo (Figura 2A). Así mismo, las tijeras fueron lavadas con detergente líquido comercial entre tratamientos.

Las flores fueron colocadas de forma individual en floreros (vaso con tapa y perforación) de 300 mL, conteniendo 250 mL de cada solución correspondiente. Los floreros fueron etiquetados por tratamiento y se colocó un plástico de protección alrededor del tallo, para evitar heridas en los tallos florales de gerbera. Todas las flores en los floreros se mantuvieron en almacenamiento a temperatura ambiente (25 ± 1.5 °C) por 18 días, con un fotoperiodo de 16 h luz a una intensidad de luz de 31.81 µmol m^{-2} s^{-1} de radiación, para tal motivo se emplearon lámparas fluorescentes con luz blanca y fría (Figuras 2B y 2C). Los floreros se colocaron sobre las mesas de trabajo en bloques al azar y las muestras fueron colectadas cada 3 días (0, 3, 6, 9, 12, 15 y 18 días de almacenamiento), también al azar.

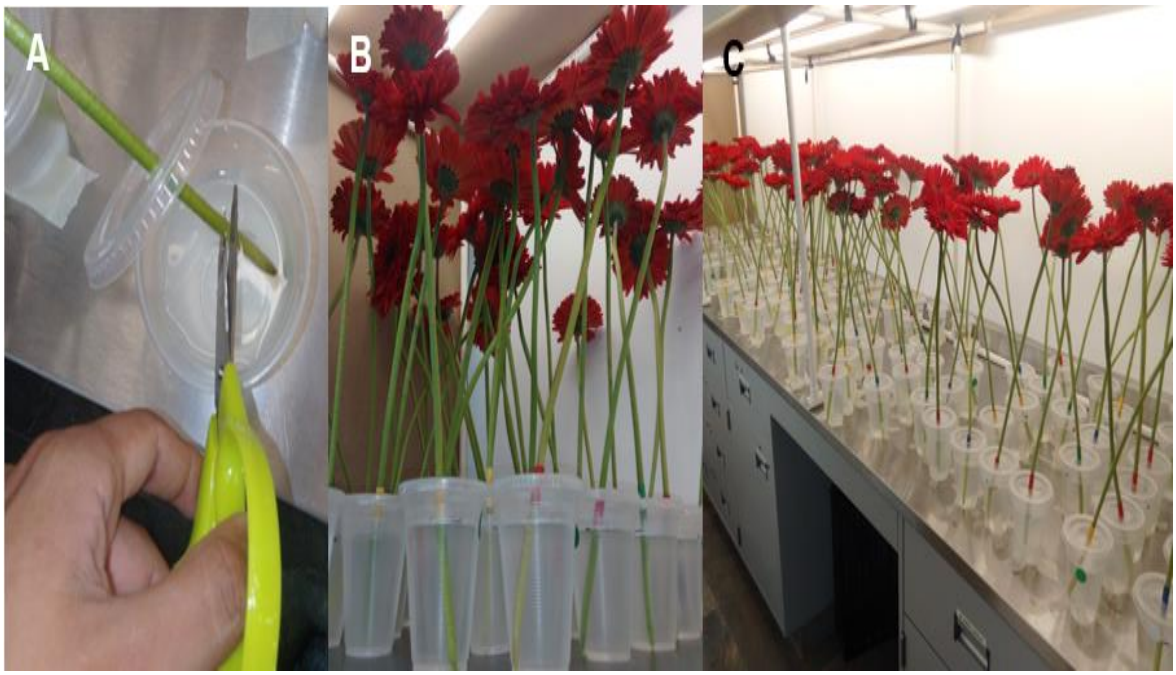

Figura 2. (A) Corte del tallo dentro de la solución florero para evitar embolia aérea; (B) floreros utilizados para el experimento; (C) condiciones de almacenamiento de las flores durante su vida poscosecha.

Los parámetros considerados para analizar fueron: vida de florero y consumo de agua, curvatura del pedicelo, firmeza del escapo, diámetro de la flor, parámetros de calidad visual mediante escalas arbitrarias (pérdida de la turgencia o deshidratación, síntomas de marchitamientos u oscurecimiento y calidad total), físicos, bioquímicos y antioxidantes, acción del Ca en los tallos florales y contenido microbiológico de las soluciones florero.

IV.4. Parámetros físicos, de calidad visual y vida poscosecha.

IV.4.1. Vida de florero.

Durante el periodo de almacenamiento se determinó la vida media de florero, la cual consistió en considerar los días de almacenamiento en donde al menos 50 % de las flores aún no presentaban síntomas de marchitamiento o senescencia, curvatura del pedúnculo y caída de pétalos.

IV.4.2. Consumo de agua.

El consumo de agua del escapo floral se determinó midiendo con una probeta el volumen de solución florero que había en los floreros de todas las repeticiones muestreadas correspondientes a cada tratamiento en cada día de muestreo. Los datos fueron reportados en porcentaje (%) de volumen de agua consumido a partir del volumen inicial de solución florero (250 mL).

IV.4.3. Curvatura del pedicelo (°).

Se determinó el ángulo de curvatura del escapo/pedicelo mediante un transportador, en donde 0° corresponderá a una flor totalmente erguida y 45° el fin de la vida poscosecha de las flores.

IV.4.4. Firmeza del escapo.

Esta prueba se realizó en la región apical del escapo, en donde se genera el doblez del cuello de la flor, mediante un texturómetro (Texture Technologies, TA.XT Express, EUA), el cual perforó en tres puntos equidistantes a una velocidad

de 1 mm s^{-1} a una distancia de 4 mm, con puntal de 2 mm de diámetro. Los resultados se reportaron como la fuerza de compresión en newtons (N). La distancia máxima se definió a 4 mm debido a que el diámetro del tallo es pequeño y el equipo puede llegar a marcar error en la lectura al sobrepasar la muestra.

IV.4.5. Parámetros de calidad mediante escalas arbitrarias.

Se realizaron escalas arbitrarias considerando los principales parámetros visuales de calidad que se perciben en la flor de gerbera: deshidratación y/o turgencia, síntomas de marchitamiento y/o cambios de color (oscurecimiento), y la calidad global. Para la turgencia o deshidratación de la flor (Figura 3), se empleó una escala del 5 al 1 dónde:

5.- Tejido fresco.

4.- Deshidratación ligera.

3.- Deshidratación moderada (*límite aceptable*).

2.- Deshidratación grave.

1.- Deshidratación extrema.

Figura 3. Escala arbitraria considerada para la evaluación del cambio en la turgencia o deshidratación de la flor de gerbera.

Para medir los síntomas de marchitamiento, generados por el oscurecimiento y/o cambios de color en la flor, se empleó una escala (Figura 4) del 5 al 1, dónde:

5.- Sin cambio.

4.- Cambio de color/oscurecimiento ligero.

3.- Cambio de color/oscurecimiento moderado (*límite aceptable*).

2.- Cambio de color/oscurecimiento grave.

1.- Cambio de color/oscurecimiento extremo.

Figura 4. Escala arbitraria considerada para la evaluación de los síntomas de marchitamiento y/o cambios de color (oscurecimiento) en flores de gerbera.

Para medir la calidad global de la flor de gerbera, se elaboró una escala arbitraria (Figura 5), igual que las anteriores, del 5 al 1, dónde:

5.- Sin cambios en calidad (excelente).

4.- Disminución de la calidad ligera.

3.- Disminución de la calidad moderada (*límite aceptable o comercial*).

2.- Disminución de la calidad grave (mala calidad).

1.- Disminución de la calidad extrema (pésima calidad).

Figura 5. Escala arbitraria considerada para la evaluación de la calidad visual total de la flor de gerbera.

IV.4.6. Presencia visual de cenicilla polvorienta.

Las flores de gerbera son susceptibles a la cenicilla o mildiú polvoriento, es una enfermedad fúngica cuyo agente causal son distintas especies de hongos, tales como: *Erysiphe, Podosphaera, Oïdium* y *Leveillula.* Estos hongos son biotróficos, lo que significa que se alimentan de células vegetales vivas (Koppert, 2020). Se puede identificar fácilmente por el crecimiento de hongos blanquecinos en forma de polvo en la superficie de las hojas y, si no se controla, aparece en los tallos y las flores (Mueller *et al.,* 2003). Al realizar los estudios preliminares se observó la presencia de esta enfermedad. Es por eso que se consideró como un parámetro de calidad visual, ya que afecta el aspecto de las flores. Para evaluar la presencia de cenicilla polvorienta en las flores de gerbera, también se empleó una escala arbitraria (Figura 6) del 5 al 1, en donde:

5.- Presencia visual de cenicilla nula *(excelente calidad comercial).*

4.- Presencia visual de cenicilla ligera.

3.- Presencia visual de cenicilla moderada *(limite aceptable o comercial).*

2.- Presencia visual de cenicilla grave.

1.- Presencia visual de cenicilla extrema *(pésima calidad comercial).*

Figura 6. Escala arbitraria considerada para la evaluación de la presencia visual de cenicilla en flores de gerbera.

IV.4.7. Pérdida de peso.

Fueron asignadas muestras independientes para cada tratamiento y se registró el peso (g) de los tallos florales cada día de muestreo mediante una

balanza analítica (OHAUS GT4100, Florham Park, NJ, EUA). Se tomó en cuenta el peso inicial (Pi) y peso final (Pf) durante todo el periodo de muestreo. Los datos se reportaron en porcentaje de peso de acuerdo a la ecuación (1):

$$\% \text{ pérdida de peso} = [(Pi-Pf)/Pi]*100 \qquad \textit{ecuación 1.}$$

IV.4.8. Diámetro de la flor.

Para la medición del capítulo floral de gerbera se utilizó un vernier digital (Caliper Accuracy, China). Se midió el diámetro de la circunferencia que forman los extremos de las lígulas del capítulo floral en mm. Los datos fueron reportados en porcentaje para determinar el cambio en el diámetro floral con respecto a su tamaño inicial de cada flor de gerbera.

IV.4.9. Color.

Se evaluó el color de las flores mediante un colorímetro manual (Hunterlab miniscan, MSEZ-4500L, EUA) en escala CIELab obteniendo las coordenadas de *L*, *a** y *b**. Estas coordenadas nos indican L=luminosidad, *a**= irisación de un eje de verde (-) a rojo (+) y *b**= irisación de un eje azul (-) a amarillo (+). Las lecturas se tomaron en la zona media de la flor, entre el centro del capítulo floral (evitando el área de los estambres) y el extremo de las lígulas, tomando tres lecturas por flor en lugares equidistantes. La evaluación de esta variable se realizó en todas las muestras experimentales.

IV.5. Parámetros bioquímicos y antioxidantes.

El tejido de la zona del tallo a emplear será la zona de la región del escapo. En el caso de la flor, las muestras a emplear serán únicamente los pétalos.

IV.5.1. Clorofilas *a, b* y totales.

La evaluación del contenido de clorofilas *a*, *b* y totales se determinó mediante la técnica descrita por Sumanta *et al.* (2014). Se pesaron 300 mg de las muestras (tallos) y se extrajeron los pigmentos con una solución de metanol al 80

%, se agitaron y se mantuvieron en incubación en frío (4 °C) y protegido de la luz por 24 h. Pasado el tiempo de incubación, las muestras se agitaron y posteriormente se centrifugaron para eliminar los restos de tejidos vegetales a 15,000 rpm por 10 min a 4 °C (Z 216 M, Hermle, Alemania). Las clorofilas (*a* y *b*) y totales pueden determinarse mediante espectrofotometría colorimétrica registrando la absorción a 652.4 y 665.2 nm, en un espectrofotómetro (modelo 7305®, Jenway, Londres). Las concentraciones de clorofila fueron calculadas mediante las siguientes ecuaciones:

$$C_a = 16.72\ A_{655.2} - 9.16\ A_{652.4} \qquad \textit{ecuación 2.}$$

$$C_b = 34.09\ A_{652.4} - 15.28\ A_{665.2} \qquad \textit{ecuación 3.}$$

$$\text{Cl total} = \text{Cl } a + \text{Cl } b \qquad \textit{ecuación 4.}$$

En donde C_a, C_b y Cl total representan las concentraciones de clorofila *a*, clorofila *b* y clorofilas totales expresadas en µg g^{-1} de tejido o peso fresco.

IV.5.2. Compuestos fenólicos totales.

El contenido de los compuestos fenólicos totales se evaluó mediante la técnica descrita por Singleton y Rossi, (1965), usando el reactivo de Folin-Ciocalteu. La técnica se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu a un pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. Para llevar a cabo la extracción de los compuestos fenólicos se pesaron 300 mg de flores y tallos, se les adicionó solución de metanol al 80 %, se agitaron y se mantuvieron en incubación en frío (4°C), protegido de la luz por 24 h. Pasado el tiempo de incubación, las muestras se agitaron y posteriormente se centrifugaron para eliminar los restos de tejidos vegetales a 15,000 rpm por 10 min a 4 °C (Z 216 M, Hermle, Alemania). Para la preparación de la mezcla de reacción, se emplearon 100 µL del extracto vegetal con 500 µL del reactivo Folin-Ciocalteu (1:10) y 400 µL de carbonato de sodio al 7.5 % (p/v). La mezcla de reacción se incubó durante 1 h a temperatura ambiente (25 ± 1 °C), protegida de la luz. Finalmente se midió la absorbancia a 765 nm en

un espectrofotómetro (7305®, Jenway, Londres). Adicionalmente, se realizó una curva patrón de ácido gálico para expresar el contenido de compuestos fenólicos totales como equivalentes de ácido gálico (EAG) en mg g^{-1} de tejido fresco.

IV.5.3. Capacidad antioxidante total.

Para determinar la capacidad antioxidante se siguió la técnica de Brand-Williams *et al.* (1995). El radical libre utilizado fue 2,2-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH), el cual es un radical libre comercial. La técnica se basa en la evaluación de la capacidad del extracto vegetal para atrapar radicales libres. Se pesaron 300 mg de tejido de flores y tallos de gerbera, y se homogenizaron con una solución de metanol al 80 %. Las muestras se agitaron y se mantuvieron en incubación en frío (4°C), protegidos de la luz por 24 h. Transcurrido el tiempo de incubación, las muestras se agitaron y se centrifugaron para eliminar los restos de tejidos vegetales a 15,000 rpm por 10 min a 4 °C (Z 216 M, Hermle, Alemania). La mezcla de reacción consistió en 100 µL de cada extracto (de tallos y flores) y 900 µL de solución de trabajo de DPPH. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) por 30 min, protegida de la luz. Inmediatamente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (7305®, Jenway, Londres) a 515 nm. A la par se corrió una curva patrón de ácido gálico para expresar los resultados de capacidad antioxidante EAG en µmoles g^{-1} de peso fresco.

IV.6. Efecto de las nanopartículas de óxido de calcio en el tallo de la flor mediante microscopia electrónica de barrido (SEM).

Para determinar el efecto de las CaO-NP en la firmeza del escapo, se analizó la histología del tejido mediante SEM, en la región apical del tallo floral. Para ello, se realizaron cortes transversales del escapo de un tallo floral sometido al tratamiento de CaO-NP 100 ppm durante 24 h a temperatura ambiente, posteriormente las muestras se observaron en el microscopio a diferentes escalas (5 a 500 µm).

IV.7. Conteo de bacterias en las soluciones florero.

Para la evaluación de la carga bacteriana presente en las soluciones florero, se tomaron alícuotas de todas las repeticiones de las diferentes soluciones florero en cada día de muestreo, y se mantuvieron en refrigeración hasta su evaluación. Dentro de la campana de flujo laminar se realizaron diluciones ($1x10^{-1}$ a $1x10^{-6}$) de las muestras de las soluciones florero en agua peptonada al (1 %). Se utilizó la técnica de vaciado en placa (100 µL) en medio de cultivo (Agar nutritivo, BD Bioxon) y se mantuvieron en incubación por 24 h a 37 °C; transcurrido el tiempo de incubación se contabilizaron las UFC. Se emplearon 3 cajas por tratamiento y se realizó un duplicado experimental.

IV.8. Diseño experimental y análisis estadístico.

El experimento se estableció en un diseño de bloques al azar considerando el factor tratamiento (6 tratamientos). Se emplearon 8 tallos florales, colocando un tallo floral por florero, considerando como muestra experimental cada tallo floral (n=8) por cada tratamiento y por día de muestreo. Por lo que se requirieron un total de 296 tallos florales. Para la pérdida de peso se emplearon muestras independientes considerando 8 tallos florales para cada tratamiento (n=8), requiriendo 48 tallos florales adicionales y requiriendo un total de 344 tallos florales seleccionados para el desarrollo del experimento.

Debido a que los resultados de las escalas arbitrarias son, por su propia naturaleza, no normales; los datos fueron transformados a base log(x+1) para poder analizarlos. El diseño de estos análisis fue considerando 6 tratamientos (control negativo, control positivo, glicerol 0.1 %, CaO-NP 50 ppm, CaO-NP 100 ppm y CaO-NP 150 ppm) y 7 días de muestreo (0, 3, 6, 9, 12, 15 y 18).

El diseño para las determinaciones de clorofilas (*a*, *b* y totales), compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante total fue de 6 tratamientos (control negativo, control positivo, glicerol 0.1 %, CaO-NP 50 ppm, CaO-NP 100 ppm y CaO-NP 150 ppm) y 5 días de muestreo (0, 3, 9, 15 y 18). Los datos fueron corroborados mediante triplicado.

El diseño para el conteo de bacterias en la solución florero fue de 6 tratamientos (control negativo, control positivo, glicerol 0.1 %, CaO-NP 50 ppm, CaO-NP 100 ppm y CaO-NP 150 ppm) y 4 días de muestreo (0, 3, 9 y 18), además de realizar un duplicado.

Los resultados se analizaron en cuanto a su normalidad y homocedasticidad, posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba *post hoc* de Tukey. Todos los datos se analizaron por el programa estadístico NCSS 2007 (Hintze, 2006).

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

V.1. Efecto de las nanopartículas de óxido de calcio sobre parámetros físicos, de calidad visual y vida poscosecha.

V.1.1. Vida de florero.

La peor calidad de las flores se presentó hasta el día 18 de poscosecha, sin embargo, no se alcanzó este 50 % de las flores. Las flores que mostraron menor calidad principalmente fueron aquellas gerberas tratadas con el control negativo (agua) y con el control de glicerol al 0.1 %. De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede decir que la vida de florero de las gerberas estudiadas en este trabajo fue posible preservarla hasta por 12 días, con la aplicación de los tratamientos de 100 y 150 ppm de CaO-NP, conservando una excelente calidad comercial. Mientras que, para este mismo día, los tratamientos control (control negativo, control positivo y glicerol al 0.1 %) se encontraban muy cerca del límite de calidad permisible. Lo que nos indica un efecto prometedor de las CaO-NP cuando se utilizan especialmente a concentraciones de 100 y 150 ppm.

Se sabe que la vida de poscosecha de las flores de corte es variante entre cultivares. Por ejemplo, Puerta, (2017) estudio la calidad comercial de las cultivares de *Gerbera jamesonii* L. Super Nova ('Amarilla'), Dune ('Naranja') y Ruby Red ('Roja'), reportando 19, 18 y 10 días (vida de florero), respectivamente. González-Aguilar y Zavaleta-Mancera (2012) probaron tres concentraciones de $CaCl_2$ (0.1, 0.5 y 1.0 %) en *Gerbera jamesonii* variedades 'Duela' y 'Shirlaine', aumentando la vida media florero (día en el cual el 50 % de las flores en el florero presentaron alguno de los siguientes síntomas: marchitamiento de pétalos, doblamiento del tallo, pudrición en la base del escapo o ruptura del escapo) hasta por 25 d para 'Duela' y 24 d para 'Shirlaine' con el tratamiento de $CaCl_2$ al 0.5 %, solo por mencionar algunos trabajos. En el caso particular de las gerberas de este trabajo, no se obtuvo una vida media de las flores debido a los tratamientos, ya que el doblez del tallo aún fue mínimo, así como el doblez del tallo. El principal problema observado en las flores de gerbera fue la madurez y liberación de las

semillas, lo que permitió que, en general, todas las flores tuvieran una vida útil de 18 días poscosecha. Además del tipo de cultivar, existen múltiples factores que determinan el tiempo de vida útil de las flores de corte, como lo es el manejo pre- y poscosecha. Ferrante *et al.* (2007), menciona que todo trastorno fisiológico que afecte la apariencia visual de las flores de corte, compromete su calidad y valor comercial y, por defecto, la vida útil de éstas. Es por ello que es muy importante mantener a las flores con soluciones florero que permita mantener viva a la flor por más tiempo.

V.1.2. Consumo de agua.

En la Figura 7, se pueden observar los resultados obtenidos de la evaluación del consumo de agua durante el tiempo de poscosecha de flores de gerbera. En el cual, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$, Anexo 1). Con respecto a los días de almacenamiento se observó que, conforme transcurren los días, el volumen de agua de las soluciones florero va disminuyendo en todos los tratamientos y, por tanto, el porcentaje de volumen de agua va en incremento (Figura 7). Esto se debe principalmente a la transpiración por parte de la flor.

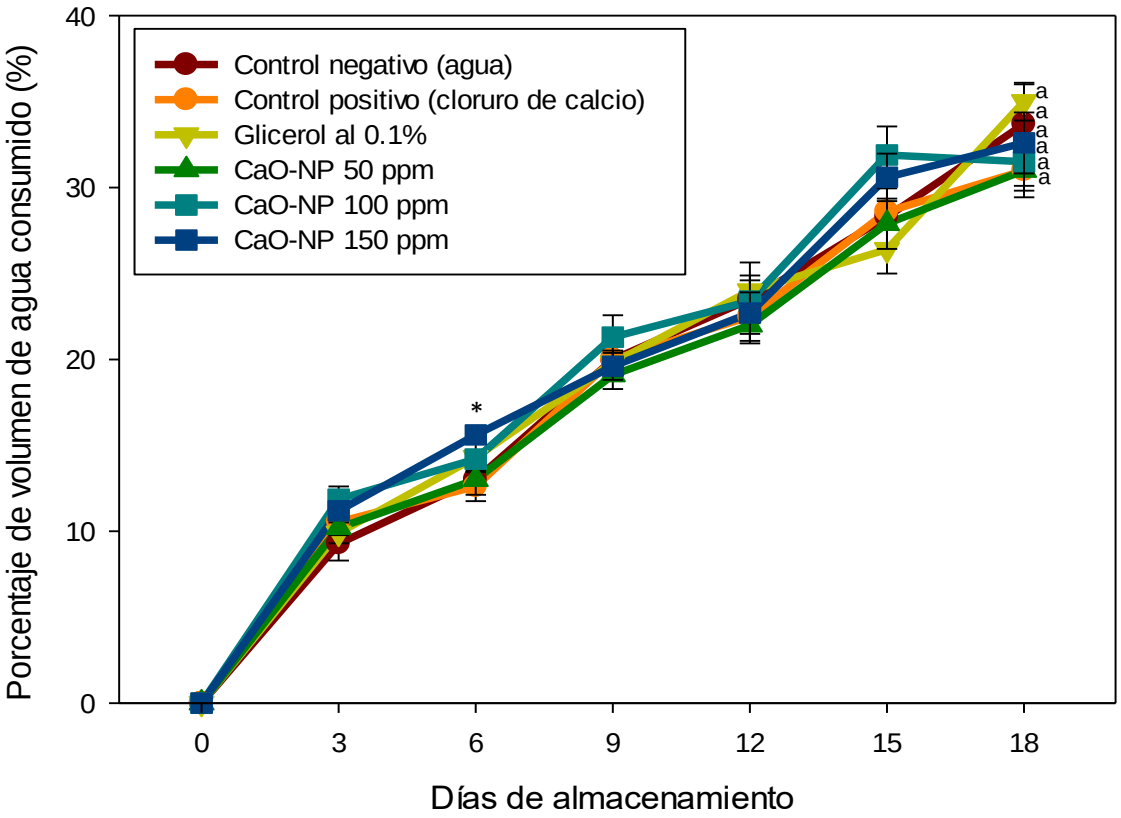

Figura 7. Consumo de agua (%) en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

Posterior a la cosecha de flores ornamentales de la planta, el equilibrio hídrico se ve afectado por la falta de absorción de agua y las tasas de pérdida de ésta, por lo tanto, se desarrolla un déficit de agua y marchitamiento precoz de los pétalos (Lü *et al.,* 2010). En relación a este trabajo, el consumo de las soluciones florero fue en ascenso durante todo el tiempo de almacenamiento en todos los tratamientos evaluados, pero el mayor consumo de agua fue durante los 3 primeros días. Esto se relaciona a que conforme transcurren los días de almacenamiento, la absorción de agua disminuye y, al mismo tiempo, el diámetro de la cabeza floral empieza a reducirse por la deshidratación de las lígulas. Combrink (2017) reporta que la combinación de tratamientos de 2 meq L^{-1} de HCl, 24 meq L^{-1} Ca y 25 ppm de hipoclorito de Ca, mejoró la retención de masa, aspecto general y la mejor

absorción de agua en flores de gerbera. Esto dado por la unión del Ca en los pectatos de la pared celular, lo que aumenta el flujo de agua. Li *et al.* (2018) evaluaron el efecto de la aplicación de iones de titanio en soluciones florero siendo el tratamiento de 8 ppm el que evitó que las bacterias obstruyeran y pudrieran el tallo, y de esta manera se promovió la absorción de agua (consumo de las soluciones florero) y, al mismo tiempo, se logró prolongar la vida de las flores de gerbera (medida con base al marchitamiento de pétalos y flexión del tallo). En el caso particular de las gerberas, el consumo de agua fue en aumento durante todo el almacenamiento pero, en el tratamiento con CaO-NP 100 ppm disminuyó drásticamente del día 15 al 18 poscosecha, por lo que esto indicaría algún problema en el flujo de agua, probablemente por el contenido a carga microbiológica.

V.1.3. Curvatura del pedicelo.

En el caso de los resultados de la longevidad de las flores de gerbera con respecto a la flexión del tallo o curvatura del pedicelo, en la Figura 8 se observa diferencias significativas entre tratamientos ($p<0.05$, Anexo 2). La solución florero a base de glicerol al 0.1 % (control del estabilizador) fue la que generó los valores más altos en la curvatura del tallo floral en comparación con el tratamiento de CaO-NP 150 ppm, el cual reportó los valores más bajos con respecto al doblamiento de pedicelo durante los 18 días de vida poscosecha ($p<0.05$, Anexo 2). Esto muestra un efecto positivo del tratamiento con CaO-NP 150 ppm sobre la curvatura del pedicelo (Figura 8). Hasta el día 12, la curvatura del tallo de las flores de gerbera tratadas con 100 y 150 ppm de CaO-NP mostraban la menor curvatura del tallo en comparación con el resto de los tratamientos; donde las flores de la solución de Glicerol al 0.1 % presentaban una curvatura cercana a los 15 grados (°). Lo anterior, indicaría un efecto positivo de las dispersiones de CaO-NP a mayor concentración y que el glicerol (0.1 %) no tiene efecto benéfico sobre los tallos de gerbera. Así, el efecto observado es directamente de las CaO-NP y no del agente estabilizador.

Al analizar únicamente el día 18, las flores de gerbera tratadas con CaO-NP a 50 y 150 ppm presentaron la menor curvatura de pedicelo en comparación con las gerberas del grupo testigo o tratadas con Control negativo (agua), así como Glicerol 0.1 % y CaO-NP 100 ppm. Este último tratamiento coincide con la modificación del consumo de agua donde, del día 15 al 18 presentó una súbita baja del consumo de agua (Figura 7). Además, el efecto de la aplicación de 50 y 150 ppm de CaO-NP es similar de $CaCl_2$ al 0.2 % o 2,000 ppm; lo que reduciría la aplicación de compuestos con Ca.

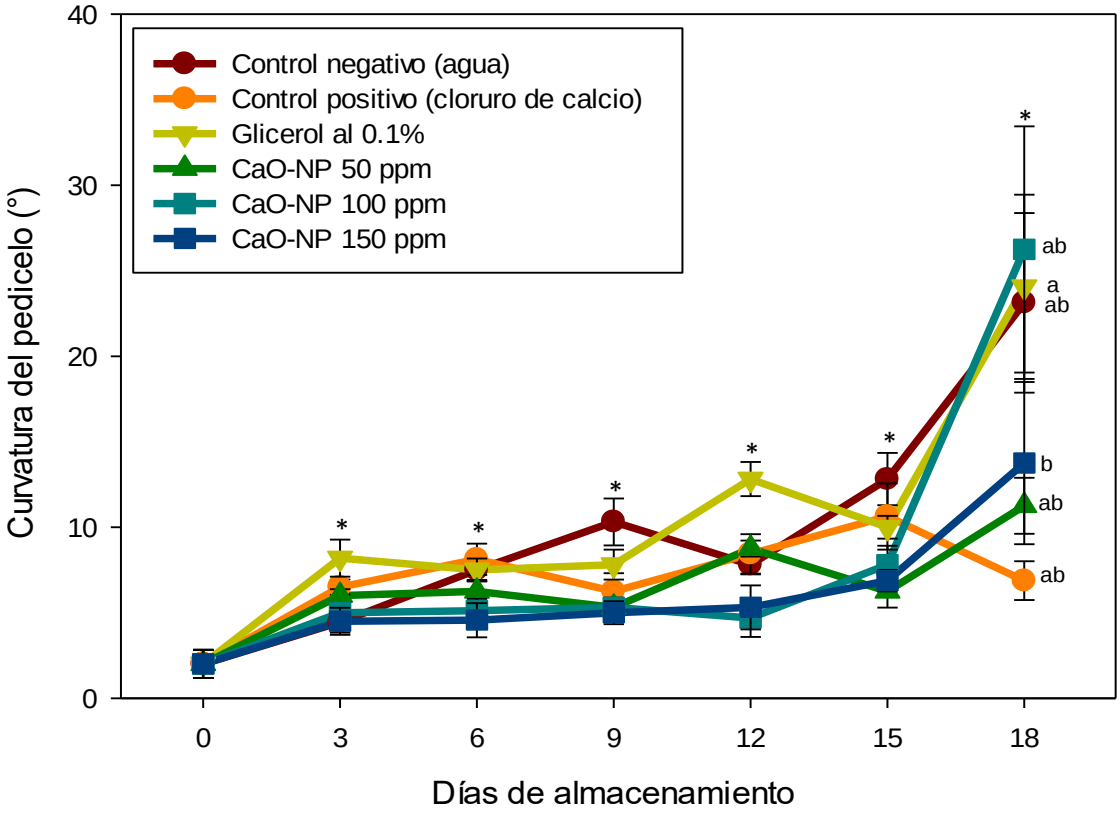

Figura 8. Curvatura del pedicelo en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

De acuerdo con los días de almacenamiento se observó que, conforme trascurre el tiempo en la vida de poscosecha, el doblamiento del tallo se incrementa, pero

fue más pronunciado en el último día de muestreo (Figura 8), lo cual indica el comienzo de la senescencia de la flor, principalmente para las flores tratadas con Glicerol 0.1 %, seguidas de las tratadas con Control negativo (agua) y CaO-NP 100 ppm. Al respecto, Gerasopoulos y Chebli (1999) aplicaron $CaCl_2$ previo a la cosecha (asperjado) y posterior a la cosecha (inmersión) al 1.0 %, prolongando la vida poscosecha y reduciendo la flexión del tallo de tres cultivares de gerbera ('Campino', 'Dino' y 'Testarossa') en comparación con el tratamiento testigo. Por lo que el $CaCl_2$ es un tratamiento efectivo contra la flexión del tallo de las gerberas, donde en nuestros resultados se observa que una concentración de 150 ppm de CaO-NP es similar al efecto de la aplicación de $CaCl_2$ al 0.2 % y ambos presentan menor doblez del tallo en comparación con las gerberas del grupo testigo o tratadas con Control negativo (agua). Lo que puede estar asociado al tamaño nanométrico del CaO-NP, lo que le le permite penetrar en los tejidos con mayor facilidad para generar su efecto (Sharma *et al*., 2020).

Perik *et al.* (2014) reporta que el tratamiento por pulsos en poscosecha con $CaCl_2$ retrasó la flexión del tallo en las flores cortadas, atribuyendo estos resultados a que los iones de Ca (Ca^{2+}) se acoplan con las moléculas de pectina para aumentar la rigidez de la pared celular. Por lo que, en el caso de las gerberas, el Ca^{2+} está siendo útil para disminuir el doblez del tallo tanto aplicado como NP como en tamaño partícula. Geshnizjany *et al.* (2014), evaluaron los efectos del $CaCl_2$, las NP de plata y sus combinaciones sobre flores cortadas de *Gerbera jamesonii* ‘Carambole’, demostrando que estos dos tratamientos podrían prevenir eficazmente el trastorno del doblamiento de cuello y el bloqueo del tallo en esta planta ornamental. En el mismo sentido, Combrink (2017) menciona que con la solución florero de 24 meq L^{-1} $CaCl_2$, se redujo la flexión del tallo, probablemente a que el Ca podría haber fortalecido el vástago, aumentando la resistencia a la flexión. Por todo lo anterior, con la adición de CaO-NP en las soluciones florero en este trabajo se ha logrado disminuir la incidencia de flexión del tallo principalmente cuando se utiliza a 150 ppm, empleando menos cantidad de compuesto en comparación con el uso de $CaCl_2$. Además, con respecto a costos, la solución

florero de CaO-NP 150 ppm, es 51 % más barata en comparación del tratamiento Control positivo ($CaCl_2$ al 0.2 %) (Merck, 2020a y Merck, 2020b).

Durante el último día de almacenamiento, se observa que los tratamientos que permitieron un menor doblez del pedicelo o escapo fueron los tratamientos de control positivo ($CaCl_2$), CaO-NP 50 ppm y CaO-NP 150 ppm ($p<0.05$, Figura 8). Por lo que parece haber un efecto benéfico en el tallo de gerbera con los tratamientos que contienen CaO-NP. Además de que no se alcanzó el doblez de 45° (Figura 8). Esta diminución significativa de la curvatura del pedicelo como resultado de la aplicación de los tratamientos de CaO-NP, se relaciona positivamente disminuyendo la pérdida de firmeza, pérdida de agua o deshidratación de las flores y/o pérdida de peso, tal como lo mencionan Baas *et al.* (1995).

V.1.4. Firmeza del escapo.

Para tratar de determinar el efecto de las CaO-NP sobre el doblez y efecto en el escapo, se llevó a cabo la medición de su firmeza. En general las flores tratadas con las diferentes soluciones no muestran diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del periodo de almacenamiento ($p>0.05$, Anexo 3, Figura 9). En cuanto a su comportamiento en el tiempo de almacenamiento, la firmeza se ve modificada, misma que se comienza a perder desde el día 3 y hasta el día 9 de almacenamiento. Posteriormente, el valor de la firmeza aumenta en la mayoría de los tratamientos. Sin embargo, un tejido menos firme produce un tejido más elástico. Por lo que al texturómetro le cuesta más trabajo perforar el tejido, lo que explica el aumento en la fuerza ejercida para medir la firmeza de los tejidos al final del almacenamiento (Figura 9). Al día 15 de almacenamiento, los tratamientos de Control positivo ($CaCl_2$) y CaO-NP 150 ppm permitieron mantener tallos menos elásticos en comparación con los demás tratamientos aplicados como soluciones florero (Figura 9).

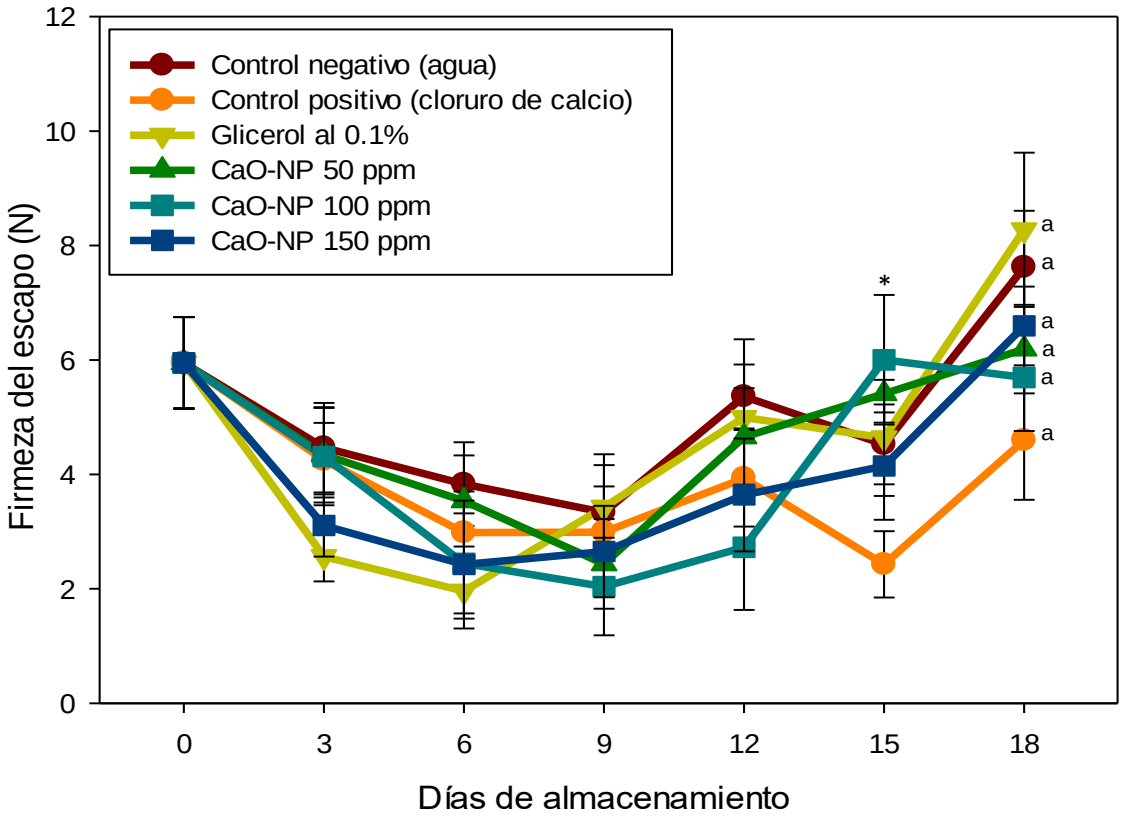

Figura 9. Firmeza del escapo en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

Durante todo el almacenamiento, no se observan diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$). No obstante, la tendencia indica que los tratamientos de control positivo ($CaCl_2$), CaO-NP 50 ppm, CaO-NP 100 ppm y CaO-NP 150 ppm presentaron menor elasticidad en el pedúnculo floral y, con ello, un efecto benéfico durante el almacenamiento (Figura 9), similar a lo observado en la curvatura del pedicelo de las flores de gerbera (Figura 8). Al día 18 de almacenamiento, los tratamientos de control positivo ($CaCl_2$), CaO-NP 50 ppm y CaO-NP 100 ppm presentaron menor elasticidad de los tejidos y, por tanto, mayor firmeza. En la investigación realizada por Combrink, (2017) al estudiar distintos tratamientos en la vida poscosecha de gerbera, encontró que $CaCl_2$ de 24 meq L^{-1} mejoró significativamente el porcentaje de retención de masa sin una absorción de agua

significativamente mejorada; una indicación de que las paredes celulares de los tubos de xilema podrían haberse endurecido, produciendo tallos florales más fuertes. En relación a este trabajo, se esperaría que las CaO-NP pudiesen actuar de manera similar, fortaleciendo las membranas celulares de los tejidos que componen al pedicelo.

En el mismo sentido, Ranjbar *et al.* (2019) evaluaron el efecto de la fertilización foliar con Ca-NP comparado con $CaCl_2$ (fertilización convencional) previo a la cosecha de manzana (*Malus domestica* Borkh 'Red Delicious') en concentraciones de 0, 1.5 y 2.0 %, reportando que con la aplicación del tratamiento Ca-NP al 2 % obtuvieron los valores más altos de firmeza, correlacionando directamente este incremento con la aplicación de Ca en forma de NP. Así, las CaO-NP pueden aumentar la firmeza de los tallos de gerbera adicionadas en soluciones florero. La aplicación de tratamientos a base de Ca en las soluciones florero, repercute significativamente reduciendo la flexión del tallo; ya que el Ca se acopla con las moléculas de pectina para aumentar la rigidez de la pared celular, fortaleciendo así al tallo (Perik *et al.,* 2014 y Combrink, 2017). Estos cambios inducidos por la aplicación del Ca, se relacionan directamente con el aumento de la firmeza en el tejido del tallo floral (Baas *et al.,* 1995). Por lo que se esperaba un incremento en la firmeza de los tallos de gerbera, lo que podría aumentar su vida útil. Así, una disminución de la elasticidad de los tejidos del tallo fue apreciado principalmente al día 15 de almacenamiento, en los tratamientos de Control positivo ($CaCl_2$) y 150 ppm CaO-NP, lo que indicaría el efecto benéfico de estos tratamientos en las flores de gerbera poscosecha. El Ca es un macroelemento esencial que imparte rigidez estructural significativa a las paredes celulares de la planta, que proporcionan el soporte mecánico principal a toda la planta (Li *et al.,* 2012a). El Ca unido como Ca-pectato en la lámina media es esencial para fortalecer las paredes celulares y los tejidos vegetales (Hawkesford *et al.,* 2012). La degradación de los pectatos está mediada por la poligalacturonasa, que está fuertemente inhibida por las altas concentraciones de Ca (Wehr *et al.,* 2004). Es por todo lo anterior, la importancia de resaltar el papel del Ca en las flores de gerbera de este trabajo y para las flores poscosecha.

V.1.5. Parámetros de calidad mediante escalas arbitrarias.

V.1.5.1. Escala de deshidratación y/o pérdida de la turgencia.

El análisis estadístico reveló que no existen diferencias significativas entre tratamientos para la escala de deshidratación y/o pérdida de turgencia ($p>0.05$, Figura 10, Anexo 4). De acuerdo al tiempo de almacenamiento, durante los primeros días (0, 3 y 6) no se presentan daños atribuidos a este parámetro de calidad. Mientras que a partir del día 9 hasta el día 18, los valores en todos los tallos florales de todos los tratamientos van en descenso, siendo el día 18 en donde los datos resultantes se encuentran por debajo del límite de calidad permisible según la escala establecida.

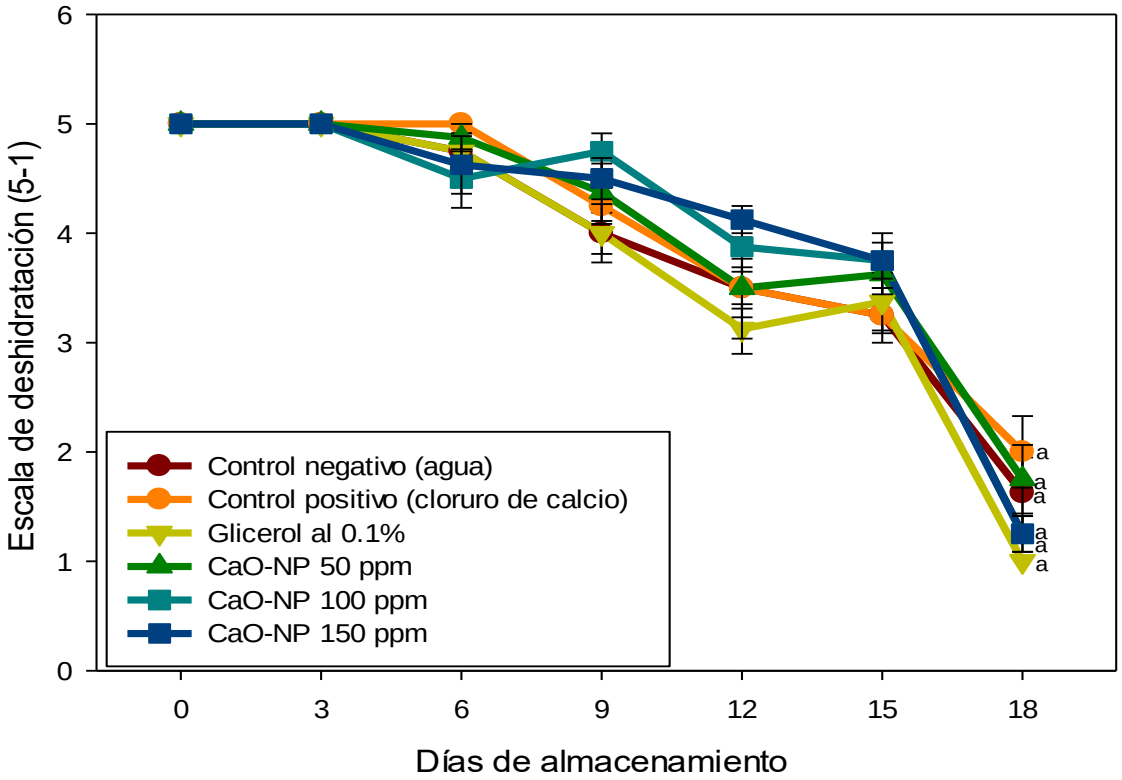

Figura 10. Escala de deshidratación en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p\leq0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

En el día 12 de almacenamiento, la deshidratación de las florales de gerbera fue menor y con menor percepción en aquellas que fueron tratadas con 100 y 150 ppm de CaO-NP, mientras que el resto de los tratamientos para estos días se encontraban muy cercanas al límite de calidad comercial (Valor 3 en la escala arbitraria). Lo antes mencionado, nos indica un efecto benéfico de los tratamientos a base de CaO-NP para disminuir los efectos de la perdida de vida poscosecha medidos mediante esta variable.

Las flores de corte *Gerbera jamesonii* 'Bolus', se componen comúnmente de una cabeza floral compuesta terminal y un escapo, y no tienen hojas, son propensas a graves déficits de agua, presumiblemente como resultado de una pérdida de agua que excede la absorción de agua (Huang *et al*., 2018). Principalmente la pérdida de agua se da a través de las flores, la cual es mayor que la cantidad de agua absorbida, lo que provoca una pérdida del equilibrio hídrico (Li *et al.,* 2018). Debido a esto, la deshidratación de los pétalos se agudiza conforme transcurre el tiempo de almacenamiento, similar a lo que se encontró en esta investigación (Figura 10), en donde la calidad medida por este parámetro fue en descenso durante todo el periodo de estudio, siendo los tratamientos de 100 y 150 ppm de CaO-NP los que retrasaron estos efectos hasta el día 15 en comparación con el resto de los tratamientos estudiados. Al respecto, Li *et al.* (2018) reportaron que cuando la cantidad de agua perdida alcanza 5 % del peso de la flor, las células pierden turgencia y, finalmente, los tallos se rompen o se doblan y los pétalos se marchitan. Debido a que las flores sobrepasaron el límite de calidad permisible medida como deshidratación o pérdida de turgencia (Figura 10), el experimento fue concluido a los 18 días de almacenamiento.

V.1.5.2. Síntomas de marchitamiento y/o cambio de color (oscurecimiento).

En la Figura 11, se muestran los resultados obtenidos de la evaluación del parámetro de calidad considerado como síntomas de marchitamiento y/o cambio de color (oscurecimiento), en flores de gerbera en poscosecha bajo diferentes tratamientos. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$, Anexo 5).

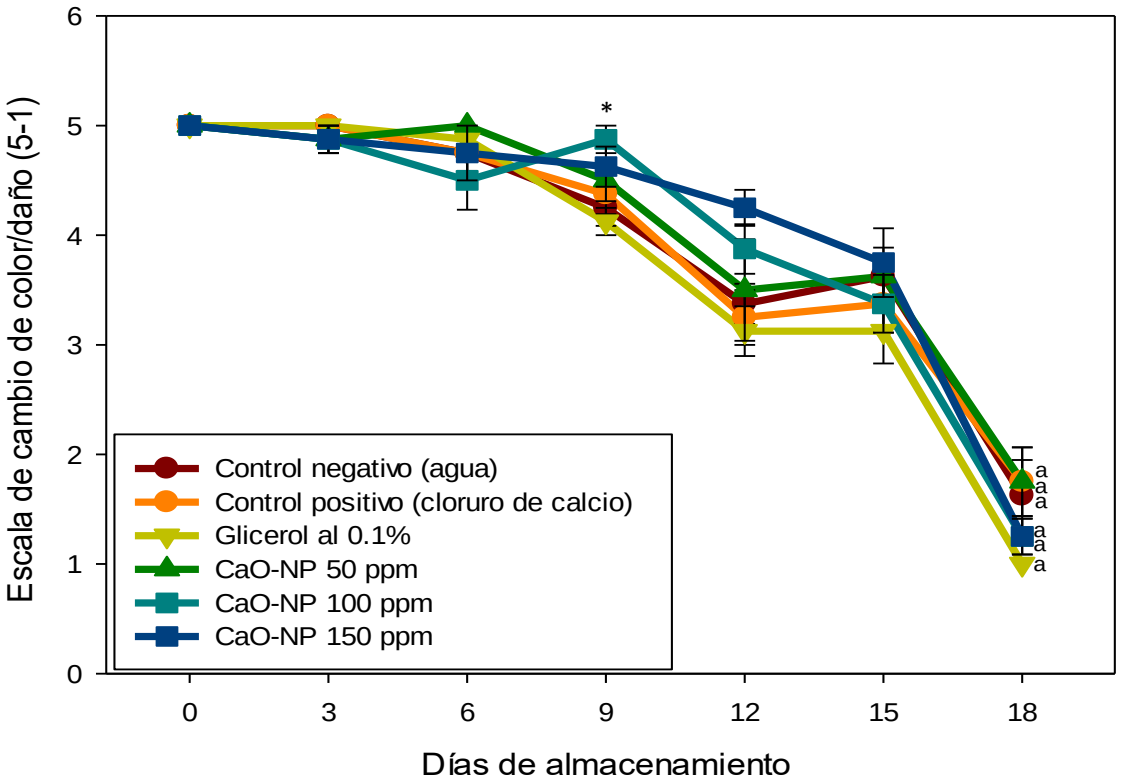

Figura 11. Escala de cambio de color/daño en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

Pero, de acuerdo al tiempo de almacenamiento, en general, es posible observar que a partir del día 12 en todos los tallos florales sometidos a las diferentes soluciones florero evaluadas, se disminuye el valor de la escala para los síntomas de marchitamiento y/o cambio de color, siendo el día 18 donde la calidad de las flores evaluadas mediante este parámetro se encuentra por debajo del valor 3 de la escala arbitraria establecida (Figura 11). En el día 12, este parámetro de calidad es menos pronunciado en las flores sometidas a los tratamientos de 100 y 150 ppm de CaO-NP, en comparación con los demás tratamientos, mismo que estaría indicando resultados favorables para la conservación de las gerberas en por lo menos 12 días posteriores a su cosecha.

En general, las flores recién cortadas pierden el contacto con el cuerpo principal de la planta y no pueden absorber agua, nutrientes minerales y hormonas del sistema radicular, mientras que la fotosíntesis y la respiración continúan ocurriendo, lo que lleva a una serie de cambios fisiológicos y bioquímicos en la corola y el pedicelo que eventualmente resulta en envejecimiento y muerte celular (Li *et al.,* 2018). En algunas plantas ornamentales, la pérdida de calidad puede resultar de una de varias causas, que incluyen el marchitamiento o la abscisión de hojas y/o pétalos, el amarillamiento de las hojas y la flexión geotrópica o fototrópica de los escapos y tallos (Mishra y Dwivedi, 2015). Para el caso de las gerberas, la calidad en hojas no es importante debido a que se comercializa solamente el escapo floral sin follaje, pero el marchitamiento y/o cambio de color de los pétalos (lígulas) si es un problema evidente determinante de la calidad de estas flores. Después del corte, las macromoléculas presentes en las flores, como proteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos, se degradan gradualmente e inician la muerte celular programada (Channatika, 2015) y, con ello, la senescencia de las flores de corte. Similar a lo observado en cuanto a deshidratación o pérdida de turgencia (Figura 10), el experimento fue concluido a los 18 días de almacenamiento debido a que se sobrepasó el límite permisible (nivel 3 de la escala) para los síntomas de marchitamiento o senescencia de la flor (Figura 11).

V.1.5.3. Calidad general.

En la Figura 12, se muestran los valores resultantes de la evaluación de calidad general de las flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante su vida de poscosecha. No se observan diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo al análisis estadístico ($p>0.05$, Anexo 6). De acuerdo a los días de almacenamiento, 0, 3 y 6 fueron los días donde se conservaron las flores con mayor calidad y a partir del día 9, inicio el descenso de acuerdo a la escala arbitraria para este parámetro, siendo el día 18 (último día de muestreo) en el cual se reportó la pérdida de la calidad comercial extrema (Figura 5), sobrepasando el límite considerado como comercial (Figura 12). Durante el día 12 y 15 de almacenamiento, se observaron diferencias significativas entre

tratamientos; siendo 50 y 150 ppm de CaO-NP los que permitieron mantener la calidad visual de las flores de gerbera por arriba del límite permisible durante 15 días, en comparación con los tratamientos control (control negativo, control positivo y glicerol al 0.1 %).

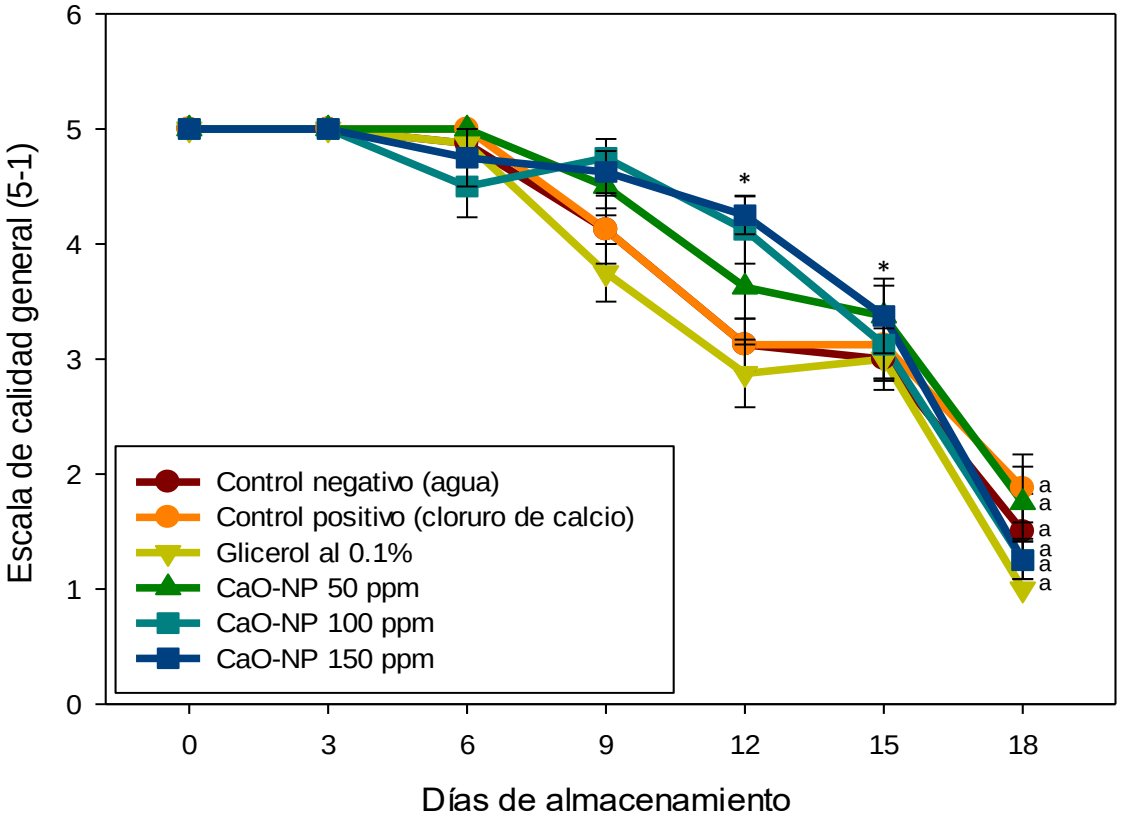

Figura 12. Escala de calidad general en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

Similar a lo observado en los parámetros de calidad anteriores (deshidratación y/o pérdida de la turgencia y síntomas de marchitamiento y/o cambio de color) los tratamientos de 100 y 150 ppm de CaO-NP, muestran resultados favorables que nos aportan resultados comprometedores al ayudar a mitigar la pérdida de calidad general en por lo menos 15 días de almacenamiento. En las flores de corte, la pérdida de calidad de los tallos, hojas o partes de las flores puede provocar su

rechazo en el mercado (Mishra y Dwivedi, 2015). La vida de las flores ornamentales de corte está en gran medida influenciada por las variaciones genéticas entre las especies de flores e incluso entre diferentes cultivares (Reid y Jiang, 2012), lo que también podría estar determinando la calidad y el tiempo de vida útil de las flores de gerbera analizadas en este este estudio. Además, de las condiciones y métodos bajos los cuales se hayan manejado durante la pre- y poscosecha. En general, todos los trastornos fisiológicos que afecten la apariencia visual de las flores de corte, comprometen su calidad y valor comercial (Ferrante *et al.,* 2007).

V.1.6. Presencia visual de cenicilla polvorienta.

Entre las principales enfermedades fúngicas que afectan a las flores de gerbera, se encuentra cenicilla polvorienta, misma que tiene la capacidad de reducir considerablemente el rendimiento y rentabilidad económica del cultivo (Praveen *et al.,* 2018). Esta enfermedad ataca a la planta y se manifiesta en condiciones de clima seco y temperaturas altas. Es un problema frecuente en cultivos hortícolas y ornamentales causante de grandes pérdidas económicas (Félix-Gastélum *et al.,* 2017), en gerberas no es excepción.

En la Figura 13, se presentan los valores resultantes de la evaluación de presencia de cenicilla en las flores de gerbera en poscosecha bajo diferentes soluciones florero y días de almacenamiento, en donde no se observan diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$, Anexo 7).

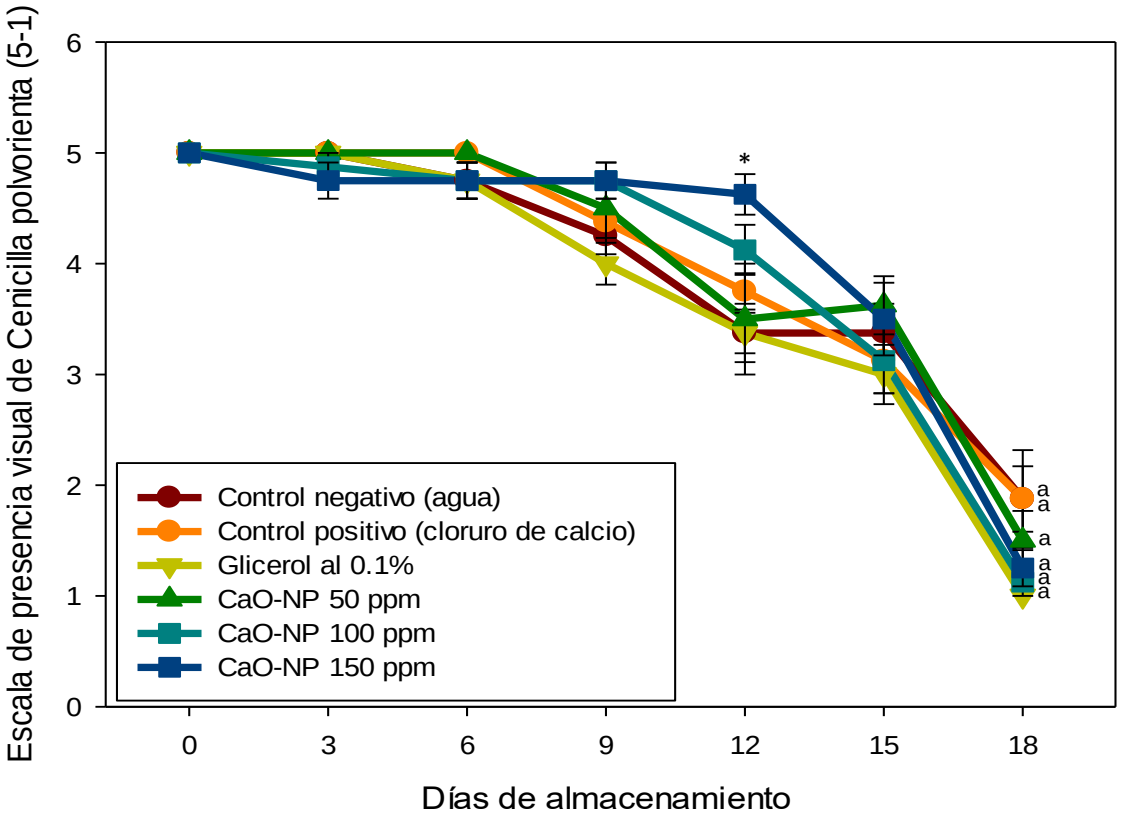

Figura 13. Presencia visual de cenicilla en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

De acuerdo a los días de almacenamiento, cuando se observó menor presencia de cenicilla fue en los días 0, 3, 6 y 9. A partir del día 12 y hasta el último día de muestreo, la presencia visual de cenicilla fue en incremento, siendo el día 18, en el que se reportaron los valores más bajos en la escala de calidad por presencia visual de cenicilla en las flores de gerbera (valor 1 en la escala) (Figura 13). Aunque cabe mencionar que todos los tratamientos se encontraron dentro del límite de calidad comercial (Valor 3 de la escala, Figura 6) hasta el día 15 de almacenamiento. Es importante señalar que no se midió la presencia de este patógeno en las soluciones florero, ya que su principal efecto fue en la flor y porque el principal problema con el taponamiento de los haces vasculares es por

la presencia de bacterias (Arévalo-Galarza *et al.,* 2012). Además de considerar esta evaluación como un conteo y medida de la afectación por parte de la cenicilla polvorienta a las flores en poscosecha.

Hasta el día 12 de almacenamiento, los tratamientos a base de 100 y 150 ppm de CaO-NP se encuentran muy cercanos al valor 5 de la escala de calidad (excelente calidad comercial), mientras que el resto de los tratamientos está por debajo de 4, lo que indica efectos benéficos cuando se utilizan CaO-NP a estas concentraciones. Algunas NP, como las de plata (Ag-NP), silicio (Si-NP) y zinc (Zn-NP) han mostrado una fuerte actividad antimicrobiana para controlar el desarrollo de patógenos y al mismo tiempo aumentar la resistencia a ciertas enfermedades (Shojaei *et al.,* 2019). Pugliese *et al.* (2018) demostraron por primera vez la eficacia del CaO contra *Erysiphe necátor*, enfermedad de importancia económica en la vid (*Vitis vinífera* cv. 'Moscato'), en donde el CaO redujo la incidencia de la enfermedad en 68.4 % en las hojas y en 58.3 % en los racimos, en comparación con el control no tratado. En relación a este trabajo, la aplicación de CaO-NP en las soluciones florero, especialmente cuanto se utiliza a concentraciones de 100 y 150 ppm, mantiene las flores de gerbera dentro de la escala arbitraria de presencia visual de cenicilla nula (excelente calidad comercial) y presencia visual de cenicilla ligera, en hasta 12 días después de la cosecha.

V.1.7. Porcentaje de pérdida de peso.

En la Figura 14, se muestra el porcentaje de pérdida de peso de las flores de *Gerbera jamesonii,* en donde se observan diferencias significativas entre tratamientos ($p<0.05$, Anexo 8). Todos los tallos florales sometidos a los diferentes tratamientos de soluciones florero, incrementaron su pérdida de peso en los primeros 6 días de almacenamiento (Figura 14). Sin embargo, después del día 15 y hasta el último día de almacenamiento sólo los tallos florales sometidos a las soluciones florero de control positivo ($CaCl_2$) y CaO-NP 150 ppm, mostraron un efecto positivo para la conservación de las flores por más tiempo, retrasando los síntomas de envejecimiento ($p<0.05$, Figura 14). La aplicación de Ca en forma de CaO-NP tiene la ventaja de que se requiere en menor cantidad en comparación

con $CaCl_2$, producto comúnmente empleado dando resultados similares para la variable antes mencionada.

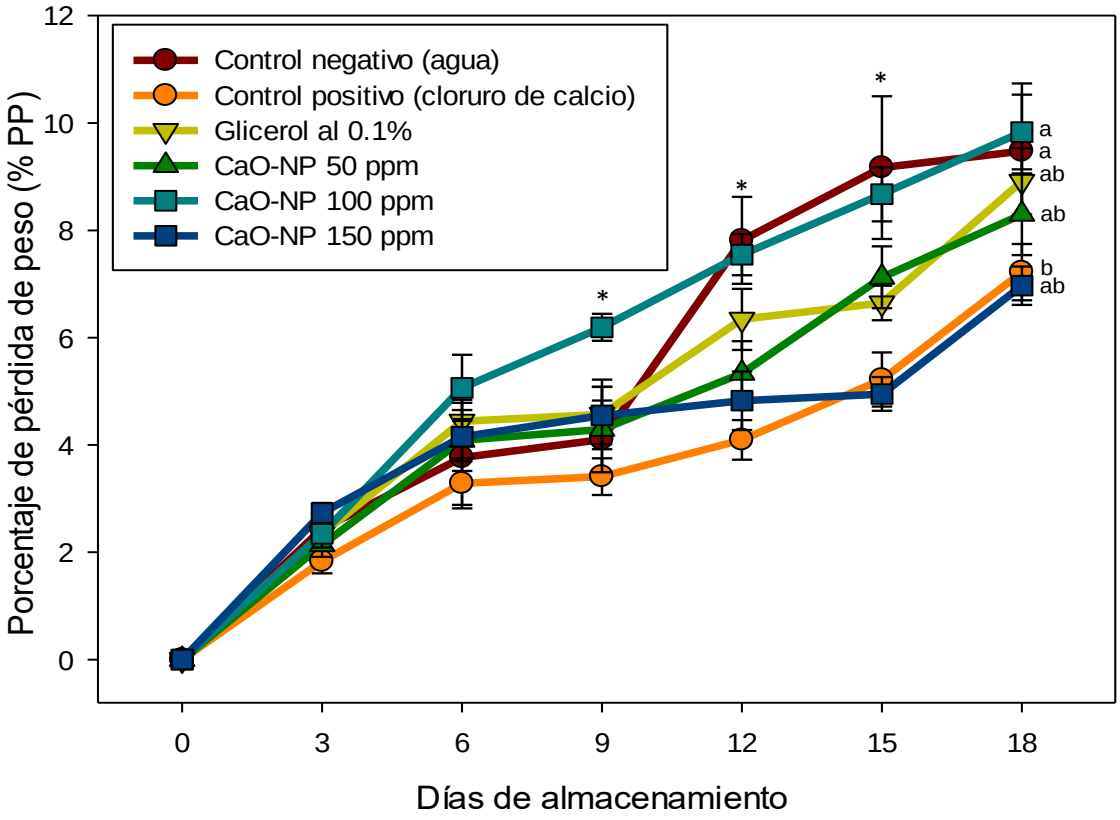

Figura 14. Porcentaje de pérdida de peso (% PP) en flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

Se ha demostrado que el Ca aplicado en soluciones florero aumenta el flujo del agua debido a su asociación con la pectina de las paredes celulares que componen al xilema (Van Leperen y Van Gelder, 2006). Uno de los síntomas en el estadio final de la senescencia es la pérdida de peso fresco debido a la deshidratación, principalmente de los pétalos, observada como marchitamiento (Trujillo-Villagarcía *et al.,* 2006). Además, la pérdida de peso es uno de los trastornos más importantes de las flores de corte, misma que se considera un determinante importante en la calidad y el valor comercial (Saeed *et al.,* 2016). Se

sabe que cuando la cantidad de agua perdida alcanza 5 % del peso de la flor, las células pierden turgencia y, finalmente, los tallos se rompen o se doblan y los pétalos se marchitan (Li *et al.* 2018). Con relación a esta investigación, las soluciones florero a base de control positivo ($CaCl_2$) y CaO-NP 150 ppm, fueron las que lograron superar el 5 % de agua perdida con respecto al peso de la flor hasta el dia 15 de almacenamiento, mientras que el resto de los tratamientos habían superado este 5% a partir del día 9 y el tratamiendo de CaO-NP 150 ppm desde el día 6. Resultados similares fueron reportados por Aghdam *et al*. (2019), quienes estudiaron el efecto de la aplicación precosecha de $CaCl_2$ y nitrato de Ca en concentraciones de 0 a 1.5 %, en donde todos los tratamientos estudiados fueron efectivos con respecto al control, mejorando el contenido relativo de agua de la flor debido al aumento de la absorcion de las soluciones florero. Además de que condujeron a una disminución de los transtornos de flexión del tallo en ambos cultivares estudiados 'Intense' y 'Rosaline'. En el mismo sentido, Geshnizjany *et al.* (2014) estudiaron los efectos del $CaCl_2$, las NP de plata y sus combinaciones; la mayor absorción de solución florero se observó en los tratamientos de 5 ppm Ag-NP, 5 ppm Ag-NP + 2 % $CaCl_2$ y 5 ppm Ag-NP + 1 % $CaCl_2$, además de reducir la pérdida de peso fresco relativo. Adicionalmente, Solomos y Gross, (1997), reportaron que la pérdida de peso de las flores de corte de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) se debe principalmente al aumento de la respiración, lo cual genera cambios en el contenido de agua y, por tanto, el peso de las flores. Resultados similares han sido reportados para rosa (Kazemi *et al*., 2018) y gerbera (Soad *et al.,* 2011), donde la pérdida de peso se atribuye principalmente al incremento en las tasas de respiración. Es por ello que, sería importante cuantificar la respiración de las flores de gerbera durante el almacenamiento.

V.1.8. Diámetro de la flor.

Como se mencionó anteriormente, junto con la curvatura del pedicelo y la pérdida de la firmeza del escapo, se observa una disminución en el diámetro de la flor. En la Figura 15, se muestran los resultados de la evaluación de la variable diámetro floral y se observan diferencias significativas entre tratamientos ($p<0.05$,

Anexo 4). El tratamiento de control positivo permitió observar el mayor diámetro de la flor, seguido del control negativo, y en el siguiente grupo estadístico se encuentran los tratamientos: CaO-NP 150 ppm, CaO-NP 50 ppm y glicerol al 0.1 %. El tratamiento de CaO-NP 100 ppm fue el que presentó los valores más bajos, según el análisis estadístico al comparar los tratamientos durante todo el tiempo del experimento. Así mismo, el Control positivo ($CaCl_2$) permitió mantener el diámetro floral durante 12 días de almacenamiento en comparación con los demás tratamientos empleados (Figura 15).

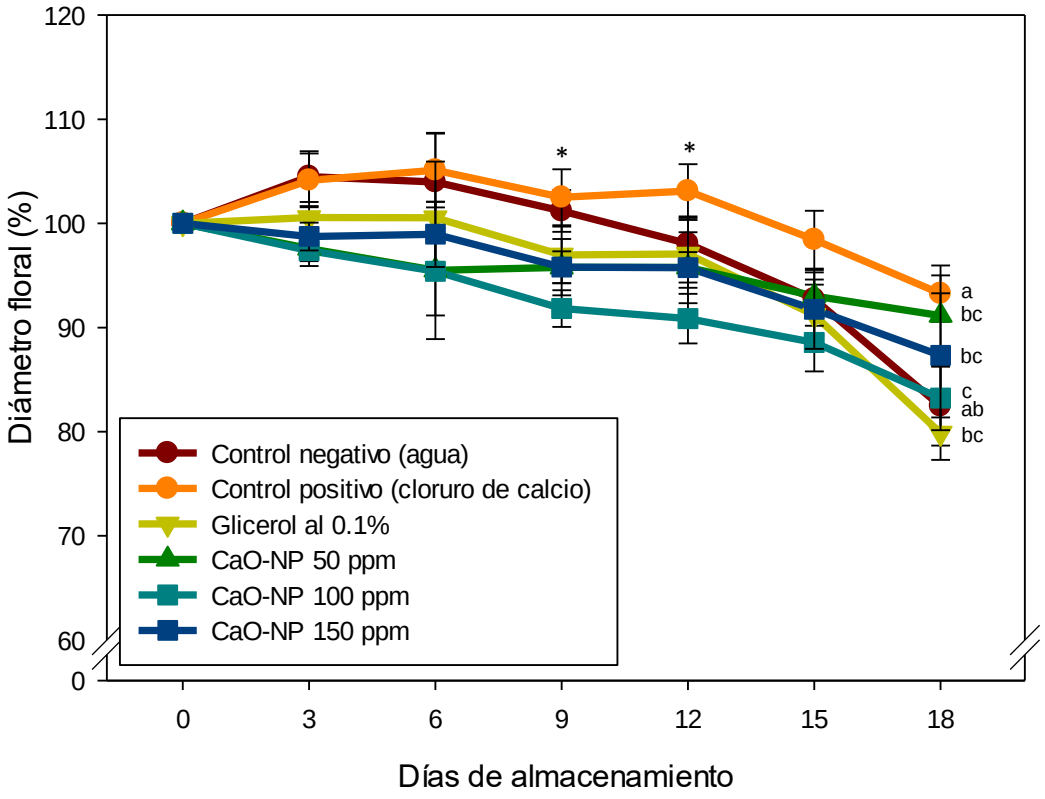

Figura 15. Diámetro de las flores de gerbera (%) tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

Como se mencionó en la variable consumo de agua (Figura 7), el consumo de las soluciones florero fue en ascenso durante todo el tiempo de almacenamiento, pero fue más evidente durante los primeros 3 días del almacenamiento. Esto repercute

sobre las diferentes variables evaluadas: curvatura del pedicelo, flexión del tallo, deshidratación, calidad de la flor y también el diámetro floral. En la Figura 15, durante los primeros 6 días de almacenamiento, las soluciones florero a base de control positivo ($CaCl_2$) y control negativo (agua) incrementaron el porcentaje de diámetro floral con respecto a los demás tratamientos, esto se relaciona con el incremento de absorción de agua (porcentaje de volumen de agua consumido), mismo que posteriormente se observa va en descenso (Figura 7) y de igual manera el diámetro de la flor (Figura 15) conforme transcurre el tiempo de almacenamiento. De acuerdo a los resultados obtenidos en esta variable, la aplicación de NP-CaO no modifica el diámetro de la cabeza floral de las gerberas.

En general, se observó que conforme incrementa el tiempo de almacenamiento, el diámetro de la flor disminuye, lo que indica que para el día 18 el diámetro de la flor fue menor en todos los tratamientos con respecto a su tamaño inicial. Al día 18, se observa una tendencia o comportamiento en la que el diámetro floral de las gerberas tratadas con soluciones florales a base de $CaCl_2$ y CaO-NP 50 ppm, fueron los que mantuvieron el diámetro de la flor por encima del control negativo (agua) y glicerol al 0.1 % (Figura 15).

En las gerberas la pérdida neta de agua ocurre en la cabeza floral y en la región superior del tallo entre 10-15 cm debajo de la cabeza floral (El Sayed *et al.,* 2018), en donde las tasas de pérdida de agua son mayores a la cantidad de agua absorbida por el tallo floral, lo que provoca un desbalance hídrico (Li *et al.,* 2018). Debido a esto, las lígulas de la cabeza floral empiezan a deshidratarse y, con ello, el diámetro de la cabeza floral disminuye conforme transcurre el tiempo de almacenamiento, tal como se muestra en la Figura 15. Generalmente, en el comercio de las flores de corte se prefieren gerberas con el tallo largo, brillante y uniforme coloración de los pétalos, floretes abiertos de manera uniforme, flores de mayor tamaño y por supuesto con una larga vida poscosecha (Sil *et al.,* 2017). Es por ello la importancia de desarrollar una solución florero eficaz para prolongar exitosamente la vida de poscosecha de las flores de gerbera y de igual manera mantener sus atractivas características físicas durante este tiempo.

V.1.9. Color.

En la Figura 16 se reportan los resultados obtenidos a partir de la escala de color CIELab y en la Tabla 1 se representa el color de las flores a partir de los valores obtenidos con esta escala, interpretados mediante un programa de color (*Color Express*). En la Figura 16A, se muestran los valores de L (luminosidad). En este parámetro no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos ($p>0.05$, Anexo 10). Al día 18 de almacenamiento, las flores de gerbera disminuyeron la luminosidad de su color (Figura 16A y Tabla 1).

En la Figura 16B se reportan los valores del parámetro *a*,* el cual indica la irisación de un eje de verde (-) a rojo (+). En este parámetro tampoco se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$, Anexo 11). La tendencia de los valores de *a** muestra que se presentaron valores más altos en los días 0, 3, 6, 9 y 12 y los valores más bajos se observan en los últimos días de almacenamiento (días 15 y 18) (Figura 16B). Lo que indica cambio en el color, siendo más rojo el reportado durante los primeros días de almacenamiento, cuyos cambios podrían estar dados por la senescencia de las flores más no por los tratamientos.

En la Figura 16C se muestran los valores de *b*,* parámetro que indica el cambio de color entre el eje azul (-) a amarillo (+). En este parámetro no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$, Anexo 12). Las tendencias de los tratamientos indican que al día 0, 3, 6 ,9 y 12 de almacenamiento se obtuvieron los valores más altos de *b** (Figura 16C). Esto indica nuevamente cambio en el color, pasando de un color rosado a un color rojo más oscuro durante el almacenamiento debido a la senescencia de la flor.

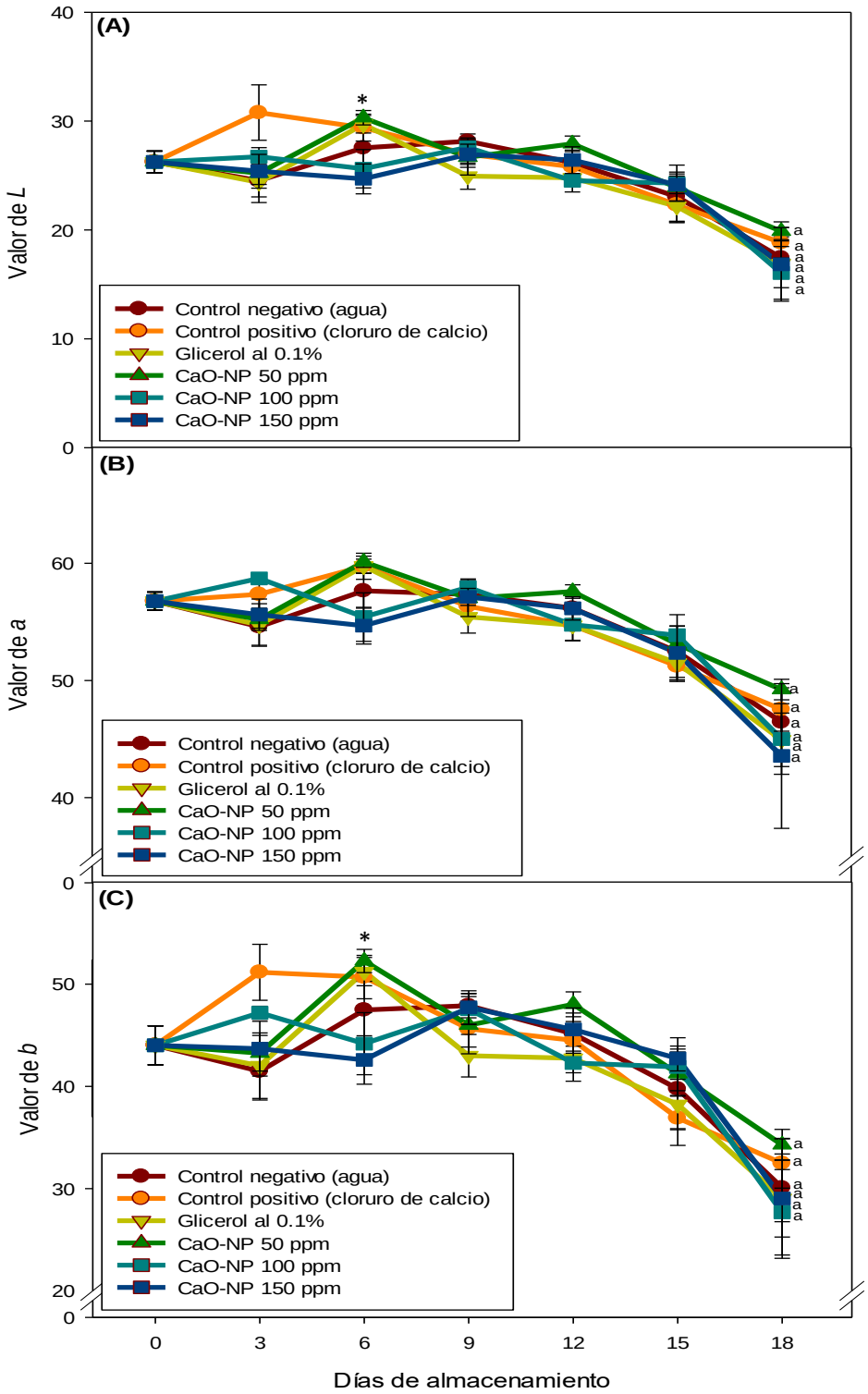

Figura 16. Color en (A) luminosidad (L); (B) *a** y (C) *b** de las flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey (p≤0.05) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

Por lo anterior, los resultados de L, *a** y *b** fueron representados mediante un programa de color para poder observar de manera visual dichos cambios (Tabla 1). Ya que el conjunto de datos (L, *a** y *b**) indica que las flores cambiaron de un color rojo a un color rojo más oscuro, principalmente por los cambios en L y *b**.

Tabla 1. Representación del color de los pétalos de flores de gerbera sometidas a diferentes tratamientos, evaluados a partir de los valores L, *a** y *b**.

Tratamiento	**Tejido**	**Pétalos de flores de *Gerbera jamesonii* L.**		
	Día	**0**	**9**	**18**
Control negativo				
Control positivo ($CaCl_2$ a 2,000 ppm)				
Glicerol al 0.1 %				
CaO-NP 50 ppm				
CaO-NP 100 ppm				
CaO-NP 150 ppm				

*Programa *Color Express.*

Gerbera jamesonii es una de las flores de corte más importantes que cumple con las exigencias de varios mercados, este éxito se debe principalmente a la amplia gama de colores y formas de la flor (Singh *et al.,* 2017). El color rojo es un atributo muy valorado por los consumidores de flores. El cambio de color de los pétalos ocurre de manera natural debido a la senescencia, después del corte las macromoléculas presentes en las flores, como proteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos, que se degradan progresivamente e inician la muerte celular

programada (Channatika, 2015). Es por ello que, durante el almacenamiento de las gerberas en los diferentes tratamientos, ocurrió el oscurecimiento de las lígulas debido a la senescencia y no a la acción de los tratamientos. La creciente exigencia en calidad por parte de los mercados genera un incremento en la demanda por prolongar su vida poscosecha, sin acentuadas pérdidas de calidad estética del producto, entre estos la calidad y color de la cabeza floral (Puerta, 2017). Es por ello que es importante mantener no solo la curvatura del pedicelo sino también un color brillante, como parte de la calidad de las flores de gerbera poscosecha.

V.2. Efecto sobre parámetros bioquímicos y antioxidantes.

V.2.1. Clorofilas *a, b* y totales.

En la Figura 17, se reporta el contenido de clorofila en tallos de gerbera. El análisis estadístico reveló diferencias significativas entre tratamientos para clorofila *a* ($p<0.05$, Figura 17, Anexo 13). La solución florero a base de $CaCl_2$ fue la que permitió obtener un mayor contenido de clorofila *a*, mientras que los tratamientos de CaO-NP 100 ppm y CaO-NP 150 ppm, fueron los que menor cantidad de clorofila *a* reportaron durante todo el tiempo de almacenamiento (Figura 17A). El contenido de clorofila *a*, en el día 3 disminuye respecto a sus valores iniciales. Posteriormente, en el día 9 se incrementa el contenido de clorofila *a* y para los últimos días (15 y 18), los valores van en descenso (Figura 17A).

El contenido de clorofila *b,* no mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$, Anexo 13). Durante los primeros días, el contenido de clorofila *b* se mantuvo en todos los tratamientos estudiados. A partir del día 15, se observa un incremento en el contenido de clorofila *b* y para el último día (18) de almacenamiento se observó nuevamente un decremento.

En cuanto a clorofilas totales (Figura 17C), el análisis estadístico reportó diferencias significativas entre tratamientos ($p<0.05$, Anexo 13); siendo el tratamiento de control positivo ($CaCl_2$) el que presentó los valores más altos, mientras que los tratamientos que reportan los valores más bajos durante el

tiempo total del periodo de almacenamiento, son las soluciones florero a base de CaO-NP 100 ppm y CaO-NP 150 ppm. El contenido de clorofilas totales disminuye en el día 3 con respecto al día inicial, posteriormente en el día 9 y 15 incrementa, para finalmente en el día 18 disminuir considerablemente.

La senescencia se define como un proceso de desmantelamiento celular, que finaliza con la muerte de células, tejidos u órganos (Gómez, 2012). Uno de los primeros cambios estructurales que se observan en una célula senescente acontece en el cloroplasto, en contraste con los cambios estructurales en el núcleo y en las mitocondrias, que son generalmente observados en etapas avanzadas de la senescencia celular (Gómez, 2012). El cambio en la pigmentación de los tejidos está dado por la muerte de cloroplastos, misma que es un síntoma inicial característico de la senescencia (Guiamet, 2004). Es por esta razón que se pueden estar disminuyendo durante el almacenamiento, la cantidad de clorofilas presentes en el tallo de gerbera durante la poscosecha. El contenido de clorofilas es variable de una especie a otra y también es variable considerando el desarrollo del tejido vegetal (Cavaiuolo, 2013). En el caso de gerbera, la degradación de los cloroplastos repercute directamente en el contenido de clorofila en los tejidos del tallo al no haber hojas. Por lo que, en relación a este trabajo, se esperaría que el contenido de clorofila *a, b* y totales, fuera en descenso durante todo el tiempo de almacenamiento, sin embargo, en el día 15, estos valores suben considerablemente, pero posteriormente, para el último día de almacenamiento (día 18), los valores del contenido de estos pigmentos están por debajo de los valores del día inicial. Gao *et al.* (2019) indicaron que la aplicación de calcio exógeno afecta el contenido de clorofila, lo que puede estar asociado a la estabilidad de las membranas celulares. Mazraei *et al.* (2020), obtuvieron un incremento en el contenido de clorofilas al emplear nanoquelatos de calcio mediante hidroponía durante el desarrollo de las flores de gerbera. Sin embargo, en el caso de este trabajo, la mayor cantidad de clorofilas se observó solo al emplear tratamientos de Ca convencional ($CaCl_2$).

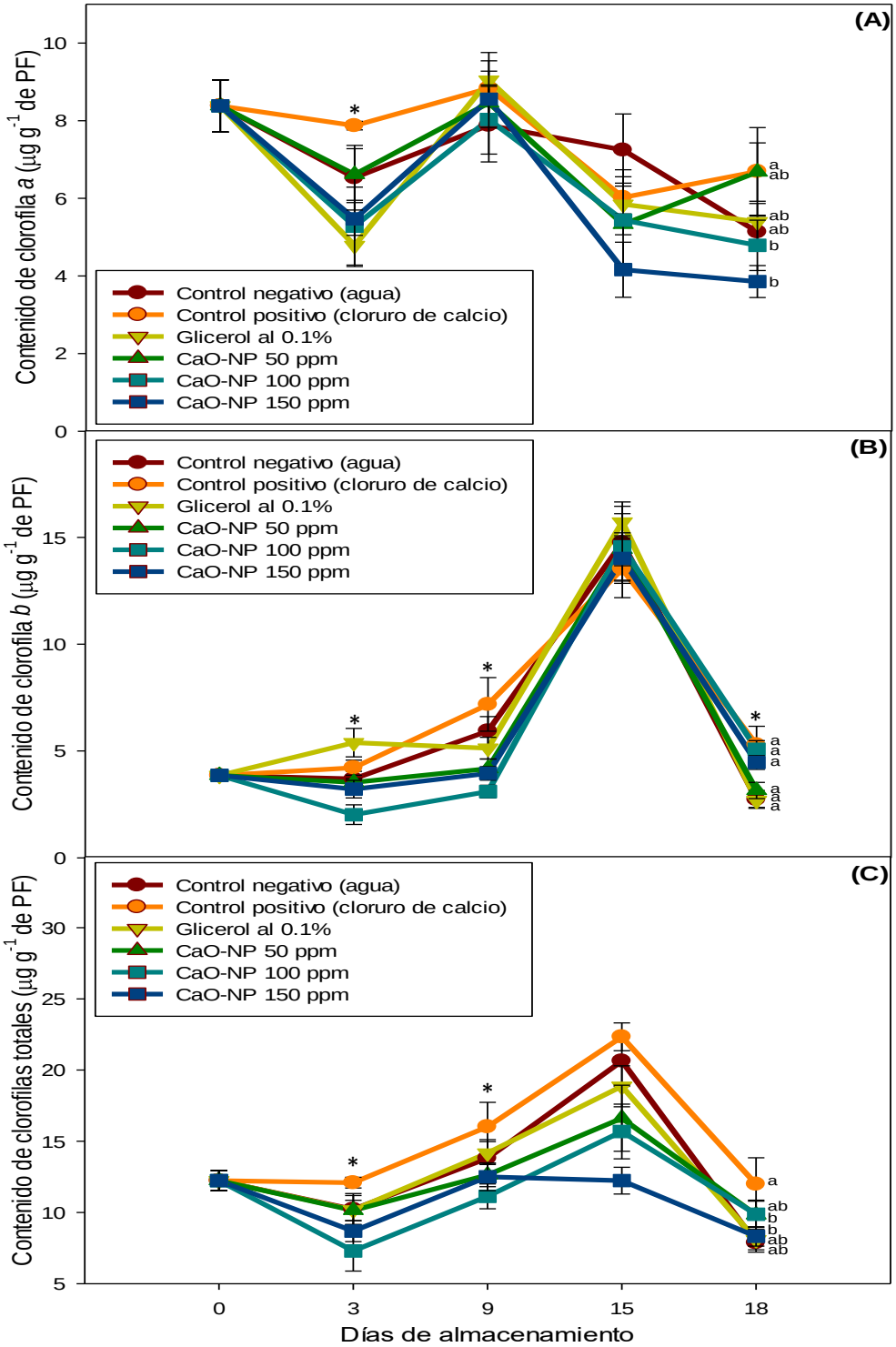

Figura 17. Clorofilas (A) *a*, (B) *b* y (C) totales (µg g^{-1} de tejido fresco) de tallos gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey (p≤0.05) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

V.2.2. Compuestos fenólicos totales.

En la Figura 18, se muestran el contenido de compuestos fenólicos totales en tallos y pétalos, en donde según el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$, Anexo 14). El contenido de compuestos fenólicos en tallos, durante todo el tiempo de almacenamiento fue en ascenso (Figura 18A). Siendo el día 15 donde se encontró el mayor contenido de compuestos fenólicos, posterior a este día, los valores fueron en descenso. Mientras que el contenido de compuestos fenólicos en pétalos (Figura 18B), durante todo el tiempo de almacenamiento fue en ascenso, siendo el último día de muestreo en donde se reporta la mayor cantidad de fenoles.

Uno de los parámetros más importantes utilizado para estimar el contenido de antioxidantes, es la determinación de compuestos fenólicos (Cavaiuolo, 2013). González-Aguilar y Zavaleta-Mancera (2012) investigaron el efecto del Ca, reportando que la aplicación de $CaCl_2$ en la solución florero, promovió la acumulación de fenoles y retrasó la senescencia, en dos cultivares de gerbera (Duela y Shirlaine). Ahmad y Rab, (2020) reportaron que la menor pérdida de proteínas y la mayor cantidad de fenoles totales se registró en flores de gladiolo mantenidos en solución de florero de Ca (200 mM), además de mejorar la calidad y la vida poscosecha. Esto lo han asociado varios autores a la estabilidad de las membranas y disminución de la senescencia, así como, a la actividad incrementada de las enzimas antioxidantes por acción del Ca (Poovaiah, 1986; GaO *et al.,* 2019; Mazraei *et al.,* 2020; Sharma *et al.,* 2020). Por lo anterior, se esperaría que tanto los tratamientos convencionales con $CaCl_2$ y la aplicación de CaO-NP incrementara el contenido de compuestos fenólicos. Sin embargo, el contenido de compuestos fenólicos totales no se ve alterada por la acción de los diferentes tratamientos con Ca. GaO *et al.* (2019) menciona que los tratamientos con Ca permiten mantener e incrementar los pigmentos, tales como: clorofilas y antocianinas, así como el contenido de compuestos fenólicos en frutos. Pero, en el caso de gerberas, tanto en el color como en el contenido de compuestos fenólicos no se observó acción del Ca.

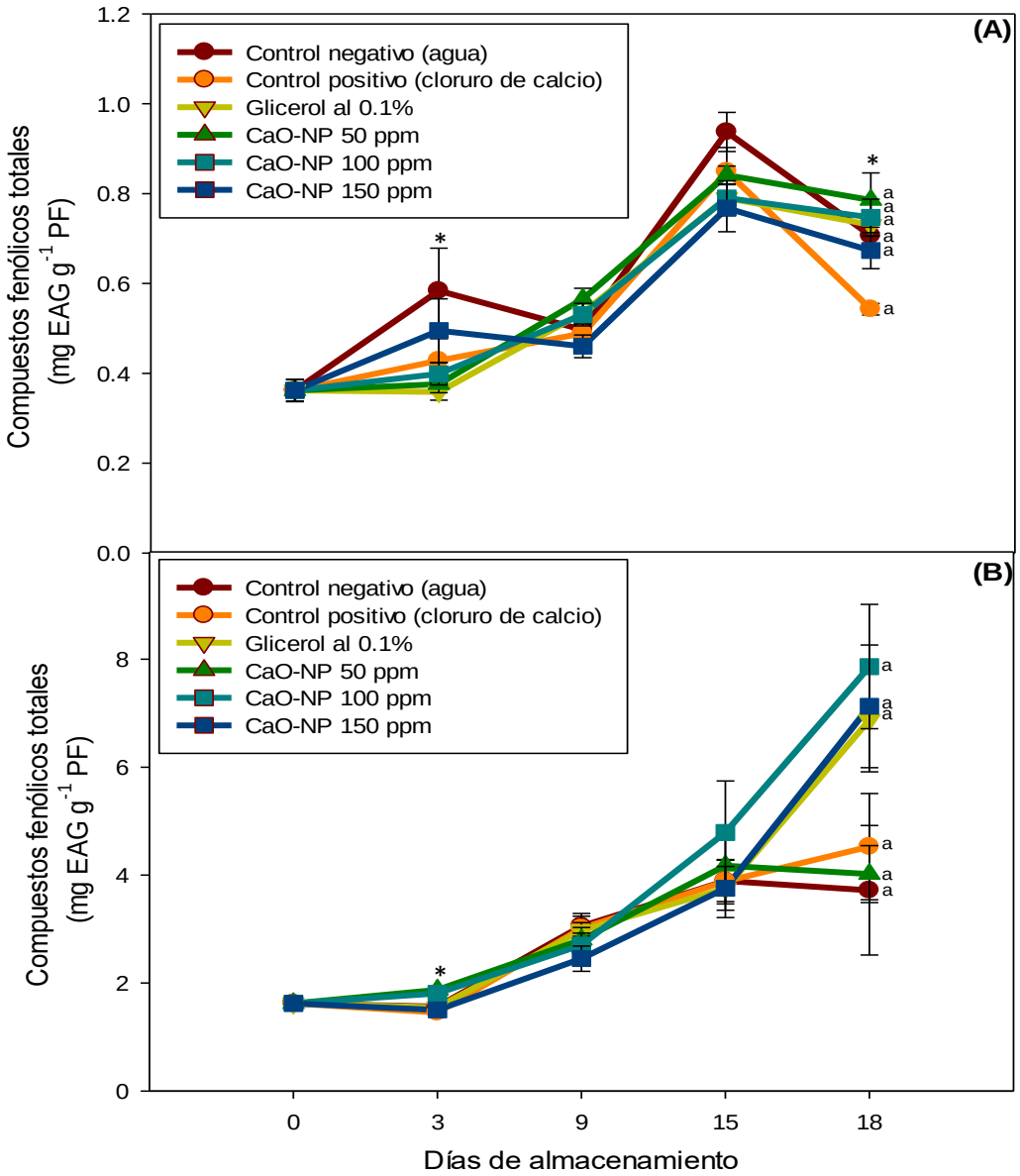

Figura 18. Compuestos fenólicos totales (mg EAG g^{-1} de tejido fresco) en (A) tallo y (B) pétalos de flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

V.2.3. Capacidad antioxidante total.

En la Figura 19, se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de capacidad antioxidante total en tallos y pétalos. En esta investigación no se

encontraron diferencias significativas entre tratamientos considerando todo el almacenamiento ($p>0.05$, Anexo 15). La capacidad antioxidante en tallos, durante el tiempo de almacenamiento fue en descenso; siendo en el día 3 donde las soluciones florero a base del tratamiento de Control positivo ($CaCl_2$) y CaO-NP 100 ppm mostraron mayor capacidad antioxidante. Así, al día 6 de almacenamiento hay un efecto por la acción de estos tratamientos, incrementando la capacidad antioxidante (Figura 19A). En el último día de muestreo se observa la tendencia de menor capacidad antioxidante del tejido de tallo en comparación con los valores iniciales (Figura 19A).

En cuanto a la capacidad antioxidante en tejidos de pétalos, ocurre un efecto contrario a lo observado en tallo donde, en el día 6 de almacenamiento hay un decremento de la capacidad antioxidante en los pétalos de las flores de gerbera colocadas en soluciones florero con Ca. Si se considera todo el periodo de almacenamiento, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0.05$, Anexo 15, Figura 19B). Sin embargo, es posible observar, que la capacidad antioxidante del tejido de pétalos en el último día de muestreo, es inferior con respecto a los valores obtenidos de la evaluación del día inicial (día 0) en los tratamientos de Control positivo ($CaCl_2$) y 150 ppm CaO-NP de manera significativa ($p<0.05$). Por lo que el resto de los tratamientos permitió mantener la capacidad antioxidante en los pétalos de las flores de gerbera durante el almacenamiento.

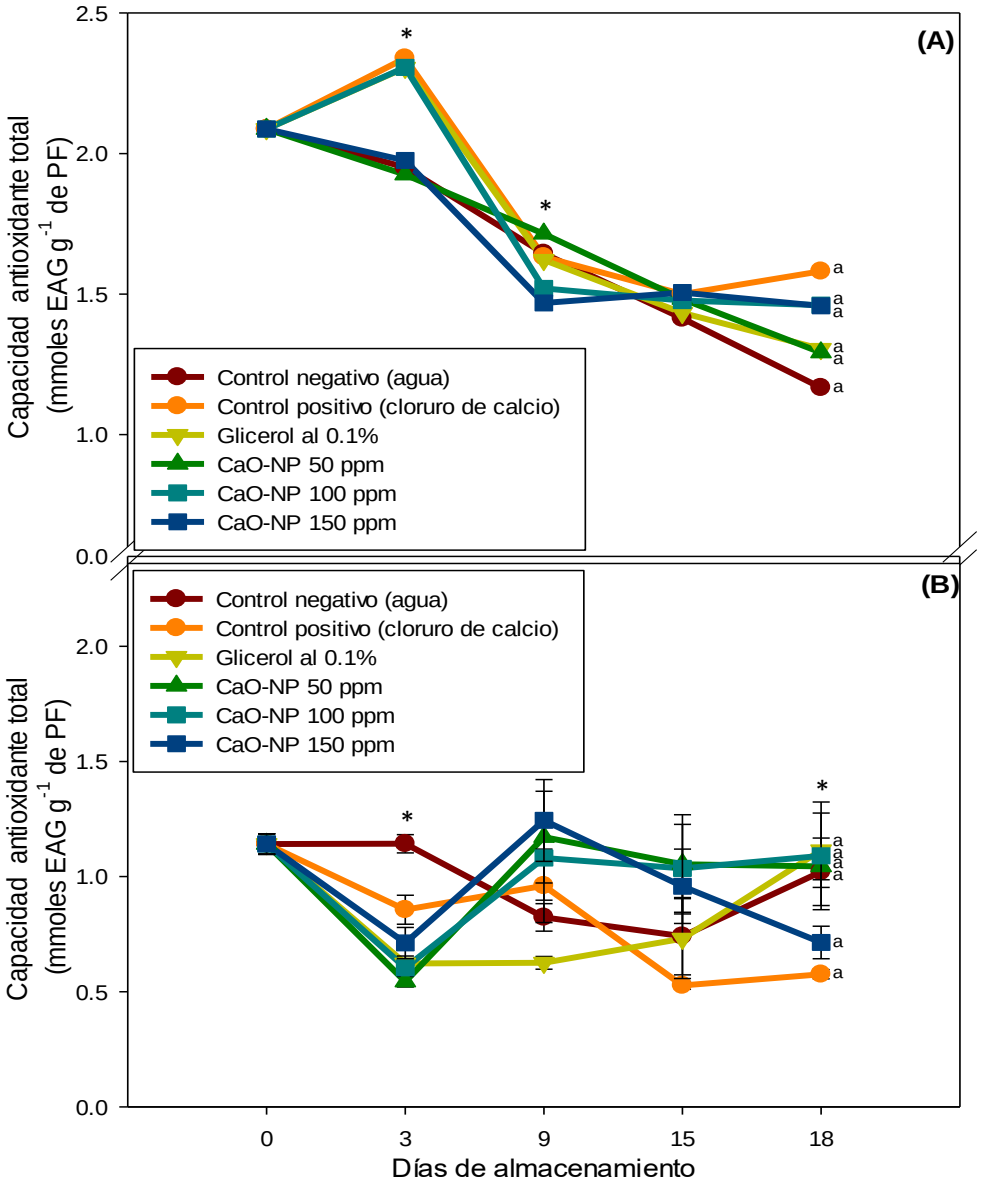

Figura 19. Capacidad antioxidante total (µmoles EAG g^{-1} de tejido fresco) en (A) tallo y (B) pétalos de flores de gerbera tratadas con diferentes soluciones florero durante 18 días poscosecha almacenadas a 25 °C. Los símbolos muestran la media de los tratamientos (n=8) por día de muestreo ± error estándar. Letras diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos durante el tiempo total del experimento. *indican diferencias entre tratamiento por días de almacenamiento.

Los antioxidantes son compuestos que retardan o previenen la oxidación de otras moléculas y su papel es terminar con las reacciones de oxidación e inhibir otras reacciones oxidándose ellos mismos (Zenil-Lugo *et al.,* 2014). Los cuales se puede ver modificado por la acción del Ca al incrementar la actividad de enzimas antioxidantes y disminuir la senescencia (Poovaiah, 1986; GaO *et al.*, 2019). Lugo *et al.* (2014) evaluaron el efecto de dos soluciones preservantes: 8-hidroxiquinolina (HQC) y Chrystal Clear® Professional 2® 2 T-bag (CHRYSTAL), en tallos de rosa 'Fredom' en un pulso de 24 h, los resultados muestran que las soluciones conservantes promueven un aumento de capacidad antioxidante total y del contenido fenólico total en la hoja, pero no en el pétalo. En este proyecto, tanto los tratamientos convencionales (control positivo, $CaCl_2$) como la mayor concentración de CaO-NP (150 ppm) tienen efecto sobre la capacidad antioxidante, al parecer de manera tejido específica. Ya que en el caso del tallo se mantiene la capacidad antioxidante en comparación con el resto de los tratamientos; y en las lígulas, la capacidad antioxidante disminuye. Sin embargo, no hay mucha información disponible sobre la acción de Ca sobre la capacidad antioxidante a nivel nanoescala. Aghdam *et al*. (2019) estudiaron el efecto de la aplicación precosecha de $CaCl_2$ y nitrato de Ca en donde estos tratamientos retrasaron la senescencia de las flores y aumentó la actividad enzimatica antioxidante; lo que repercute en la capacidad antioxidante de los tejidos. El contenido de antioxidantes cambia durante el desarrollo y durante la senescencia, muchos sistemas bioquímicos y mecanismos moleculares se activan para contrarrestar el aumento de especies reactivas de oxígeno y radicales libres (Cavaiuolo, 2013). Por lo que, la disminución observada en los tallos de las flores de gerbera, principalmente en las flores control (control negativo, solo agua) puede deberse principalmente a la senescencia; cuyo mantenimiento de la capacidad antioxidante en los tratamientos control positivo ($CaCl_2$) y 150 ppm CaO-NP, puede estar dada por la acción del Ca. Como ya se mencionó anteriormente, los compuestos fenólicos son los más relacionados con la capacidad antioxidante en las plantas (Cavaiuolo, 2013), por lo que generalmente, un mayor contenido de compuestos fenólicos implica mayor contenido antioxidante. Sin embargo, el estrés oxidativo generado por un

incremento en los radicales libres, trae como consecuencia la disminución de la capacidad antioxidante (Costantini y Verhulst, 2009).

V.3. Efecto de las nanopartículas de óxido de calcio en el tallo de la flor mediante Microscopia Electrónica de Barrido (SEM).

En la Figura 21 se observan las imágenes obtenidas del análisis de SEM. Se muestran las tres regiones del tallo floral (región inferior, media y superior), mismas en las que se corrobora la presencia de Ca. Es posible observar una mayor cantidad de partículas de Ca en la región del corte, lo cual es lógico debido a que es la región que se encuentra en contacto con la solución florero. De igual manera en las demás regiones del tallo se aprecian las partículas de Ca. La toma de imágenes fue en un intervalo entre 5-500 µm, para obtener una mejor calidad de imagen. Se realizó la captura de la muestra con electrones retrodispersados, mismos que se producen cuando un electrón del haz choca frontalmente con el núcleo de un átomo (en este caso el Ca) de la muestra, siendo repelido en sentido contrario fuera de la muestra; dando así, una mejor calidad de imagen de la muestra del tejido analizado. Las partículas de Ca se aprecian en la Figura 21 como circunferencias de color blanco brillante.

Además, se realizó un análisis micro-elemental SEM-EDS para la identificación y cuantificación de rayos x característicos del Ca y así corroborar que lo que se estaba observando de la muestra era realmente la presencia de Ca en las tres regiones del escapo floral. Carrillo-López *et al.* (2016) estudiaron el efecto de Ag-NP en soluciones florero de crisantemos cv. 'Puma', al analizar el tejido del tallo mediante SEM encontraron que el tratamiento de 5 mM de Ag-NP generó daños al parénquima medular en contraste con el tratamiento con Ag-NP 0.01 mM, que no alteró la anatomía del tallo, por lo que sugieren que altas concentraciones de Ag-NP son dañinas para las células del parénquima de crisantemo cv. 'Puma'. En este trabajo es posible afirmar, que las CaO-NP utilizadas en soluciones florero no generan ningún cambio o malformación en ninguna de las tres regiones evaluadas como respuesta de algún tipo de toxicidad ocasionada por los tratamientos (Figura 20).

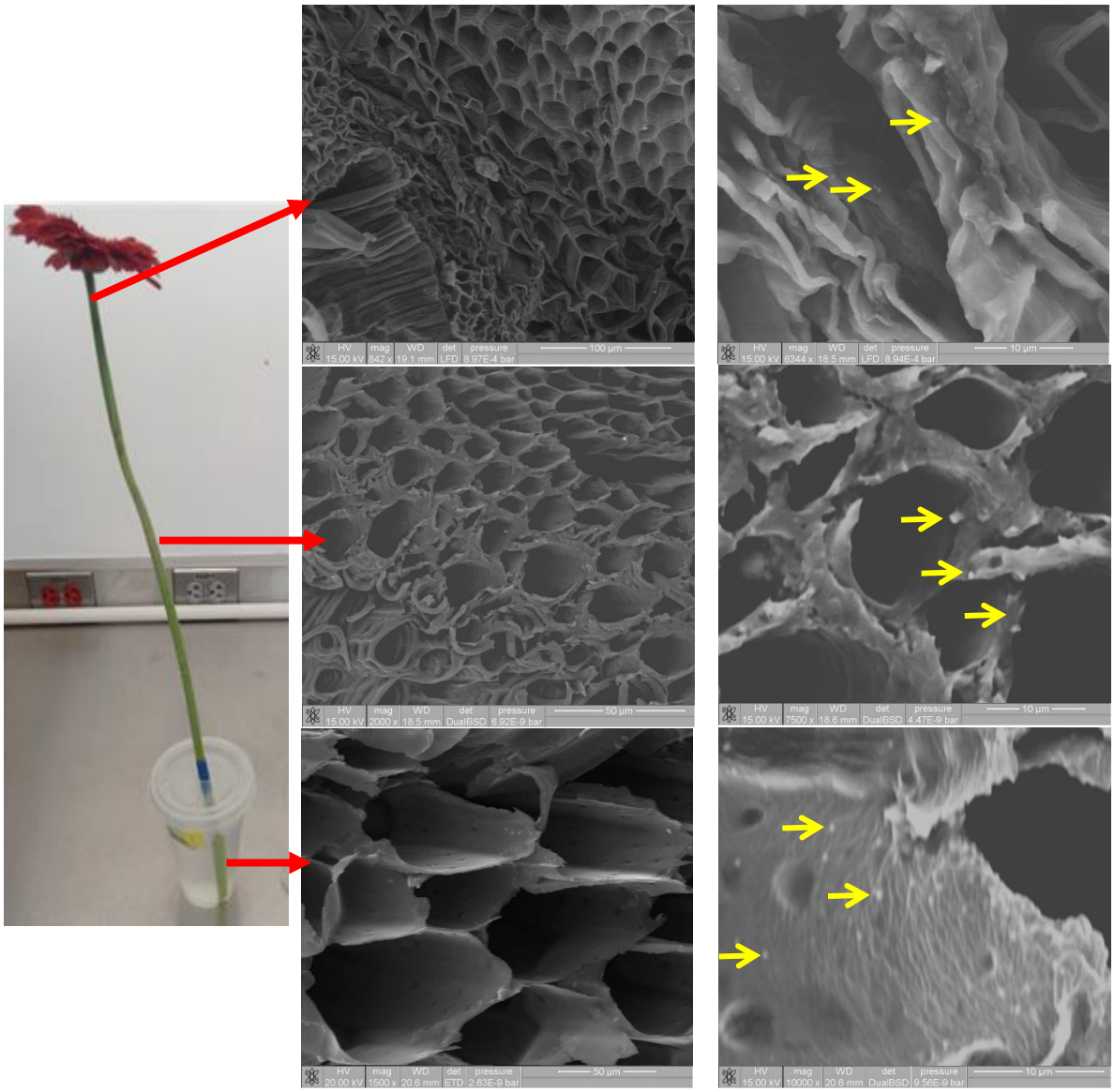

Figura 20. Presencia de nanopartículas de óxido de calcio en tres regiones del tallo de flores de gerbera tratadas con CaO-NP 100 ppm durante 24 horas a 25 °C.

Naing *et al.* (2017) analizaron mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) los tejidos del tallo de tres cultivares ('Alliance', 'Rosalin' y 'Bintang') tratados con diferentes concentraciones de soluciones pulso a base de nitroprusiato de sodio por 24 h, reportando que hasta el día 9 de almacenamiento, los tres cultivares estudiados no presentaron bloqueo del xilema, mientras que en los controles, sí.

Esta obstrucción debido al crecimiento de bacterias afectó el transporte de agua y provocaron la flexión del tallo. Resultados similares fueron reportados por Antes *et al.* (2009), quienes al evaluar el producto comercial Flower® demostraron con ayuda de SEM, que los tratamientos controles presentaron crecimiento de bacterias, mismas que bloquearon los vasos de xilema mientras que los tallos tratados con este producto Flower® al 1 %, lograron reducir esta problemática en flores de gerbera cv. 'Patrizia'.

V.4. Efecto de las nanopartículas de óxido de calcio sobre la carga bacteriana en las soluciones florero.

V.4.1. Conteo de bacterias en las soluciones florero.

Los resultados obtenidos en cuanto al contenido de microorganismos presentes en las soluciones florero mostraron diferencias significativas entre tratamientos considerando todo el periodo de almacenamiento ($p<0.05$, Anexo 21). El tratamiento a base de control positivo ($CaCl_2$) fue el que presentó el mayor número de unidades formadoras de colonias (UFC mL^{-1}), mientras que los tratamientos de CaO-NP 50 ppm, CaO-NP 150 ppm y glicerol 0.1 % presentaron la menor cantidad de carga microbiana en el tiempo total de almacenamiento (Tabla 2).

Tabla 2. Carga microbiológica de las diferentes soluciones florero y días evaluados.

Tratamientos	Unidades formadoras de colonias (UFC mL^{-1})				
	Días	0	3	9	18	
Control negativo		0 ± 0 a	46,333 ± 6,359 **a**	333 ± 176 **b**	4,566 ± 611 **bc**	B
Control positivo		0 ± 0 a	33,666 ± 2,185 **a**	91,666 ± 6,565 **a**	2,366 ± 66 **bc**	A
Glicerol al 0.1 %		0 ± 0 a	1,766 ± 328 **b**	1,133 ± 33 **b**	1,266 ± 145 **c**	C
CaO-NP 50 ppm		0 ± 0 a	8,566 ± 1,008 **b**	800 ± 152 **b**	23,000 ± 300 **bc**	C
CaO-NP 100 ppm		0 ± 0 a	10,833 ± 6,933 **b**	9,200 ± 723 **b**	38,000 ± 4,509 **a**	B
CaO-NP 150 ppm		0 ± 0 a	1,366 ± 120 **b**	7,366 ± 260 **b**	11,666 ± 2185 **b**	C

Los datos muestran la media ± error estándar de una n=3. Letras minúsculas diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p<0.05$) entre tratamientos por día de muestreo. Letras

mayúsculas diferentes indican significancia según la prueba de Tukey ($p<0.05$) entre tratamientos durante todo el periodo evaluado.

Comparando los valores obtenidos al analizar las diferencias entre los días de muestreo, en el día 3, los tratamientos a base de CaO-NP (50, 100 y 150 ppm) y glicerol, presentaron valores inferiores de carga de UFC mL^{-1} en contraste al control negativo y control positivo. Para el día 9, el control positivo ($CaCl_2$) seguía siendo el tratamiento con mayor carga microbiana, mientras que el resto de los tratamientos se encontraron dentro del mismo grupo estadístico, con valores inferiores. Los tratamientos a base de CaO-NP (50, 100 y 150 ppm), podrían estar disminuyendo la carga de microorganismos durante los primeros días de almacenamiento (Tabla 2).

Para el último día de muestreo (día 18), la solución florero a base de CaO-NP 100 ppm fue la que presentó la mayor cantidad de UFC mL^{-1}. Mismo tratamiento que según (Tang *et al.,* 2013), tendría el mayor efecto antimicrobiano. La variabilidad en el efecto de los tratamientos a base de CaO-NP para el día 18 de almacenamiento, podría estar inhibida por la variedad de microorganismos presentes en las soluciones florero dado a la carga con la cual las flores podrían venir del campo. Ro *et al.* (2015) reportaron que el mecanismo antibacteriano del CaO tanto a nivel partícula como NP se debe a la alcalinidad y a la acción del oxígeno activado generado a partir del CaO. El crecimiento de microorganismos en las soluciones florero y en la base de los tallos es la principal causa del bloqueo de los vasos del xilema, lo cual reduce la absorción de agua y en consecuencia la longevidad de los tallos florales (Zagory y Reid, 1986). En las soluciones florero es común encontrar las bacterias: *Pseudomonas (P. aeruginosa, P. cepacia, P. pikettii, P. spec.), Acinetobacter lwoffii, Shigella sp., Yersinia pseudotuberoculosis y Erwinia sp.* (Zagory y Read, 1986; de Witte *et al.,* 2014). Un tallo herido que respira rápidamente y que se coloca en agua, agota rápidamente el oxígeno de la solución del florero, proporcionando condiciones perfectas de crecimiento para los microorganismos que se benefician del contenido celular liberado de las células dañadas durante el corte (Mishra y Dwivedi, 2015). El crecimiento de bacterias en los vasos de xilema resulta en el bloqueo del mismo y contribuye a una menor

calidad del tallo floral (Antes *et al.,* 2009). Por lo que no sólo puede estar afectando el tipo de microorganismo presente en la solución florero, sino que también es importante la carga microbiológica endógena que presentan los tallos florales.

VI. CONCLUSIONES

Las CaO-NP a 150 ppm aplicadas en soluciones florero disminuyeron significativamente la curvatura del pedicelo, siendo este el principal parámetro para determinar la vida útil de las flores de gerbera, además, este mismo tratamiento redujo significativamente la pérdida de peso, similar a la aplicación de tratamientos convencionales con $CaCl_2$. Las CaO-NP (100 y 150 ppm) mantuvieron la calidad visual poscosecha de las flores de gerbera durante 15 días. La clorofila *a* y total se disminuyen a mayor concentración de CaO-NP (100 y 150 ppm) en el tallo de gerbera. No se encontraron cambios sobre el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en los pétalos y tallos por efecto de las CaO-NP. Mientras que las CaO-NP reducen el contenido microbiológico en las soluciones florero durante los primeros 9 días de almacenamiento. Por lo que se propone que la aplicación de NP-CaO a 150 ppm en soluciones florero tiene efectos benéficos en la conservación de los tallos de gerbera por la acción directa del Ca y su tamaño nanométrico, permitiendo mantener a las flores de corte durante al menos 15 días poscosecha con buena calidad.

VII. PERSPECTIVAS

Se requiere reforzar el análisis sobre el efecto de inhibición de las CaO-NP sobre microorganismos de interés, así como, la respiración de las flores poscosecha y el efecto del Ca sobre los componentes de la pared celular.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aghdam, M., Asil, M.H., Ghasemnezhad, M. y Mirkalaei, S.A.A.M. (2019). Effects of pre-harvest applications of different source of calcium on the cell wall fractions and stem bending disorder of Gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) cultivar flowers. *Advances in Horticultural Science*, 33(1): 57-65. https://doi.org/10.13128/ahs-23328

Ahmad, M. y Rab, A. (2020). Calcium effects on post-harvest attributes and vase life of gladiolus using different methods of application. *Pakistan Journal of Botany,* 52(1): 167-179. http://dx.doi.org/10.30848/PJB2020-1(28)

Anantharaman, A., Ramalakshmi, S. y George, M. (2016). Green synthesis of calcium oxide nanoparticles and its applications. *International Journal of Engineering Research and Applications,* 6(10): 27-31.

Antes, R.B., Montero, C.R.S., Rieth, S., Duarte, V. y Bender, R.J. (2009). Bloqueio vascular de hastes de gérberas cv. Patrizia. *Biotemas.* 22(2): 1-7. https://10.5007/2175-7925.2009v22n2p1

Arce, K., Bozzano, A.F., Goldberg, A.J., Gualandra, G.J. y Rosso, M.J. (2017). Determinación de la productividad y calidad comercial de distintas variedades de la especie *Gerbera jamesonii* en la Provincia de Córdoba, Argentina. Tesis. 45 pp.

Arévalo-Galarza, M.L., García-Osorio, C. y Rosas-Saíto, G.H. (2012). Factores que afectan la vida de florero en flores de corte. *Agroproductividad,* 5(3): 28-36.

Arpin, M.T. y Yusup, S. (2011). Enhancement of calcium oxide (CaO) for carbon dioxide (CO_2) capture. *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences,* 5(1): 1391-1397.

Baas, R., Nijssen, H.M.C., Van Den-Berg, T.J.M. y Warmenhoven, M.G. (1995). Yield and quality of carnation and gerbera in a closed nutrient system as

affected by sodium chloride. *Scientia Horticulturae*. 61: 273-284. https://doi.org/10.1016/0304-4238(94)00728-X

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - *Food Science and Technology* 28(1): 25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

CALCINOR, (2020). Oxido de calcio. Altzo (Gipuzkoa), España. http://www.calcinor.com/es/productos/oxido-de-calcio-cal-viva/

Carrillo-López, L.M., Morgado-González, A. y Morgado-González, A. (2016). Biosynthesized silver nanoparticles used in preservative solutions for Chrysanthemum cv. Puma. *Journal of Nanomaterials*. https://doi.org/10.1155/2016/1769250

Cavaiuolo, M., Cocetta, G. y Ferrante, A. (2013). The antioxidants changes in ornamental flowers during development and senescence. *Antioxidants.* 2(3): https://doi.org/10.3390/antiox2030132

Channatika, K., Kanjana, K., Saichol, K. y Doornet, W.G.V. (2015) Vesicles between plasma membrane and cell wall prior to visible senescence of Iris and Dendrobium flowers. *Journal Plant Physiology.* 188: 37-43.

Chinthakuntla, A., Kumar, M.K., Chakra, C.S., Rao, K.V. y Dayakar, T. (2014). Calcium oxide nanoparticles synthesized from chicken egg shells by physical method. *En: International Conference Emerging Technologies in Mechanical Sciences.* Conference paper. pp. 72-75.

Combrink, N.J. (2017). Calcium improves gerbera (*Gerbera hybrida*) vase life. *South African Journal of Plant and Soil*. 35: 235-236. https://doi.org/10.1080/02571862.2017.1354089

Costantini, D. y Verhulst, S. (2009). Does high antioxidant capacity indicate low oxidative stress?. *Functional Ecology*, 23(3), 506-509. https://doi.org/10.HH/j.1365-2435.2009.01546.x

de Witte, Y., Harkema, H. y van Doorn, W.G. (2014). Effect of antimicrobial compounds on cut Gerbera flowers: Poor relation between stem bending

and numbers of bacteria in the vase water. *Postharvest Biology and Technology*, 91: 78-83. https://doi.org/10.2307/2806386

Deng, Z. y Bhattarai, K. (2018) Gerbera. Ornamental Crops. Handbook of Plant Breeding, Springer, Cham. 11: 407-438. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

El Sayed, A. (2018). Improving the quality of gerbera flowers after harvesting. *Middle East Journal,* 7(3): 915-931.

El-Serafy, R.S. (2019). Silica nanoparticles enhances physio-biochemical characters and postharvest quality of *Rosa hybrida* L. cut flowers. *Journal of Horticultural Research*, 27(1): 47-54. https://doi.org/10.2478/johr-2019-0006

Félix-Gastélum, R., Maldonado-Mendoza, I.E., Beltran-Peña, H., Apodaca-Sánchez, M.Á., Espinoza-Matías, S., Martínez-Valenzuela, M.D.C., Longoria, R.M. y Espinoza Olivas-Peraza, N.G. (2017). Las cenicillas en cultivos agrícolas de Sinaloa: Situación actual sobre su identificación y líneas futuras de investigación. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(1): 106-129. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1607-4

Ferrante, A., Alberici, A., Antonacci, S. y Serra, G. (2007). Effect of promoter and inhibitors of phenylalanine ammonia-lyase enzyme on stem bending of cut gerbera flowers. *En: International Conference on Quality Management in Supply Chains of Ornamentals* 755. pp. 471-476.

Gao, Q., Xiong, T., Li, X., Chen, W. y Zhu, X. (2019). Calcium and calcium sensors in fruit development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 253, 412-421. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.069

Gerasopoulos, D. y Chebli, B. (1999). Effects of pre-and postharvest calcium applications on the vase life of cut gerberas. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology,* 74(1): 78-81.

Geshnizjany, N., Ramezanian, A. y Khosh-Khui, M. (2014). Postharvest life of cut gerbera (*Gerbera jamesonii*) as affected by nano-silver particles and calcium

chloride. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1: 171-180. https://doi.org/10.22059/IJHST.2014.52790

Getu, M. (2009). Ethiopian floriculture and its impact on the environment: regulation, supervision and compliance, *Mizan Law Review*, 3(2): 240-270.

Gomez, F.M. (2012). Regulación de los pasos iniciales de la degradación de clorofila durante la senescencia foliar. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de La Plata.

González-Aguilar, S. y Zavaleta-Mancera, A. (2012). El $CaCl_2$ en la vida florero de gerbera: pigmentos, fenoles, lignina y anatomía del escapo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas,* 3(3): 539-551.

Guiamet, J.J. (2004). La senescencia foliar: incógnitas del desmantelamiento celular. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Møller, I.S. y White, P. (2012). Functions of macronutrients. En: *Marschner's mineral nutrition of higher plants:* Third Edition. Academic Press. pp. 135-189. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00006-6

Hema, P., Bhaskar, V.V., Dorajeerao, A.V.D. y Suneetha, D.R.S. (2018). Effect of post-harvest application of biocides on vase life of cut gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook) cv. Alppraz. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 7: 2596-2606.

Herreros, D.L.M. (1975). Multiplicación de la gerbera. Hojas Divulgadoras. Ministerio de Agricultura. Madrid, España. 22-75 pp.

Hintze, J. (2006). NCSS, PASS, and GUESS. NCSS. Kaysville, Utah. www.ncss.com

Hoseinnejad, M., Jafari, S.M. y Katouzian, I. (2017). Inorganic and metal nanoparticles and their antimicrobial activity in food packaging applications. *Critical Reviews in Microbiology,* 44(2): 161-181. https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1332001

Huang, X., Lin, S., He, S., Lin, X., Liu, J., Chen, R. y Li, H. (2018). Characterization of stomata on floral organs and scapes of cut 'Real' gerberas and their involvement in postharvest water loss. *Postharvest Biology and Technology,* 142: 39-45. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.04.001

In, B.C., Lee, J.H., Lee, A.K. y Lim, J.H. (2016). Conditions during export affect the potential vase life of cut roses (*Rosa hybrida* L.). *Horticulture, Environment, and Biotechnology,* 57(5): 504-510. https://doi.org/10.1007/s13580-016-1119-0

Kazemi, M., Abdossi, V., Kalateh Jari, S. y Ladan Moghadam, A.R. (2018). Effect of pre-and postharvest salicylic acid treatment on physio-chemical attributes in relation to the vase life of cut rose flowers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 93(1), 81-90. https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1344571

Li, C., Tao, J., Zhao, D., You, C. y Ge, J. (2012a). Effect of calcium sprays on mechanical strength and cell wall fractions of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.). *International Journal of Molecular Sciences,* 13(4): 4704-4713. https://doi.org/10.3390/ijms13044704

Li, C.X., Luan, W., Wang, M.X., Wei, C.M., Fan, Y.F., Ma, X.R., Mao, P., Tao, X., Wang, Y. y Dai, Y. (2018). Titanium ions inhibit the bacteria in vase solutions of freshly cut *Gerbera jamesonii* and extend the flower longevity. *Microbial Ecology*. 1-13. https://doi.org/10.1007/s00248-018-1273-2

Li, H., Huang, X., Li, J., Liu, J., Joyce, D. y He, S. (2012b). Efficacy of nano-silver in alleviating bacteria-related blockage in cut rose cv. Movie Star stems. *Postharvest Biology and Technology,* 74: 36-41. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.06.013

Lichanporn, I., Nantachai, N. y Tunganurat, P. (2019). Effect of calcium carbonate-nanoparticles-longkong peel extracts coating on quality browning of longkong fruit. *EasyChair preprint,* 964.

Linares, V.P. (2009). Historia de la producción de cal en el norte de la cuenca de México. *Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 16(3): 227-234.

Lo'ay, A.A. y Ameer, N.N. (2019). Performance of calcium nanoparticles blending with ascorbic acid and alleviation internal browning of 'Hindi Be-Sennara' mango fruit at a low temperature. *Scientia Horticulturae*, 254: 199-207. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.05.006

Lü, P., Cao, J., He, S., Liu, J., Li, H., Cheng, G. y Joyce, D.C. (2010). Nano-silver pulse treatments improve water relations of cut rose cv. Movie Star flowers. *Postharvest Biology and Technology.* 57(3): 196-202. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.04.003

Mazraei, S., Chehrazi, M. y Khaleghi, E. (2020). The effect of calcium nanochelate on morphological, physiological, biochemical characteristics and vase life of three cultivars of Gerbera under hydroponic system. *Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture)*, 43(1), 53-66. https://doi.org/10.22055/PPD.2019.25085.1574

Mentcarelli, F., Agostini, R.R., Botondi, R. y Massantini, R. (1995). Ethylene production, ACC content, PAL and POD activities in excised section of straight and bent gerbera scapes. *Journal Horticultural Science*. 70: 409-416. https://doi.org/10.1080/14620316.1995.11515310

Merck. (2020a). Calcium oxide. https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/634182?lang=es&region=MX

Merck. (2020b). Calcium chloride. https://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=383147&interface=All&N=0&mode=match%20partialmax&lang=es&region=MX&focus=product

Minerva, G. y Kumar, S. (2012). Micropropagation of gerbera (*Gerbera jamesonii Bolus*). Protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants. Methods in molecular biology (methods and protocols), Humana Press, Totowa, NJ. 994: 305-316. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8

Mishra, V. y Dwivedi, S.K. (2015). Postharvest management of fresh cut flowers. Postharvest Biology and Technology of Horticultural Crops: Principles and Practices for Quality Maintenance. *Apple Academic Press and CRC Press Taylor and Francis Group.* Waretown, NJ, USA. pp, 347-399.

Naing, A.H., Lee, K., Kim, K.O., Ai, T.N. y Kim, C.K. (2017). Involvement of sodium nitroprusside (SNP) in the mechanism that delays stem bending of different gerbera cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 8: 2045. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02045

Nikbakht, A., Kafi, M., Babalar, M., Xia, Y.P., Luo, A. y Etemadi, N. (2008). Effect of humic acid on plant growth, nutrient uptake, and postharvest life of gerbera. *Journal of Plant Nutrition,* 31(12): 2155-2167. https://doi.org/10.1080/01904160802462819

Perik, R.R., Razé, D., Ferrante, A. y van Doorn, W.G. (2014). Stem bending in cut *Gerbera jamesonii* flowers: Effects of a pulse treatment with sucrose and calcium ions. *Postharvest Biology and Technology*, 98: 7-13. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.06.008

Poovaiah, B.W. (1986). Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. *Food Technology*, 40(5), 86-89.

Praveen, N.M., Vijayaraghavan, R., Beena, S. y Krishnan, S. (2018). Occurrence of powdery mildew disease of Gerbera in Kerala. *Journal of Horticultural Sciences,* 13(2): 217-220.

Puerta, A.V. (2017). Evaluación de la calidad postcosecha de tres cultivares de *Gerbera jamesonii* L. y del efecto de la utilización de cloruro de calcio sobre el curvado del pedúnculo floral. Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral.

Pugliese, M., Monchiero, M., Gullino, M.L. y Garibaldi, A. (2018). Application of laminarin and calcium oxide for the control of grape powdery mildew on Vitis vinifera cv. Moscato. *Journal of Plant Diseases and Protection,* 125(5): 477-482. https://doi.org/10.1007/s41348-018-0162-8

Ramirez, H.J.J., Avitia, R.J.A. y Castro, U.E.J. (2017). Mexican floriculture at the dawn of the twenty-first century: its position and dynamism in international markets. *En XVI International Business & Economy Conference (IBEC)-Chile.*

Ranjbar, S., Ramezanian, A. y Rahemi, M. (2019). Nano-calcium and its potential to improve 'Red Delicious' apple fruit characteristics. *Horticulture Environment and Biotechnology.* https://doi.org/10.1007/s13580-019-00168-y

Reid, M. (2009). Poscosecha de las flores cortadas manejo y recomendaciones. Ed. Hortitecnia Ltda. Universidad de California, Davis CA. EEUU.

Reid, M.S. (1989). The role of ethylene in flower senescence. *En IV International Symposium on Postharvest Physiology of Ornamental Plants.* 261: 157-170.

Reid, M.S. y Jiang, C.Z. (2012). Postharvest biology and technology of cut flowers and potted plants. En: Janick, J. (Ed.), Horticultural Reviews. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, EUA, pp. 1-54.

Ro, E.Y., Ko, Y.M. y Yoon, K.S. (2015). Survival of pathogenic enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) and control with calcium oxide in frozen meat products. *Food Microbiology,* 49: 203-210. https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.02.010

Saeed, T., Hassan, I., Abbasi, N.A. y Jilani, G. (2016). Antioxidative activities and qualitative changes in gladiolus cut flowers in response to salicylic acid application. *Scientia Horticulturae.* 210: 236-241. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.07.034

Safaei-Ghomi, J., Ghasemzadeh, M.A. y Mehrabi, M. (2013). Calcium oxide nanoparticles catalyzed one-step multicomponent synthesis of highly substituted pyridines in aqueous ethanol media. *Scientia Iranica,* 20(3): 549-554. https://doi.org/10.1016/j.scient.2012.12.037

SAGARPA (2015). Productores Mexicanos preparados para abastecer demanda de flores. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México.

SAGARPA (2018). Floricultura, cultivando belleza y ganancias. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México.

Salas-Solís, C.V., Zavaleta-Mancera, A., Arévalo Galarza, M. de L., Carrillo-López, L.M. y Luna-Cavazos, M. (2018). Sacarosa y ácido cítrico en soluciones con nano partículas de plata, en la vida florero de rosa. *Agro-Ciencia,* 52(7): 951-965. Retrieved from http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=asn&AN=133405760&lang=es&site=ehost-live

Samadzadeh, H. (2017). Effects of silver and calcium nanoparticles on vase life and some physiological traits of Konst Coco *Alstroemeria* cut flower. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*. 8: 75-89. https://doi.org/10.29252/ejgcst.8.3.75

Schmitt, F., Milani, M., Duarte, V., Schafer, G. y Bender, R.J. (2014). Conservantes florais comerciais nas soluções de manutenção de hastes florais de gérbera de corte. *Ciência Rural*, 44(12): 2124-2128. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20120750

Senapati, A., Raj, D., Jain, R. y Patel, N. (2016). Advances in packaging and storage of flowers. En: Commercial Horticulture. (Eds.). New Delhi, India. New India Publishing Agency. pp. 473-488.

Shabanian, S., Nasr Esfahani, M., Karamian, R. y Tran, L.S.P. (2019). Salicylic acid modulates cutting-induced physiological and biochemical responses to delay senescence in two gerbera cultivars. *Plant Growth Regulation*, 87(2): 245-256. https://doi.org/10.1007/s10725-018-0466-5

Shafiee-Masouleh, S.S. (2018). Effects of nano-silver pulsing, calcium sulfate and gibberellin on an antioxidant molecule and vase life of cut gerbera flowers. *Advances in Horticultural Science*. 32: 185-191. https://doi.org/10.13128/ahs-21864

Sharma, S., Rawat, N., Kumar, S., Mir, Z. y Gaikwad, K. (2020). Nanotechnology for food: regulatory issues and challenges. En: Advances in Agri-Food Biotechnology. Springer, Singapore. pp. 367-389. https://doi.org/10.1007/978-

981-15-2874-3_14

Shojaei, T.R., Salleh, M.A.M., Tabatabaei, M., Mobli, H., Aghbashlo, M., Rashid, S. A. y Tan, T. (2019). Applications of nanotechnology and carbon nanoparticles in agriculture. En: Synthesis, Technology and Applications of Carbon Nanomaterials. pp. 247-277.

Sil, M., Sarkar, M.M., Raghupathi, B. y Mondal, S. (2017). Varietal evaluation of gerbera (Gerbera jamesonii.) grown in a polyhouse. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences,* 6(7): 810-814. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.099

Singh, P. Bhardwaj, A. Kumar, R. y Sing, D. (2017). Evaluation of gerbera varieties for yield and quality under protected environment conditions in Bihar. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences,* 6(9): 112-116. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.609.013

Singh, P. Bhardwaj, A. Kumar, R. y Sing, D. (2017). Evaluation of gerbera varieties for yield and quality under protected environment conditions in Bihar. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(9): 112-116. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.609.013

Singleton, V.L. y Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16(3): 144-158.

Soad, M.M.I., Lobna, S.T. y Rawia, A.E. (2011). Extending postharvest life and keeping quality of Gerbera cut-flowers using some chemical preservatives. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(7), 1233-1239.

Solomos, T. y Gross, K. C. (1997). Effects of hypoxia on respiration and the onset of senescence in cut carnation flowers (*Dianthus caryophyllus* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 10(2), 145-153.

Soroa, M. (2005). Revisión bibliográfica *Gerbera jamesonii* L. Bolus. *Cultivos Tropicales*, 26(4): 65-75.

Sosa, N.S.J. (2007). Effects of pre- and postharvest calcium supplementation on longevity of sunflower (*Helianthus annuus* cv. Superior Sunset). LSU. Tesis de Maestría. 2359. https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool_theses/2359

Sudaria, M.A., Uthairatanakij, A. y Nguyen, H.T. (2017). Postharvest quality effects of different vaselife solutions on cut rose (*Rosa hybrida L*.). *International Journal of Agriculture, Forestry and Life Science*, 1(1): 12-20.

Sumanta, N., Haque, C. I., Nishika, J. y Suprakash, R. (2014). Spectrophotometric analysis of chlorophylls and carotenoids from commonly grown fern species by using various extracting solvents. *Research Journal of Chemical Sciences.* 4(9): 63-69.

Tang, Z.X., Yu, Z., Zhang, Z.L., Zhang, X.Y., Pan, Q.Q. y Shi, L.E. (2013). Sonication-assisted preparation of CaO nanoparticles for antibacterial agents. *Química Nova,* 36(7): 933-936. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422013000700002

Tejeda, S.O., Ríos, B.Y., Trejo, T.L.I. y Vaquera, H.H. (2015). Caracterización de la producción y comercialización de flor de corte en Texcoco, México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, 6: 1105-1118.

Trujillo-Villagarcía, B.A., Zavaleta-Mancera, H.A., Mora-Herrera, M.E. y López-Delgado, H.A. (2006). Efecto del $CaCl_2$ sobre la actividad enzimática antioxidante durante la vida florero de gerbera (*Gerbera jamesonni* H. Bolux Ex Hook F.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2): 203-209.

Van Leperen, W. y Van Gelder, A. (2006). Ion-mediated flow changes suppressed by minimal calcium presence in xylem sap in *Chrysanthemum* and *Prunus laurocerasus*. *Journal Experimental Botany*. 57: 2743-2750. https://doi.org/10.1093/jxb/erl039

Wani, M.A., Nazki, I.T., Din, A., Iqbal, S., Wani, S.A., Khan, F.U. y Neelofar. (2018). Floriculture sustainability initiative: the dawn of new era. *Sustainable Agriculture Reviews*, 27: 91-127.

Wehr, J.B., Menzies, N.W. y Blamey, F.P.C. (2004). Inhibition of cell-wall autolysis and pectin degradation by cations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(6): 485-492. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.05.006

Woltering, E.J. y Van Doorn, W.G. (1988). Role of ethylene in senescence of petals—morphological and taxonomical relationships. *Journal of Experimental Botany,* 39(11): 1605-1616. https://doi.org/10.1093/jxb/39.11.1605

Zagory, D. y Reid, M.S. (1986). Role of vase solution microorganisms in the life of cut flowers. *Journal of the American Society for Horticulture Science,* 111(1): 154-158.

Zenil-Lugo, N., Colinas-León, M.T., Bautista Bañuelos, C., Vázquez Rojas, T.R., Lozoya Saldaña, H. y Martínez Damián, M.T. (2014). Total phenols and antioxidant capacity estimated with DPPH/ABTS assays in roses on preservative solutions. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(6): 1029-1039.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Volumen de agua consumido

Analysis of Variance Table

Source Term	DF (Alpha=0.05)	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power
A: Tratamientos	5	98.51514	19.70303	0.16	0.975295	0.088543
S	330	39450.98	119.5484			
Total (Adjusted)	335	39549.49				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.5910877	0.4477976

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=119.5484 Critical Value=4.0539

Group	Count		Mean	Different From Groups
50ppm	56	A	17.6	
Cloruro	56	A	17.89143	
Control	56	A	18.25286	
Glicerol	56	A	18.48571	
150ppm	56	A	18.89714	
100ppm	56	A	19.16571	

Anexo 2. Curvatura

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	871.2031	174.2406	3.12	**0.009086***	0.875160
S	330	18421.04	55.82133			
Total (Adjusted)	335	19292.24				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.9565982	0.6043792

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=55.82133 Critical Value=4.0539

Group	Count		Mean	Different From Groups
150ppm	56	B	6	Glicerol
50ppm	56	AB	6.544643	
Cloruro	56	AB	6.973214	
100ppm	56	AB	8.026786	
Control	56	AB	9.714286	
Glicerol	56	A	10.33929	150ppm

Anexo 3. Firmeza de escapo.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	50.01471	10.00294	1.33	0.250058	0.470585
S	330	2477.668	7.508084			
Total (Adjusted)	335	2527.682				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.6263236	0.5397151

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=7.508084 Critical Value=4.0539

Group	Count		Mean	Different From Groups
Cloruro	56	A	3.874089	
150ppm	56	A	4.072679	
100ppm	56	A	4.166036	
Glicerol	56	A	4.544143	
50ppm	56	A	4.644804	
Control	56	A	5.012518	

Anexo 4. Diámetro floral.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	2197.404	439.4809	5.18	**0.000138***	0.986385
S	330	27410.99	84.86375			
Total (Adjusted)	335	29608.39				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
9.855264E-02	7.152292E-02

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=84.86375 Critical Value=4.0544

Group	Count		Mean	Different From Groups
100ppm	56	C	92.64037	Control, Cloruro
Glicerol	56	BC	95.45837	Cloruro
50ppm	56	BC	95.62891	Cloruro
150ppm	56	BC	95.77963	Cloruro
Control	56	AB	97.83527	100ppm
Cloruro	56	A	101.0796	100ppm, Glicerol, 50ppm, 150ppm

Anexo 5. Deshidratación.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	4.467738E-02	8.935477E-03	0.41	0.841645	0.009002
S	330	7.188722	0.021784			
Total (Adjusted)	335	7.233399				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.2177125	0.1419218

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=0.021784 Critical Value=4.0539

Group	Count		Mean	Different From Groups
Glicerol	56	A	0.6514286	
Control	56	A	0.6696429	
100ppm	56	A	0.68	
50ppm	56	A	0.6817857	
150ppm	56	A	0.6825	
Cloruro	56	A	0.6842857	

Anexo 6. Cambio de color/daño.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	4.134286E-02	8.268571E-03	0.37	0.871383	0.007635
S	330	7.445286	2.256147E-02			
Total (Adjusted)	335	7.486629				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.2217057	0.144898

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=2.256147E-02 Critical Value=4.0539

Group	Count		Mean	Different From Groups
Glicerol	56	A	0.6510714	
100ppm	56	A	0.6746429	
Cloruro	56	A	0.6753572	
Control	56	A	0.6764286	
50ppm	56	A	0.6835715	
150ppm	56	A	0.6846429	

Anexo 7. Calidad general

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	7.182024E-02	1.436405E-02	0.61	0.692479	0.222225
S	330	7.773436	2.355587E-02			
Total (Adjusted)	335	7.845256				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.2290362	0.1577381

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=2.355587E-02 Critical Value=4.0539

Group	Count		Mean	Different From Groups
Glicerol	56	A	0.6396428	
Control	56	A	0.6603571	
Cloruro	56	A	0.6721429	
100ppm	56	A	0.6735714	
150ppm	56	A	0.6807143	
50ppm	56	A	0.6825	

Anexo 8. Presencia de plagas.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	4.844881E-02	9.689762E-03	0.41	0.838878	0.009132
S	330	7.721293	2.339786E-02			
Total (Adjusted)	335	7.769742				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.2257591	0.149915

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=2.339786E-02 Critical Value=4.0539

Group	Count		Mean	Different From Groups
Glicerol	56	A	0.6496429	
100ppm	56	A	0.6725	
Control	56	A	0.6767857	
50ppm	56	A	0.6785714	
Cloruro	56	A	0.6842857	
150ppm	56	A	0.6857143	

Anexo 9. Pérdida de Peso.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	170.9385	34.18771	3.37	**0.005589***	0.901641
S	330	3041.683	10.13894			
Total (Adjusted)	335	3212.621				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.6927931	0.5952449

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=10.13894 Critical Value=4.0563

Group	Count		Mean	Different From Groups
Cloruro	56	B	3.573889	Control, 100ppm
150ppm	56	AB	3.954286	
50ppm	56	AB	4.634082	
Glicerol	56	AB	4.900588	
Control	56	A	5.3956	Cloruro
100ppm	56	A	5.659811	Cloruro

Anexo 10. Color *L**

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	98.55424	19.71085	0.81	0.540449	0.291743
S	330	7750.1	24.21906			
Total (Adjusted)	335	7848.654				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.1957429	0.1396695

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=24.21906 Critical Value=4.0547

Group	Count		Mean	Different From Groups
Glicerol	56	A	24.57302	
150ppm	56	A	24.66185	
Control	56	A	24.73411	
100ppm	56	A	24.91076	
50ppm	56	A	25.83945	
Cloruro	56	A	25.88636	

Anexo 11. Color *a**.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	87.38043	17.47609	0.59	0.710447	0.214341
S	330	9537.246	29.8039			
Total (Adjusted)	335	9624.627				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
9.926318E-02	6.630214E-02

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=29.8039 Critical Value=4.0547

Group	Count	Mean	Different From Groups
150ppm	56 A	54.12704	
Glicerol	56 A	54.48887	
Control	56 A	54.49464	
Cloruro	56 A	54.94382	
100ppm	56 A	55.18604	
50ppm	56 A	55.69146	

Anexo 12. Color *b**.

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamientos	5	207.5966	41.51933	0.60	0.702472	0.217787
S	330	22263.77	69.57427			
Total (Adjusted)	335	22471.36				
Total	336					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.1932177	0.138758

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=330 MSE=69.57427 Critical Value=4.0547

Group	Count	Mean	Different From Groups
Glicerol	56 A	42.16906	
Control	56 A	42.25768	
150ppm	56 A	42.67296	
100ppm	56 A	42.93056	
Cloruro	56 A	43.82745	
50ppm	56 A	44.32709	

Anexo 13. Clorofila a

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	143.3858	28.67715	4.21	0.001111*	0.957718
S	234	1594.928	6.81593			
Total (Adjusted)	239	1738.313				
Total	240					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.4074346	0.3289658
0207232	

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=234 MSE=6.81593 Critical Value=4.0637

Group	Count	Mean	Different From Groups
NP CaO 150	40 B	5.446625	Cloruro de calcio
NP CaO 100	40 B	5.909975	Cloruro de calcio
NP CaO 50	40 AB	6.733925	
Glicerol	40 AB	6.8251	
Control	40 AB	6.93495	
Cloruro de calcio	40 A	7.864775	NP CaO 150, NP CaO 100

Anexo 14. Clorofila b

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	84.5141	16.90282	0.99	0.427497	0.349283
S	234	4014.916	17.15776			
Total (Adjusted)	239	4099.43				
Total	240					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.7056862	0.6196792

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=234 MSE=17.15776 Critical Value=4.0637

Group	Count	Mean	Different From Groups
NP CaO 100	40 A	5.335575	
NP CaO 150	40 A	5.348	
NP CaO 50	40 A	5.558475	
Glicerol	40 A	5.881	
Control	40 A	6.022225	
Cloruro de calcio	40 A	7.067675	

Anexo 15. Clorofilas totales

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	427.7126	85.54253	4.17	0.001201*	0.955909
S	234	4802.037	20.52152			
Total (Adjusted)	239	5229.75				
Total	240					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.3745811	0.28689

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=234 MSE=20.52152 Critical Value=4.0637

Group	Count	Mean	Different From Groups
NP CaO 150	40 B	10.79463	Cloruro de calcio
NP CaO 100	40 B	11.24553	Cloruro de calcio
NP CaO 50	40 AB	12.2925	
Glicerol	40 AB	12.70607	
Control	40 AB	12.95725	
Cloruro de calcio	40 A	14.9325	NP CaO 150, NP CaO 100

Anexo 16. Compuestos fenólicos totales en tallo

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	172940.3	34588.05	0.80	0.551662	0.284710
S	234	1.013521E+07	43312.84			
Total (Adjusted)	239	1.030815E+07				
Total	240					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.3654648	0.3242359

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=234 MSE=43312.84 Critical Value=4.0637

Group	Count	Mean	Different From Groups
Cloruro de calcio	40 A	534.1495	
NP CaO 150	40 A	551.49	
Glicerol	40 A	555.1925	
NP CaO 100	40 A	565.6137	
NP CaO 50	40 A	585.991	
Control	40 A	617.1128	

Anexo 17. Compuestos fenólicos totales en pétalos

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	2.748323E+07	5496647	1.15	0.335022	0.405826
S	234	1.09489E+09	4781180			
Total (Adjusted)	239	1.122373E+09				
Total	240					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.7053106	0.5854234

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=234 MSE=4781180 Critical Value=4.0645

Group	Count	Mean	Different From Groups
Control	40 A	2769.996	
Cloruro de calcio	40 A	2857.834	
NP CaO 50	40 A	2869.942	
Glicerol	40 A	3069.38	
NP CaO 150	40 A	3291.69	
NP CaO 100	40 A	3757.22	

Anexo 18. Capacidad antioxidante total en tallo

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	0.7777532	0.1555506	1.06	0.382137	0.375922
S	234	34.27063	0.1464557			
Total (Adjusted)	239	35.04839				
Total	240					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.2209275	0.1866641

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=234 MSE=0.1464557 Critical Value=4.0637

Group	Count	Mean	Different From Groups
Control	40 A	1.652575	
NP CaO 150	40 A	1.69865	
NP CaO 50	40 A	1.7001	
Glicerol	40 A	1.750475	
NP CaO 100	40 A	1.770325	
Cloruro de calcio	40 A	1.82795	

Anexo 19. Capacidad antioxidante total en pétalos

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	1.273911	0.2547823	1.69	0.137466	0.580158
S	234	34.48849	0.1506048			
Total (Adjusted)	239	35.7624				
Total	240					

* Term significant at alpha = 0.05

Coefficient of Variation	Coefficient of Dispersion
0.4219093	0.3827085

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=234 MSE=0.1506048 Critical Value=4.0645

Group	Count	Mean	Different From Groups
Cloruro de calcio	40 A	0.8182051	
Glicerol	40 A	0.8252432	
NP CaO 150	40 A	0.953625	
Control	40 A	0.97375	
NP CaO 50	40 A	0.9895128	
NP CaO 100	40 A	0.99045	

Anexo 20. Análisis microbiológico

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	7.822453E+09	1.564491E+09	84.70	0.000000*	1.000000
B: Dia	3	3.841901E+09	1.280634E+09	69.33	0.000000*	1.000000
AB	15	1.990529E+10	1.32702E+09	71.84	0.000000*	1.000000
S	48	8.866133E+08	1.847111E+07			
Total (Adjusted)	71	3.245626E+10				
Total	72					

* Term significant at alpha = 0.05

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Alpha=0.050 Error Term=S DF=48 MSE=1.847111E+07 Critical Value=4.1972

Group	Count	Mean	Different From Groups
Glicerol	12 C	1041.667	Control, NP CaO 100, Cloruro de calcio
NP CaO 50	12 C	2916.667	Control, NP CaO 100, Cloruro de calcio
NP CaO 150	12 C	5100	Control, NP CaO 100, Cloruro de calcio
Control	12 B	12808.33	Glicerol, NP CaO 50, NP CaO 150, Cloruro de calcio
NP CaO 100	12 B	14508.33	Glicerol, NP CaO 50, NP CaO 150, Cloruro de calcio
Cloruro de calcio	12 A	31925	Glicerol, NP CaO 50, NP CaO 150, Control, NP CaO 100

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test
Response: Analisis_Microbiologico
Term B: Dia
Alpha=0.050 Error Term=S DF=48 MSE=1.847111E+07 Critical Value=3.7638

Group	Count	Mean	Different From Groups
0	18 C	0	18, 3, 9
18	18 B	10027.78	0, 3, 9
3	18 A	17088.89	0, 18
9	18 A	18416.67	0, 18

Día= 3

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	5.171338E+09	1.034268E+09	26.38	0.000004*	1.000000
S	12	4.7046E+08	3.9205E+07			
Total (Adjusted)	17	5.641798E+09				
Total	18					

* Term significant at alpha = 0.05

Group	Count	Mean	Different From Groups
NP CaO 150	3 B	1366.667	Cloruro de calcio, Control
Glicerol	3 B	1766.667	Cloruro de calcio, Control
NP CaO 50	3 B	8566.667	Cloruro de calcio, Control
NP CaO 100	3 B	10833.33	Cloruro de calcio, Control
Cloruro de calcio	3 A	33666.67	NP CaO 150, Glicerol, NP CaO 50, NP CaO 100
Control	3 A	46333.33	NP CaO 150, Glicerol, NP CaO 50, NP CaO 100

Día= 9

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	1.952604E+10	3.905208E+09	178.49	0.000000*	1.000000
S	12	2.625467E+08	2.187889E+07			
Total (Adjusted)	17	1.978858E+10				
Total	18					

* Term significant at alpha = 0.05

Group	Count	Mean	Different From Groups
Control	3 B	333.3333	Cloruro de calcio
NP CaO 50	3 B	800	Cloruro de calcio
Glicerol	3 B	1133.333	Cloruro de calcio
NP CaO 150	3 B	7366.667	Cloruro de calcio
NP CaO 100	3 B	9200	Cloruro de calcio
Cloruro de calcio	3 A	91666.66	Control, NP CaO 50, Glicerol, NP CaO 150 NP CaO 100

Dia= 18

Analysis of Variance Table

Source Term	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Tratamiento	5	3.03037E+09	6.060739E+08	47.35	0.000000*	1.000000
S	12	1.536067E+08	1.280056E+07			
Total (Adjusted)	17	3.183976E+09				
Total	18					

* Term significant at alpha = 0.05

Group	Count	Mean	Different From Groups
Glicerol	3 C	1266.667	NP CaO 150, NP CaO 100
NP CaO 50	3 BC	2300	NP CaO 100
Cloruro de calcio	3 BC	2366.667	NP CaO 100
Control	3 BC	4566.667	NP CaO 100
NP CaO 150	3 B	11666.67	Glicerol, NP CaO 100
NP CaO 100	3 A	38000	Glicerol, NP CaO 50, Cloruro de calcio Control, NP CaO 150