

EFFECTO DEL CaCl_2 SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ANTIOXIDANTE DURANTE LA VIDA FLORERO DE GERBERA (*Gerbera jamesonii* H. Bolux ex Hook F.)

B. A. Trujillo-Villagarcía¹; H. A. Zavaleta-Mancera²;
M. E. Mora-Herrera³; H. A. López-Delgado³

¹Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México,
Instituto Literario Núm. 100. Toluca, Estado de México, C. P. 5000, MÉXICO.

²Colegio de Postgraduados, Botánica, Km 36.5 Carretera México Texcoco.
Montecillo, Estado de México, C. P. 56230. MÉXICO.

Correo-e: arazavaleta@colpos.mx (⁴Autor responsable).

³Programa Nacional de Papa, INIFAP. Conjunto SEDAGRO. Metepec, Estado de México.
C. P. 52140, MÉXICO. Correo-e: marthaelenam@gmail.com, humlopde@prodigy.net.mx.

RESUMEN

Prolongar la vida en florero de especies ornamentales es importante, tanto para su comercialización como para el consumidor. Se determinó el efecto de la adición de 0.05 % CaCl_2 a la solución preservativa, de la vida en florero de dos cvs. de gerbera y su relación con la actividad antioxidante de catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y peroxidasa (POX). La adición de 0.05 % de CaCl_2 a la solución preservativa incrementó significativamente la vida promedio en florero de gerbera, cuatro días en el cv. Duela y nueve días en el cv. Shirlene. El calcio retrasó el doblado del escapo. La turgencia y rigidez del escapo se atribuye al papel del calcio en el cierre de estomas, estabilidad de membranas e incremento en la rigidez de la pared celular y lamina media. El papel protector del CaCl_2 durante la senescencia del escapo estuvo relacionado con niveles altos y continuos de la actividad de POX y con una disminución y posterior incremento de la actividad de APX en la segunda mitad de la vida florero de Duela y Shirlene. La actividad CAT parece tener una regulación diferente que APX y POX en presencia de calcio.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: ascorbato peroxidasa, calcio, catalasa, senescencia, peroxidasa.

EFFECT OF CaCl_2 ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY DURING THE VASE LIFE OF GERBERA (*Gerbera jamesonii* H. Bolux ex Hook F.)

ABSTRACT

Prolonging the vase life of ornamental species is important for their commercialization and for the consumer. We determined the effect of adding 0.05 % of CaCl_2 to the preserving solution on the vase life of two cultivars of gerbera and their relationship with the antioxidant activity of catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and peroxidase (POX). The addition of 0.05 % of CaCl_2 to the preserving solution significantly increased the average vase life of gerbera, five days in the cv. Duela and nine days in the cv. Shirlene. Calcium delayed the bending of the neck. The turgency and rigidity of the neck was attributed to the role of calcium in closing stomata, membrane stability and increase in the rigidity of the cell wall and the middle lamella. The protecting role of CaCl_2 during neck senescence was related with high and continuous levels of the antioxidant activity of POX and with a decrease, followed by an increase, of the activity of APX in the second half of the vase life for Duela and Shirlene. CAT activity in the presence of calcium seems to be regulated differently than APX and POX.

ADDITIONAL KEY WORDS: ascorbate peroxidase, calcium, catalase, senescence, peroxidases.

INTRODUCCIÓN

La gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus ex Hook F.) es una planta mundialmente cultivada para flor de corte, el cuidado posterior a la cosecha determina en gran parte la vida útil de las inflorescencias, por lo que se sugiere cosecharla cuando éstas presenten dos anillos de flores liguladas abiertas (Wernett *et al.*, 1996). La senescencia de las flores está asociada con un incremento en la respiración, síntesis de etileno, cambios de color y pérdida de turgencia (Wills *et al.*, 1998). Por otra parte, los cambios enzimáticos durante la senescencia están asociados al incremento de radicales libres, enzimas antioxidantes y a la síntesis de proteasas (Torre *et al.*, 1999). Uno de los síntomas más evidentes en el estadio final de la senescencia es la pérdida de peso fresco debido a la deshidratación, principalmente de los pétalos, observada como marchitamiento. Abdel-Kader y Rogers (1986), sugieren que el fin de la vida útil en florero de gerbera está determinado por la curvatura del escapo en un ángulo 45-90° de su plano vertical, la deshidratación de las flores liguladas y la pérdida del 10 % del peso fresco.

La finalidad de las soluciones preservativas es incrementar la vida útil de las flores; la mayoría de estas soluciones contienen sacarosa como sustrato para la respiración, bactericidas y antimicóticos que previenen el ataque de patógenos (Abdel-Kader y Rogers, 1986; Garibaldi, 1989; Wouter *et al.*, 1994). Otro compuesto que puede incorporarse a las soluciones y que ha sido poco estudiado es el calcio.

Durante la senescencia de las flores se reduce el contenido de azúcares, de proteínas, de ácidos nucleicos y de otros componentes celulares, y se incrementa la actividad de proteasas (Breeze *et al.*, 2004), así como la pérdida de clorofila. Estos cambios también ocurren debido al incremento en la generación de especies reactivas del oxígeno (EROs), tales: como oxígeno en estado singulete (1O_2), superóxido (O_2^-), radicales hidroxilo (OH^\cdot) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que en exceso promueven condiciones de estrés oxidativo y pueden provocar, inclusive, la muerte celular (Finkel y Holbrook, 2000; Scandalios, 2005). Sin embargo, el H_2O_2 , hasta hace poco sólo era considerado como un compuesto tóxico a los componentes celulares, no obstante, se ha demostrado que tiene, además, función de molécula señalizadora que modula el metabolismo y la expresión genética en la tolerancia y defensa celular (Neill *et al.*, 2002). El estrés oxidativo aumenta el estado de oxidación de la célula, lo cual induce un incremento en la síntesis de antioxidantes no enzimáticos, como el glutatión-ascorbato (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E) y carotenoides. Del mismo modo, se incrementa la síntesis de antioxidantes enzimáticos como superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, ascorbato peroxidasa y catalasa, lo que lleva a disminuir los daños oxidativos ocasionados por las EROs (Foyer *et al.*, 1997; Scandalios, 2005), lo que se cree retarda el proceso de senescencia (Finkel y Holbrook, 2000).

Se han realizado diversos estudios para retrasar la senescencia en las flores por medio de soluciones precosecha y poscosecha e incrementar la vida florero. Uno de ellos fue por Gerasopoulos y Chebli (1999), quienes estudiaron los efectos del $CaCl_2$ asperjado o inyectado al escapo de gerbera; obtuvieron un incremento en la vida florero usando concentraciones del 1.0 y 1.5 % de $CaCl_2$. Schmitz-Eiberger *et al.* (2002), también observaron un efecto del calcio en hojas y fruto de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), en el cual encontraron que en hojas con deficiencia de calcio la actividad de la enzima peroxidasa se incrementó y el fruto resultó de menos calidad, por lo que propusieron que el calcio actuó como un segundo mensajero en la inducción del sistema de defensa antioxidante, que reguló las concentraciones de radicales libres en el citosol (Schmitz-Eiberger *et al.*, 2002).

Los autores del presente trabajo realizaron un estudio preliminar, en el cual se probaron tres concentraciones de $CaCl_2$ (0.5, 1.0 y 1.5 %) en una solución florero adicionada con sacarosa al 0.1 %, encontrándose que 0.5 % de $CaCl_2$ fue la concentración óptima para prolongar la vida en florero de los cultivares Duela y Shirlene de gerbera.

Dada la poca información existente sobre la actividad antioxidante en flores de corte, la importancia económica de *Gerbera jamesonii* y el interés de generar soluciones florero que alarguen la vida útil de esta especie, se planteó la presente investigación, tomando como referencia el estudio preliminar realizado, con el objeto de estudiar el efecto del $CaCl_2$, adicionado a la solución preservativa, en la actividad enzimática antioxidante de catalasa (CAT), ascorbato peroxidasa (APX) y peroxidasas (POX), y su efecto en la vida en florero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico y tratamientos

Se utilizaron dos cultivares de gerbera conocidos por su incidencia en el doblado del escapo, y calidad de exportación, cultivadas por la Empresa COXFLORES del municipio de Villa Guerrero, Estado de México. (Duela de color amarillo y Shirlaine de color púrpura. Las flores fueron cosechadas en el mes de septiembre, cuando el capítulo mostró dos hileras de flores masculinas (tubuladas), de acuerdo con los índices de corte para esta especie (Wernett *et al.*, 1996). Las flores recién cortadas fueron colocadas en agua y no recibieron ningún tratamiento químico por parte del productor.

Soluciones preservativas y tratamientos

Se probaron dos soluciones preservativas, una solución tratamiento con 0.5 % de $CaCl_2$ y 0.1 % de sacarosa en agua destilada y una solución control similar a la solución tratamiento pero sin $CaCl_2$. Un total de 20 flores por tratamiento se colocaron en floreros individuales de vidrio

de 20 cm de altura con 100 ml de la solución preservativa respectiva; los floreros y los escapos de las flores se desinfectaron durante 3 min en una solución de plata coloidal al 0.035 %. Los floreros se colocaron en un estante con luz indirecta ($300 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PAR) con un fotoperíodo de 14 h luz (19-22 °C) y 10 h oscuridad (14-16 °C). El experimento se repitió bajo las mismas condiciones experimentales, los resultados se reportan como el promedio de ambos experimentos, donde los datos son promedio de seis repeticiones.

Vida en florero

El fin de la vida en florero fue determinado por el doblado del escapo en una curvatura $\geq 90^\circ$, marchitamiento de las lígulas y/o ahorcamiento del escapo en la base del capítulo. Se registró por inflorescencias el fin de la vida en florero, con estos datos se calculó la vida promedio en florero, como la suma de la vida en florero individual entre el número de flores en el florero. Otro parámetro evaluado fue la vida media florero, este concepto correspondió al momento definido en días en el que el 50 % de las inflorescencias por tratamiento llegaron al fin de su vida útil.

Las inflorescencias se etiquetaron individualmente y de cada flor se evaluó el peso fresco inicial y el peso fresco final de su vida en florero, la pérdida de peso fresco de la inflorescencia completa (escapo + cabezuela), del escapo, cabezuela y de 20 lígulas por inflorescencia.

Extracción de proteína

Para los análisis bioquímicos se tomó un fragmento de escapo (600 mg) a 5 cm por debajo del capítulo. El tejido se maceró con nitrógeno líquido y se extrajo en proporción 1:1 con el amortiguador HEPES-KOH 100 mM pH 7.4 para catalasa y peroxidasa (Lopez-Delgado *et al.*, 1998) y con el amortiguador de fosfato de sodio ($\text{Na}_2\text{HPO}_4^-$, NaH_2PO_4) 100 mM pH 7.0, 1 mM DTT, 5 mM ácido ascórbico para la actividad ascorbato peroxidasa (Mittler y Ziliskans, 1993). La proteína soluble se aisló por centrifugación a 11,000 g por 10 min a 4 °C. La fracción sobrenadante se usó para medir el contenido de proteína y la actividad enzimática en espectrofotómetro (Hach Dr /4000U). La cuantificación de proteína se determinó por el método de Bradford (1976), utilizando albúmina sérica de bovino (BSA) como estándar.

Actividad catalasa (CAT), peroxidasa (POX) y ascorbato peroxidasa (APX)

La actividad de CAT se cuantificó de acuerdo con el método modificado por Aebi (1984). Se preparó una mezcla de reacción conteniendo: amortiguador de fosfato de potasio y sodio 50 mM pH 7.0, 10 μl del extracto de proteína y 30 mM H_2O_2 en un volumen total final de 3 ml. El consumo de H_2O_2 se midió por su decremento a A_{240} ($P \leq 39.9 \text{ mM}\cdot\text{cm}^{-1}$) en intervalos de 20 s durante 3 min.

La actividad POX se cuantificó de acuerdo con el método de Srivastava y Dwivedi (1998), usando guaiacol como sustrato. La mezcla de reacción contuvo amortiguador de fosfato de sodio 50 mM pH 7.0, 3.33 mM de guaiacol, 4 mM de H_2O_2 y 20 μl de la muestra, en un volumen final de 3 ml; la reacción se llevó a cabo a 26-28 °C. La oxidación del sustrato se midió por el incremento en la absorción a A_{470} ($P \leq 26.6 \text{ mM}\cdot\text{cm}^{-1}$) durante 3 min en intervalos de 30 seg. La actividad de APX se cuantificó de acuerdo con el método de Nakano y Asada (1981), con modificaciones de acuerdo al método de Jiménez *et al.* (1997). La mezcla de reacción contuvo amortiguador de fosfato de potasio 50 mM pH 7.0, con 0.1 mM de ascorbato, 0.1 mM de EDTA, 0.040 ml del extracto de proteína y 2.7 mM de H_2O_2 , en un volumen final de 2 ml. La reacción fue iniciada con la adición de H_2O_2 , registrándose el decremento en la absorbancia a $A_{290 \text{ nm}}$ por la oxidación del ácido ascórbico ($P \leq 2.8 \text{ mM}\cdot\text{m}^{-1}$) a intervalos de 30 seg durante 3 min a 26-28 °C.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS

El CaCl_2 incrementó la vida media en florero de 8 a 16 y de 21 a 30 días en los cultivares Shirlene y Duela, respectivamente. Esta misma tendencia se observó en la vida promedio en florero de ambas variedades, observándose diferencias significativas entre el tratamiento testigo y el tratamiento con calcio (Cuadro 1).

Durante la vida florero de ambas variedades, las flores mantenidas en la solución enriquecida con CaCl_2 mostraron una tendencia a reducir la pérdida de peso fresco de sus partes con respecto al control, con un efecto menos pronunciado en el escapo, aunque esta diferencia no fue significativa (Cuadro 2): el cv. Duela control perdió 7.20 % en la inflorescencia (escapo + cabezuela), 18.27 % en la cabezuela y 15.06 % en lígulas, de su peso fresco con respecto al control; en el cv. Shirlene la tendencia fue similar pero menos pronunciada.

Con respecto a la actividad antioxidante, la actividad CAT de las flores del cv. Duela tratadas con CaCl_2 se incrementó durante los primeros 10 días (Figura 1A), pero posteriormente disminuyó significativamente hasta el día 30, tanto en las flores erectas como en las dobladas; en contraste, los escapos de flores control mantuvieron niveles más altos que las tratadas con CaCl_2 , a través del tiempo de la vida en florero hasta el día 20, y posteriormente disminuyó, tanto en las flores erectas como dobladas (Figura 1A). Las flores del cv. Shirlene control senescieron más rápido que las tratadas con CaCl_2 y la actividad CAT de las

CUADRO 1. Vida promedio y vida media en florero de los cultivares Duela y Shirlene mantenidos en solución florero enriquecida con calcio (0.5 % CaCl_2).

Tratamiento	Duela		Shirlene	
	Vida promedio ^x (días)	Vida media ^y (días)	Vida promedio (días)	Vida media (días)
Control	24.16 bc	21 b	8.80 b	8 b
CaCl_2	29.38 a ^z	30 a	17.55 a ^z	16 a

^xLa vida promedio florero se calculó como la suma de la vida florero individual entre el número de flores por tratamiento.

^yLa vida media florero, corresponde al día en el que el 50 % de las inflorescencias por tratamiento llegaron al fin de su vida útil.

^zValores con igual letra dentro de cada columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

CUADRO 2. Tendencias en la pérdida de peso fresco, de las diferentes partes (cabezuela, escapo y lígulas) de la inflorescencia de los cultivares Duela y Shirlene, mantenidos en solución florero enriquecida con 0.5 % CaCl_2 .

Tratamiento	Inflorescencia, escapo + cabezuela (%)	Escapo (%)	Cabezuela (%)	Lígulas (%)
		Duela		
Control	34.06 ^z	15.19	27.24	48.71
CaCl ₂	26.86	13.59	8.97	33.65
		Shirlene		
Control	15.19	20.35	8.67	16.82
CaCl ₂	11.91	19.98	6.36	10.89

^zLos valores fueron calculados de la diferencia entre el peso inicial y peso final de 40 inflorescencias (2 experimentos).

flores control dobladas fue mayor que las flores con calcio (Figura 1B).

La actividad APX de la flores tratadas con calcio permaneció baja durante la primera mitad de la vida de florero: 20 días para Duela (Figura 2A) y 10 días para Shirlene (Figura 2B); posteriormente esta actividad aumentó significativamente en ambos cultivares, mostrando los más altos niveles al final de la vida de florero.

La tendencia observada para POX fue inversa a la de CAT y APX en ambos cultivares (Figura 3); en las flores tratadas con CaCl_2 fue más alta que la registrada en las flores control. Esta tendencia fue más pronunciada en el cv. Shirlene (Figura 3B) en el cual la actividad POX de las flores tratadas con calcio presentaron una tendencia a incrementar su actividad de 2.9 a 5.1 $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$ durante los primeros 10 días, mientras que en las flores control se redujo a 2.13 $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$ en el mismo periodo.

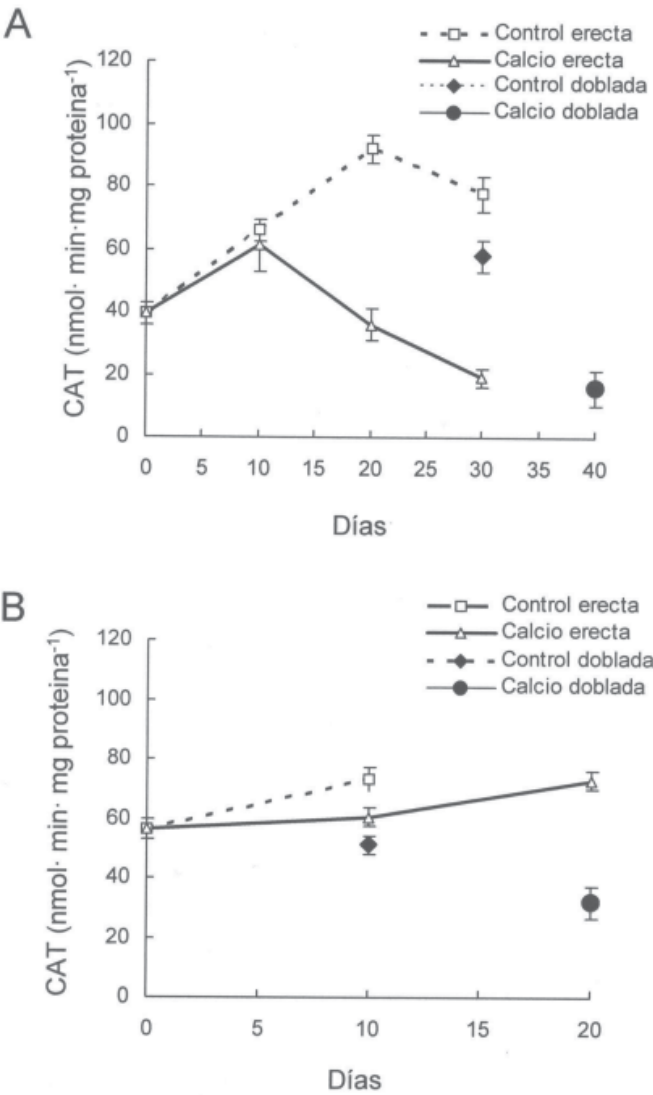


FIGURA 1. Actividad catalasa (CAT) en escapos de los cvs Duela (A) y Shirlene (B) de inflorescencias mantenidas en dos soluciones en florero; con calcio (0.5 % CaCl_2) y testigo (agua). La actividad enzimática se midió en flores erectas durante la vida florero y en flores dobladas al término de ésta. Cada punto representa la media de 24 escapos (de 2 experimentos) \pm error estándar de la media.

DISCUSIÓN

La aplicación de CaCl_2 a la solución florero incrementó significativamente la vida promedio florero en ambos cultivares: cinco días en Duela y nueve días en Shirlene. El CaCl_2 (0.5 %) adicionado a la solución preservativa, retrazó el doblado del escapo y deshidratación de las lígulas. El calcio es un ión relacionado con la estabilidad y fuerza mecánica de la pared celular (Serrano, 2002). La estabilidad de las paredes celulares se debe a la unión del calcio con la pectina en la lamina media (Conway *et al.*, 1995). En el caso de gerbera, el calcio en la solución, liberado del CaCl_2 adicionado, pudo estar confiriendo mayor rigidez a las paredes y lamina media del tejido fundamental del escapo y retrasar del doblado del mismo. El aumento en la rigidez del

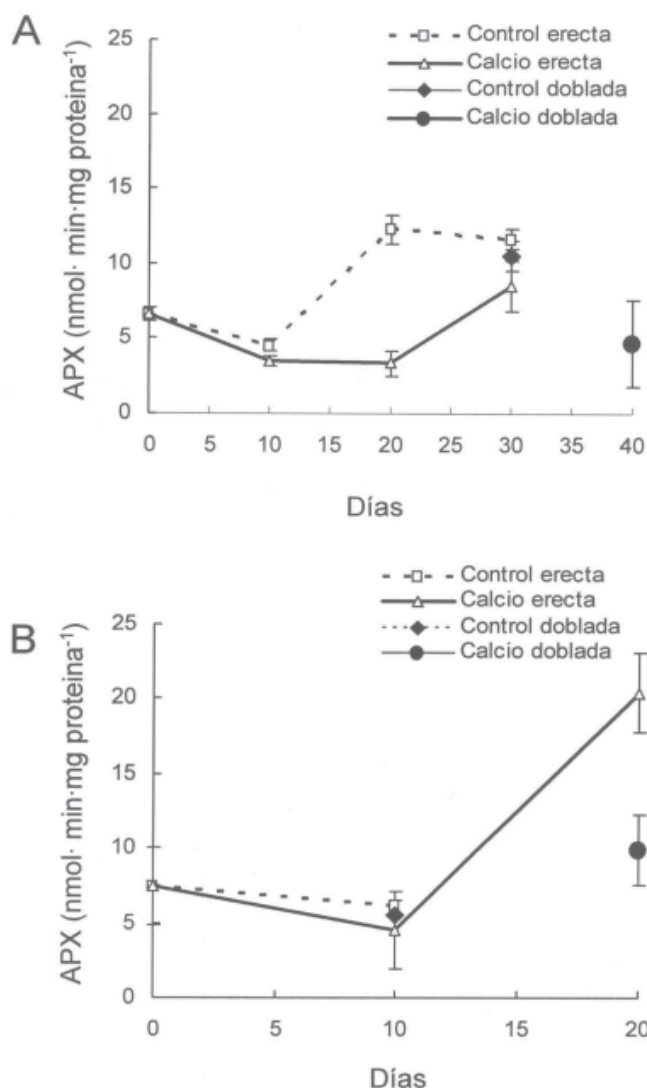


FIGURA 2. Actividad de la ascorbato peroxidasa (APX) en escapos del cv. Duella (A) y Shirlene (B) de inflorescencias mantenidas en dos soluciones florero; con calcio (0.5 % CaCl_2) y testigo (agua). La actividad enzimática se midió en flores erectas durante la vida florero y en flores dobladas al término de ésta. Cada punto representa la media de 24 escapos (de 2 experimentos) \pm error estándar de la media.

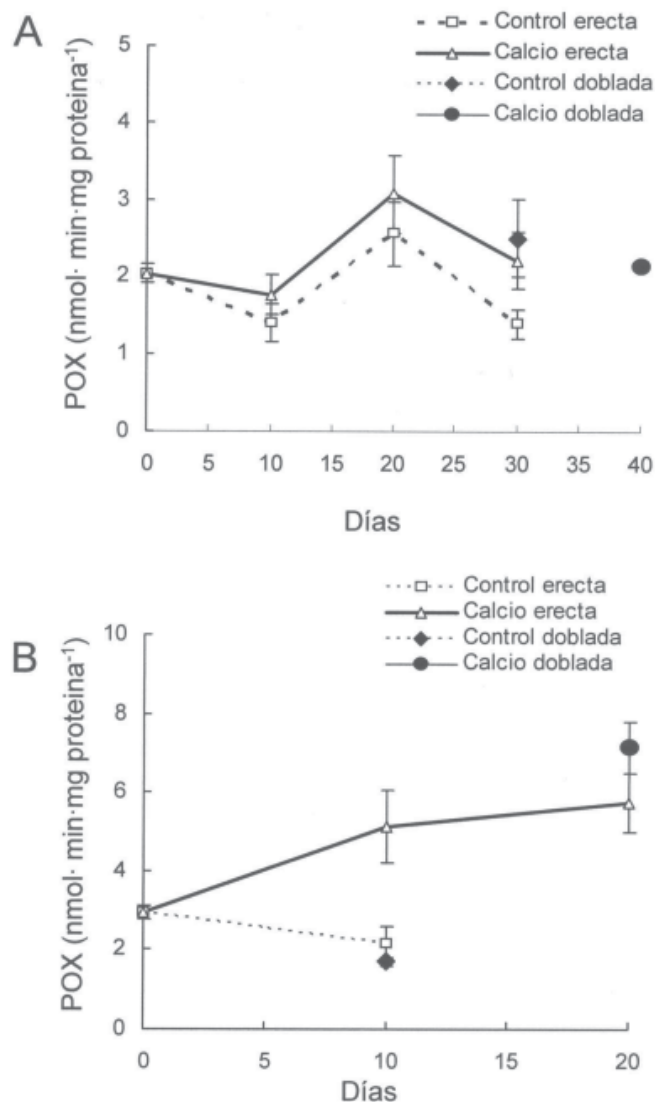


FIGURA 3. Actividad de las peroxidasa (POX) en escapos del cv. Duella (A) y Shirlene (B) de inflorescencias mantenidas en dos soluciones florero; con calcio (0.5 % CaCl_2) y testigo (agua). La actividad enzimática se midió en flores erectas durante la vida en florero y en flores dobladas al término de ésta. Cada punto representa la media de 24 escapos (de 2 experimentos) \pm error estándar de la media.

escapo es una característica deseable y muy apreciada por los floricultores y comercializadores de flor cortada, puesto que reduce las pérdidas económicas, resultado de la rápida senescencia de la flor. Otro posible mecanismo del retraso del doblado del escapo está relacionado con el mantenimiento de la turgencia de las células. Los resultados de peso fresco muestran que el CaCl_2 redujo la pérdida de agua, aunque ésta no fue significativa, de la inflorescencia completa, escapo y lígulas (Cuadro 2). El calcio es un ión implicado en la apertura y cierre estomático; si la concentración de calcio alrededor de las células oclusivas aumenta la conductancia estomática disminuye y promueve el cierre de los estomas (Mansfield *et al.*, 1990; Ruiz *et al.*, 1992). Debido a que el escapo es un tallo verde, fotosintético y con estomas, se propone que el Ca^{2+} promovió el cierre

estomático y la reducción de la pérdida de agua del tejido, manteniendo la turgencia de las células, como lo demuestran los datos de peso fresco (Cuadro 2), aunque no se descarta que el Cl^- haya participado en este cierre estomatal (Mansfield *et al.*, 1990). Adicionalmente, el calcio fortalece la estabilidad de membranas, reduciendo la salida de iones, lo cual mantiene la turgencia de la célula (Klüsener *et al.*, 2002). Se ha demostrado el papel del calcio en la regulación del metabolismo intracelular y permeabilidad de membranas; éste se reconoce como un mensajero secundario en el citoplasma, el cual se une a proteínas conocidas como proteínas moduladoras de calcio, tales como calmodulina y la proteína kinasa (Sanders *et al.*, 2002). La proteína kinasa se encuentra en la membrana plasmática, la cual junto con el complejo calcio-calmodulina fosforila otras enzimas como

la ATPasa, por lo que al calcio se le asigna un papel regulador del crecimiento y de la senescencia (Ferguson y Drøbak, 1988). Por lo que se propone que la solución enriquecida con CaCl_2 mantuvo la integridad de la membrana citoplasmática, funcionando como un cofactor en el retraso de la senescencia floral.

La senescencia, reconocida como la última etapa en el desarrollo, se caracteriza por la degradación de proteínas, ácidos nucleicos y componentes celulares, acompañado por un incremento en la generación de EROs que participan en la lipoperoxidación y degradación de proteínas (Navabpour *et al.*, 2003). La actividad de la APX en las flores de los cvs. Duela y Shirlene tratadas con CaCl_2 disminuyó durante los primeros 10 días y posteriormente aumentó. Estos resultados coinciden con las observaciones reportadas por Amãriutei *et al.* (1986), quienes al estudiar el efecto de soluciones pulso en flores de gerbera cvs. Richard y Synphonie, detectaron una disminución de la actividad de CAT y APX durante los primeros seis días y posteriormente un incremento de estas enzimas, en las flores que retrasaron su senescencia. Los resultados de este estudio confirmaron que un incremento en la actividad APX está relacionado con el retraso de la senescencia de gerbera, ya que la APX es una enzima antioxidante presente tanto en peroxisomas como en cloroplastos, que reduce el H_2O_2 producido por los cloroplastos (Nakano y Asada, 1981), y se ha visto que la senescencia está asociada a un incremento de H_2O_2 (Navabpour *et al.*, 2003). El escapo es un tallo verde el cual posee alta cantidad de cloroplastos, observados en cortes histológicos (datos no mostrados), por lo que la APX confiere un papel protector a los cloroplastos del escapo evitando la producción de radicales libres y su deterioro. Considerando que en los tejidos verdes, el cloroplasto es el primer organelo en presentar síntomas de senescencia (Biswal y Biswal, 1988; Matile, 1992), el papel protector del APX observado en el escapo de gerbera, juega un papel importante para mantener bajos los niveles de ERO que normalmente se producen durante la senescencia de los cloroplastos y que dañan los sistemas captadores de luz, otras proteínas, ácidos grasos insaturados y DNA (Navabpour *et al.*, 2003). El papel protector del calcio durante la vida de florero está relacionado con niveles altos y continuos de la actividad antioxidante de POX durante y con una disminución y posterior incremento de la actividad APX en la segunda mitad de la vida de florero de Duela y Shirlene. La actividad CAT parece tener un mecanismo de regulación diferente que APX y POX. Los altos niveles de CAT en las plantas control están relacionados con la respuesta natural de las plantas a incrementar sus niveles de enzimas antioxidantes en respuesta al incremento de radicales libres, producto de la senescencia. Los escapos de las flores controles senescieron más rápido que las tratadas con CaCl_2 , produciéndose probablemente mayor cantidad de radicales libres en las flores control a los 20 días en Duela y a los 10 días en Shirlene. La mayor actividad de CAT encontradas en las flores control sugiere que la producción en forma natural de altos niveles de radicales libres en el tejido senescente, promovió una respuesta

antioxidante, incrementando la actividad de CAT y de peroxidas inespecíficas (Lianng *et al.*, 2003). Sin embargo, al final de la senescencia, de 30 a 40 días para Duela y de 10 a 20 días para Shirlene, las flores dobladas, tanto tratadas con CaCl_2 como las controles, presentaron menor actividad de CAT y APX, lo que indica una reducción en la capacidad protectora antioxidante de las células, ante la eminente muerte celular en esta etapa terminal.

CONCLUSIONES

La adición de CaCl_2 a la solución preservativa, incrementó significativamente la vida promedio en florero en ambos cultivares, cinco días en Duela y nueve+ días en Shirlene. El análisis de la actividad antioxidante reveló que las flores tratadas presentaron alta y continua actividad de POX y una disminución y posterior incremento de la actividad de APX en la segunda mitad de la vida florero de Duela y Shirlene, mientras que la actividad de CAT presentó una tendencia inversa.

LITERATURA CITADA

- ABDEL-KADER, H.; ROGERS, N. M. 1986. Postharvest treatment of *Gerbera jamesonii*. Acta Horticulturae 181: 169-176.
- AEBI, H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods in Enzimology 105: 121-126.
- AMĂRIUTEI, A.; BURZO, I.; ALEXE, C. 1986. Researches concerning some metabolism aspects of cut gerbera flowers. Acta Horticulturae 181: 331-337.
- BISWAL, U. C.; BISWAL, B. 1988. Ultrastructural modifications and biochemical changes during senescence of chloroplasts. International Review of Cytology 113: 271-321.
- BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72(1-2): 248-254.
- BREEZE, E.; WAGSTAFF, C.; HARRISON, E.; BRANKE, I.; ROGERS, H.; STEAD, A.; THOMAS, B.; BUCHANAN-WOLLASTON, V. 2004. Gene expression patterns to define stages of postharvest senescence in *Alstroemeria* petals. Plant Biotechnology Journal 2(2): 155-168.
- CONWAY, W. S.; SAMS, C. E.; WATADA, A. E. 1995. Relationship between total and cell bound calcium in apples following postharvest pressure infiltration of calcium chloride. Acta Horticulturae 398: 31-39.
- FERGUSON, I. B.; DRØBARK, B. K. 1988. Calcium and the regulation of plant growth and senescence. HortScience 23(2): 262-266.
- FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. 2000. Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing. Nature 408(6809): 239-247.
- FOYER, C. H.; LÓPEZ-DELGADO, H.; DAT, J. F.; SCOTT, I. M. 1997. Hydrogen peroxide-and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. Plant Physiology 100(22): 241-254.
- GARIBALDI, A. E. 1989. Parameters influencing gerbera cut flower longevity. Acta Horticulturae 261: 63-68.
- GERASOPOULOS, D.; CHEBLI, B. 1999. Effects of pre and postharvest calcium applications on the vase life of cut gerberas. Jour-

- nal of Horticultural Science and Biotechnology 74(1): 78-81.
- JIMÉNEZ, A.; HERNÁNDEZ, J. A.; DEL RÍO, L. A.; SEVILLA, F. 1997. Evidence for the presence of the ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves. *Plant Physiology* 114(1): 275-284.
- KLÜSENER, B.; YOUNG, J. J.; MURATA, Y.; ALLEN, G. J.; MORI, I. C.; HUGOUVIEUX, V.; SCHROEDER, J. I. 2002. Convergence of calcium signaling pathways of pathogenic elicitors and abscisic acid in *Arabidopsis* guard cells. *Plant Physiology* 130(4): 2152-2163.
- LÓPEZ-DELGADO, H.; DAT, J.; FOYER, C.; SCOTT, I. 1998. Induction of thermotolerance in potato microplants by acetylsalicylic acid and H_2O_2 . *Journal of Experimental Botany* 49(321): 713-720.
- LIANG, Y.; HU, F.; YANG, M.; YU, J. 2003. Antioxidative defenses and water deficit-induced oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.) growing on non-flooded paddy soils with ground mulching. *Plant Soil* 257(2): 407-416.
- MANSFIELD, T. A.; HETHERINGTON, A. M.; ATKINSON, C. J. 1990. Some current aspects of stomatal physiology. *Annual Review of Plant Biology* 41: 55-75.
- MATILE, P. 1992. Chloroplast senescence, pp. 413-440. *In: Crop Photosynthesis: Spatial and Temporal Determinants*. N. R. BAKER; H. THOMAS (eds). Ed. Elsevier Amsterdam.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22(5): 867-880.
- NAVABPOUR, S.; MORRIS, K.; ALLEN, R.; HARRISON E.; MACKERNES, S. A.; BUCHANAN-WOLLASTON, V. 2003. Expression of senescence-enhanced genes in response to oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* 54(391): 2285-2292.
- NEILL, S. J.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. T. 2002. Hydrogen peroxide signalling. *Current Opinion in Plant Biology* 5(5): 388-95.
- RUIZ, L. P.; ATKINSON, J. C.; MANSFIELD, T. A. 1992. Calcium in the xylem and its influence on the behavior of stomata. *Philosophical Transactions: Biological Sciences* 341(1295): 67-74.
- SANDERS, D.; PELLOUX, J.; BROWNLEE, C.; HARPER, J. F. 2002. Calcium at the crossroads of signaling. *Plant Cell* 14(2): 401-417.
- SCANDALIOS, J. G. 2005. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 38(7): 995-1014.
- SERRANO, M. 2002. Effect of calcium deficiency on melon (*Cucumis melo* L.) texture and glassiness incidence during ripening. *Food Science and Technology International* 8(3): 147-154.
- SCHMITZ-EIBERGER, M.; HAEFS, R.; NOGA, G. 2002. Calcium deficiency-Influence on the antioxidative defense system in tomato plants. *Journal of Plant Physiology* 159(7): 733-742.
- SRIVASTAVA, M. K.; DWIVEDI, U. N. 1998. Salicylic acid modulates glutathione metabolism in pea seedlings. *Journal of Plant Physiology* 153(3-4): 409-414.
- TORRE, S.; BOROCHOV, A.; HALEVY, A. 1999. Calcium regulation of senescence in rose petals. *Physiologia Plantarum* 107(2): 214-219.
- WERNETT, C. H.; WILFRET, J. G.; SHEEHAN, J. T.; LYRENE, P. M.; MARTIN, F. G.; WHITE, L. T.; POWELL, G. L.; WILCOX, C. J. 1996. Postharvest longevity of cut flower *Gerbera*. II. Heritability of vase life. *Journal of American Society Horticultural Science* 121(2): 222-224.
- WILLS, B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. 1998. Postharvest: an Introduction to the Physiology and Handling of Fruit, Vegetable and Ornamentals. 4th ed. CAB International. Australia. 276 p.
- WOUTER, G.; DOORN, V.; YKE, D. W. 1994. Effect of bacteria on scape bending in cut *Gerbera jamesonii* flowers. *Journal of American Society of Horticultural Science* 119(33): 568-571.