

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FLORISSIMA 225[®], HIPOCLORITO DE
CALCIO E HIPOCLORITO DE SODIO SOBRE *Pseudomonas* sp. AISLADAS
DE FLORES DE *Gerbera* sp.**

LEYDIS MARIA VIDES CASTRO

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2017**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FLORISSIMA 225[®], HIPOCLORITO DE
CALCIO E HIPOCLORITO DE SODIO SOBRE *Pseudomonas* sp. AISLADAS
DE FLORES DE *Gerbera* sp.**

LEYDIS MARIA VIDES CASTRO

**TRABAJO DE GRADO PARA RECIBIR EL TÍTULO DE
MICROBIÓLOGA**

**DIRECTOR:
M.SC., YESID FABIÁN ACEVEDO GRANADOS**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA
2017**

Nota de Aceptación

Firma 1º jurado

Firma 2º jurado

Pamplona, junio de 2017

DEDICATORIA

*Este trabajo se lo dedico a Dios, quien me guio en este camino.
A mis padres, Manuel y Martha, por su gran amor, por guiarme día a día,
por su incondicional apoyo y paciencia que han tenido durante
toda mi vida en el logro de mis metas.*

*A mi hermano, Vicente por brindarme
su apoyo incondicional y por ser el impulsor de este sueño.*

*A mi esposo, Willian Alberto por su compañía, paciencia, apoyo y colaboración.
A mis amigas (especialmente Aura y Roció) por estar conmigo en todo momento*

AGRADECIMIENTOS

Ante todo, agradezco a Dios por permitir que este sueño se hiciera realidad. Además, quisiera agradecerle y dedicarle este triunfo a una persona que yo más admiro y quiero mucho, ya que siempre ha estado conmigo en las buenas y en las malas, impulsándome siempre hacia adelante para que cada vez sea mejor, como persona y profesional, esa persona es mi madre, son muchas las personas que me gustaría nombrar de mi familia que de una u otra forma me han animado a seguir adelante, como mi hermano Vicente, mi esposo Willian Alberto y mi gran amiga Aura.

Por otro lado, ya adentrándome en la academia, quiero darle las gracias al profesor Yesid Fabián Acevedo Granados quien hizo posible este trabajo, brindándome su apoyo, conocimiento y su infinita paciencia, además de ser mi director de trabajo de grado. No podría dejar de lado a todos los profesores que en el transcurso de mi carrera me orientaron y formaron en este amplio e interesante mundo de la microbiología, por último, darle las gracias a la Universidad de Pamplona por haberme permitido ingresar y cursar tan importante programa, haciendo posible de esta forma que pudiera subir un escalón más en mi proyecto de vida.

A la empresa Elite Flowers Farmers S.A.S. y todas las personas, por la disponibilidad y colaboración prestada.

TABLA DE CONTENIDO

		Pag.
	Introducción	13
1.	Objetivos.....	15
1.1.	Objetivo general.....	15
1.2.	Objetivos específicos.....	15
2.	Justificación	16
3.	Marco referencial.....	17
3.1.	Panorama general de la floricultura.....	17
3.2.	Comportamiento del sector floricultor.....	21
3.3.	Centro de origen.....	22
3.4.	Clasificación taxonómica de la flor de <i>Gerbera</i> sp.....	22
3.5.	Descripción botánica de <i>Gerbera</i> sp.....	22
3.6.	Factores que influyen en el desarrollo de <i>Gerbera</i> sp.....	22
3.6.1.	Factores.....	22
3.6.1.1.	Clima.....	22
3.6.1.2.	Suelo.....	22
3.6.1.3.	Nutrición.....	23
3.6.1.4.	Luz.....	24
3.7.	Labores culturales.....	24
3.8.	Entutorado o tutorado.....	24
3.9.	Riego.....	25
3.10.	Factores que influyen en la calidad de las flores.....	26
3.10.1.	Calidad del agua.....	26
3.10.2.	Post-cosecha.....	26
3.10.3.	Soluciones para post-cosecha en flor de corte.....	26
3.10.3.4.	Empacado en full.....	26
3.10.3.5.	Viaje simulado y choque térmico.....	28
3.10.3.6.	El Enfriamiento.....	28
3.10.3.7.	Tiempo de vida en florero.....	28
3.10.3.8.	Presencia de microorganismos.....	29
3.10.3.9.	Mecanismos de acción de los desinfectantes sobre los microorganismos.....	30
3.10.3.10.	Resistencia intrínseca de las bacterias Gram negativas.....	30
3.10.3.11.	Compuestos que liberan cloro.....	31
3.10.3.12.	Florissima 225®	32
3.10.3.13.	Hipoclorito de Sodio.....	32
4.	Metodología.....	34
4.1.	Primera fase y segunda fase.....	34
4.1.1.	Análisis microbiológico	34
4.1.1.1.	Recuperación de la cepa	34
4.1.1.2.	Elaboración del cultivo microbiano	35
4.1.2.	Confirmación de la cepa	35

4.1.2.1.	Prueba catalasa	35
4.1.2.2.	Tincion de Gram	35
4.1.2.3.	Descripcion morfologica.....	36
4.1.3.	Analisis fisicoquimico.....	39
4.1.3.1.	pH	39
4.1.3.2.	Cloro libre	39
4.1.4.	Antibiograma	39
4.1.4.1.	Siembra de las soluciones preparadas	39
4.1.4.2.	Recuento halos de inhibicion	40
4.1.5.	Tratamientos	40
4.2.	Materiales	40
4.2.1.	Material vegetal	40
4.2.2.	Producto y/o variedad	40
4.2.3.	Origen del material	40
4.4.	Analisis estadistico	41
4.4.1.	Análisis descriptivo de tablas y gráficas, donde se observa el comportamiento del cloro frente a posibles cepas de <i>Pseudomonas sp.</i> aislada de flores de <i>Gerbera sp.</i> frente a cada uno de los productos.....	41
5.	Cronograma de actividades	42
6.	Resultados y analisis	43
6.1.	Primera y segunda fase	43
6.1.1.	Recuperación de posibles cepas de <i>Pseudomonas sp.</i>	43
6.1.2.	Recuperación de las posibles cepas de <i>Pseudomonas sp</i> aislada de flores <i>Gerbera sp.</i>	43
6.1.3.	Prueba de fluorescencia para las posibles cepas de <i>Pseudomonas sp.</i>	44
7.	Conclusiones	58
8.	Recomendaciones	59
9.	Bilbliografia	60
10.	Anexos	63
10.1.	Registro fotográfico de la prueba antibiograma por medio de la técnica de difusión en agar por medio de pozos.....	63
10.2.	Registro fotográfico de la prueba antibiograma por medio de la técnica de difusión en agar por medio de pozos donde se observan posibles halos de inhibicion.....	64
10.3.	Equipos y reactivos	68

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Tratamientos a evaluar de Florissima 225 [®] , hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio frente a <i>Pseudomonas sp.</i>	35
Tabla 2.	Tratamientos a evaluar de hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio frente a <i>Pseudomonas sp. (segunda fase)</i>	36
Tabla 3.	Cronograma de actividades	40
Tabla 4.	Recuperación cepa 1 y 2 (descripción posibles cepas 1 y 2)	43
Tabla 5.	Tinción de Gram de posibles cepas de <i>Pseudomonas sp.</i>	44
Tabla 6.	Prueba fluorescencia de posibles cepas de <i>Pseudomonas sp.</i>	45
Tabla 7.	Prueba catalasa de posibles cepas de <i>Pseudomonas sp.</i>	45
Tabla 8.	Datos de cada una de las variables a evaluar a diferentes concentraciones de cada uno de los tratamientos que se evaluó (Florissima 225 [®] , hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio). (primera fase)	46
Tabla 9.	Datos de cada una de las variables a evaluar a diferentes concentraciones de cada uno de los tratamientos que se evaluó (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio). (segunda fase)	46
Tabla 10.	Datos halos de inhibición en flores de <i>Gerbera sp.</i> de cada uno de los tratamientos (Florissima 225, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a las 24, 48 y 72 horas de con los productos evaluados (primera fase)	47
Tabla 11.	Datos halos de inhibición en flores de <i>Gerbera sp.</i> de cada uno de los tratamientos (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a las 24, 48 y 72 horas de con los productos evaluados (segunda fase)	48
Tabla 12.	Datos halos de inhibición obtenidos en el ensayo realizado con flores de <i>Gerbera sp.</i> de cada uno de los tratamientos (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a las 24, 48 y 72 horas de con los productos evaluados donde se observan los halos de inhibición teóricos Vs valores prácticos	51

Tabla 13.	Datos halos de inhibición en flores de Gerbera sp. de cada uno de los tratamientos (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a las 24, 48 y 72 horas de con los productos evaluados. (segunda fase)	52
Tabla 14.	Análisis estadísticos de los datos obtenidos en el antibiograma (primera fase)	55
Tabla 15	Análisis estadísticos de los datos obtenidos en el antibiograma (primera fase)	56

LISTA DE FIGURAS, GRÁFICOS

	Pág.
Grafica 1. Valores de pH y cloro libre para cada uno de los tratamientos (Florissima 225 [®] , hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a evaluar	59
Grafico 2. Valores de pH y cloro libre para cada uno de los tratamientos (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a evaluar (segunda fase)	62

LISTA DE IMÁGENES

	Pág.
Imagen 1. Principales exportadores e importadores de flores a nivel mundial. Tomada de la página de Ascolflores.	17
Imagen 2. Comportamiento en la producción de flores del año 2016 comparándolos con el 2017 para determinar cuál fue la variación que hubo en este año y además de representar la participación de cada uno de los departamentos.	18
Imagen 3. Diagrama de torta de la participación del sector floricultor en Cundinamarca se encuentra en un 64,6% y Antioquia con un 35,3%.	19
Imagen 4. Porcentaje de participación del departamento de Cundinamarca en 2017, volumen (ton).	19
Imagen 5. Principales especies de flores exportadas	20
Imagen 6. Invernaderos de la finca Marly	21
Imagen 7. Vida florero	29
Imagen 8. Pared celular	31

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1 Registro fotográfico de la prueba antibiograma por medio de la técnica de difusión en agar por medio de pozos.	63
Anexo 2 Registro fotográfico de la prueba antibiograma por medio de la técnica de difusión en agar por medio de pozos donde se observan posibles halos de inhibición.	64
Anexo 3 Composición agar King B	65
Anexo 4 Metodología de la evaluación del comportamiento de <i>Pseudomonas sp.</i> frente a diferentes concentraciones de oxiclورو de calcio, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio. Tomado de planificación nacional y política económica;	66
Anexo 5 Metodología de la evaluación del comportamiento de <i>Pseudomonas sp.</i> frente a diferentes concentraciones de oxiclورو de calcio, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio. Tomado de planificación nacional y política económica;	67
Anexo 6 Equipos, reactivos y medios	68
Anexo 7 Planos finca Marly donde se realizó la evaluación	69

INTRODUCCIÓN

Colombia se ha convertido en uno de los países más importantes en la comercialización de flor, debido a que tiene privilegios por sus recursos naturales, diversidad de ecosistemas y geografía, lo cual ha contribuido a posicionarse en uno de los principales referentes en biodiversidad del mundo. A partir de esta riqueza y considerando la biodiversidad como base de la agricultura, ésta se convierte en una de las actividades más importantes para el desarrollo social y económico del país.

Las flores son valoradas por su belleza exótica y variedad de colores, estas presentan una gran demanda en el comercio internacional y dentro de las especies que más se comercializan, después de la *Rosa*, *Crisantemos*, *Tulipanes* y *Lilium* se encuentra la ***Gerbera sp.*** y esto se debe, entre otros factores, a la vida en florero y a la diversidad de colores esta presenta una flor de corte económicamente importante, perteneciente a la familia *Compositae*, es popular por su variedad de colores, tamaños de flor y formas, se cultiva principalmente en invernaderos para la producción durante todo el año, se ha establecido como una planta ornamental de gran importancia económica, utilizada principalmente como flor de corte y ocupa el quinto lugar en ventas de flores. (Zaragoza R. 2017)

La flor de ***Gerberasp.*** es una de las flores de corte más importantes; este género comprende de 40 a 50 especies. Exitosamente crecen bajo un amplio rango de condiciones en muchas áreas del mundo.

Los tallos de las flores de ***Gerberas sp.*** son comercializados sin hojas, generalmente esta flor presenta bacteriosis y hongo en flor, considerado esto como un proceso negativo que afecta la calidad y vida en florero, por tal motivo se han desarrollado soluciones de hidratación, las cuales mejoran la apariencia física de la flor, una de las principales bacterias que se presenta con mayor incidencia es el género de gammaproteobacterias (*Pseudomonas*) con más de 100 especies que exhiben estilos de vida variados en una amplia gama de ambientes, incluyendo suelo, agua, superficies de plantas y animales, estas ***Pseudomonas sp.*** son bien conocidas por su ubicuidad en el mundo natural, su capacidad para utilizar una sorprendente variedad de compuestos orgánicos como fuentes de energía y su resistencia a una amplia gama de compuestos antimicrobianos importantes desde el punto de vista floricultor.

Un lugar a tener en cuenta en la producción de las flores es el manejo en post-cosecha, ya que esta influye en la calidad de la flor. Debido a que en esta se seleccionan las mejores flores al hablar de calidad se trata principalmente de: tallos gruesos, largos y totalmente verticales, botones grandes y colores sumamente vivos y el mayor número de días de vida en florero. De ahí que, cualquier estudio en esta

área es de vital importancia ya que al contribuir en mejorar la calidad de la flor se garantiza un mercado permanente y mejores precios.

Actualmente, la flor de ***Gerbera sp.*** en vida florero tiene senescencia muy rápida, esto relacionado con bacteriosis lo cual disminuye la vida de la flor, por tal motivo la empresa **Elite Flowers Farmers S.A.S.** está realizando el estudio de la inhibición bacteriana posibles cepas de ***Pseudomonas sp.*** con productos a base de cloro, de tal manera que la vida de flor se prolongue

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio sobre *Pseudomonas* sp. aisladas de flores de *Gerbera* sp.

1.2. Objetivos específicos

- Determinar la concentración que presente la inhibición de las posibles cepas de *Pseudomonas* sp. aisladas de flores de *Gerbera* sp. frente a cada uno de los productos evaluados (Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio).
- Evaluar el efecto inhibitor de Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio sobre el crecimiento de posibles cepas de ***Pseudomonas* sp** aisladas de flores de ***Gerbera* sp.**

2. JUSTIFICACIÓN

La flor cortada, al momento de ser retirada de la planta, está expuesta a una pérdida de agua, por tal motivo se utilizan soluciones de hidratación que mantienen un balance hídrico apropiado. Anteriormente lo que se sugería era que después del corte, la flor debía ser depositaban inmediatamente en agua, pero no es suficiente ya que se pueden producir obstrucciones en los tallos por bacteriosis en los tallos evitando de esta manera la absorción efectiva de la misma.

Debido a lo anterior se están utilizando productos que eviten el desarrollo de microorganismos, ya que estos son encontrados en el tallo y en el agua que se utiliza para la hidratación, siendo estos los principales responsables de la obstrucción de los vasos vasculares, provocando el desmejoramiento en las flores disminuyendo la vida en florero.

Estas soluciones contienen elementos bactericidas, tensoactivos, un ácido, evitando de esta forma el proceso de destrucción de las proteínas. (Requena J. 1991)

Por lo anteriormente mencionado la empresa **Elite Flower Farmers S.A.S**, ubicada en la sabana de bogota, actualmente realiza la hidratacion de flores de **Gerbera sp** con el producto Florissima 225[®], el cual actua en el control de microorganismos, los cuales afectan la calidad de la flor produciendo un desmejoramiento en la estetica y en la descomposcion del tejido.

La Florissima 225[®], a base de cloro y ácido inorgánico actuan en la eliminación rápida y efectivamente de la contaminación microbiologica de las soluciones de hidratación.

Según estudios realizados se ha encontrado que la bacteria **Pseudomonas aeruginosa** esta presente en el corte de flores de **Gerbera sp**. causando en el transcurso del tiempo curvatura del pedúnculo y bacteriosis en el montaje de floreros (Torres, J 2010). Actualmente la empresa **Elite Flower Farmers S.A.S**, ubicada en la sabana de bogota, realiza la hidratacion de flores de **Gerbera sp** con el producto Florissima 225; el cual tiene propiedades biocidas. el Departamento de Investigación y Desarrollo de la compañía encontro la presencia de posibles cepas de **Pseudomonas sp**.en el proceso de hidratacion de folres de **Gerbera sp**.

A partir de este aislamiento el departamento de Investigación y Desarrollo pretendera evaluar productos como Florissima 225[®], Hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio, en diferentes concentraciones para determinar su efecto sobre posibles cepas de **Pseudomonas sp**. aisladas de flores de **Gerbera sp**., para lo anterior se realizaran prueba de confirmación morfológica (tinción de Gram), prueba de catalasa y prueba de antibiograma, donde se medirá el nivel de inhibición de cada tratamiento a evaluar frente a posible cepas de **Pseudomonas sp**., Así mismo se tendrá en cuenta parámetros como cloro libre, pH y conductividad eléctrica, como control en la evaluación.

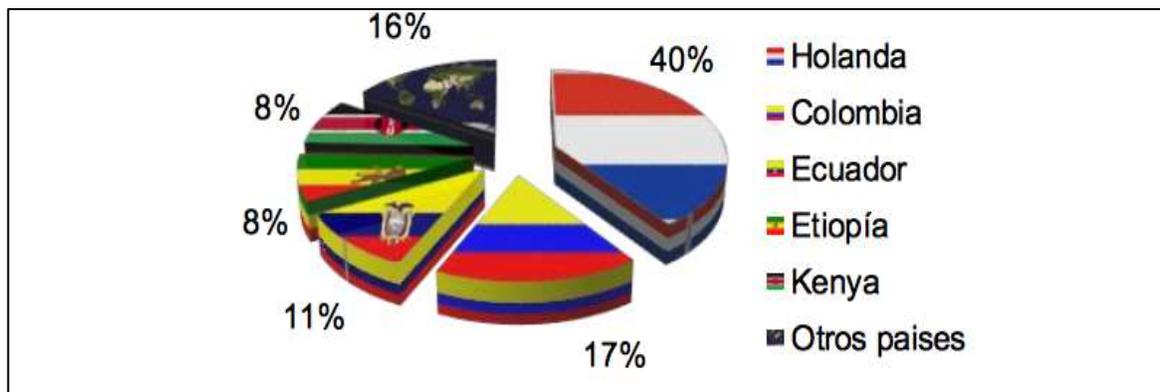
3. MARCO REFERENCIAL

3.1. Panorama general de la floricultura

El origen de la industria de flores en Colombia data en la primera mitad de la década de los 60, en la que el señor de Edgar Wells, aficionado al cultivo y diseño de las flores emprendió su viaje hacia los Estados Unidos con el fin de aprender las últimas técnicas utilizada en este campo. Al regresar a Colombia formó una pequeña empresa para abastecer parte del mercado local. Pero entre sus objetivos estaba exportar flores a los Estados Unidos.

El cultivo de flores de corte se ha convertido en una de las actividades más rentables en la agricultura. En los años 80 la floricultura empezó a desarrollarse en algunos países de América Latina, destacando Colombia, Ecuador y México. Posteriormente, países de otras regiones del mundo (Israel, India, Japón, Kenia, Marruecos, Costa de Marfil, Etiopía y Ruanda) se incorporaron al mercado global como oferentes de flores de corte. (Rodríguez L. 2014)

Imagen 1. Principales exportadores de flores a nivel mundial 2015



Fuente: Asocolflores, 2017. En línea: www.asocolflores.org/aym_images/files/ARCHIVOS/17032017/2017_03_08_Boletin_Estadistico_Enero_2017_sin_produccion.pdf. Consultado 04 de marzo a las 10 am.

Según Asocolflores, en los primeros 30 años de actividad en la industria, el sector floricultor se convirtió en el segundo exportador mundial de flores frescas cortadas. Debido a que Colombia posee una amplia variedad y especies de flores que le permiten atender a diferentes mercados del mundo, tanto en cantidad como en calidad de los productos, este tiempo se convirtió en el segundo país exportador de flores después de Holanda y el primer exportador de flores al mercado de Estados Unidos.

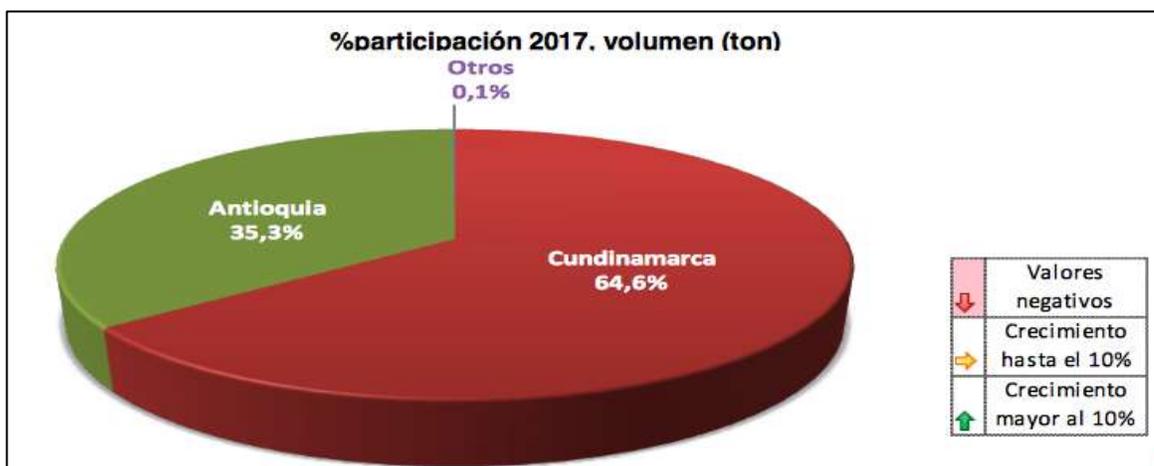
El principal centro de la floricultura colombiana se encuentra ubicada en la sabana de Bogotá, donde encontramos municipios como **Facatativá**, Mosquera, Funza, Cajicá, Chía, cota y suba, donde se realizaron los primeros invernaderos dando paso a lo que se convirtió en la principal agroindustria del país, ya que se cultivan cerca del 92% de las flores exportadas. Cuenta con una altitud de 2600 metros sobre el nivel del mar, con temperaturas que oscilan entre 14 y 20 grados centígrados durante el día y entre 4 y 8 grados en horas de la noche.

Imagen 2. Comportamiento en la producción de flores del año 2016 comparándolos con el 2017 para determinar cuál fue la variación que hubo en este año y además de representar la participación de los departamentos de Antioquia y Cundinamarca.

Departamento	Enero 2016		Enero 2017		% variación 2017/2016		% participación en 2017
	Valor (USD)	Volumen (tons.)	Valor (USD)	Volumen (tons.)	Valor	Volumen	
Cundinamarca	\$ 56.030.278	10.057	\$ 63.364.892	10.592	↑ 13,1%	→ 5,3%	72,5%
Antioquia	\$ 24.077.011	5.851	\$ 24.013.744	5.778	↓ -0,3%	↓ -1,2%	27,5%
Otros	\$ 598.389	130	\$ 73.100	16	↓ -87,8%	↓ -87,5%	0,1%
Total	\$ 80.705.678	16.038	\$ 87.451.737	16.386	→ 8,4%	→ 2,2%	100%

Fuente: Asocolflores, 2017. En línea: www.asocolflores.org/aym_images/files/ARCHIVOS/17032017/2017_03_08_Boletin_Estadistico_Enero_2017_sin_produccion.pdf. Consultado 04 de marzo a las 10 am.

Imagen 3. Diagrama de torta se observa la participación del sector floricultor en el cual se observa que Cundinamarca se encuentra en un 64,6% y Antioquia con un 35,3%.



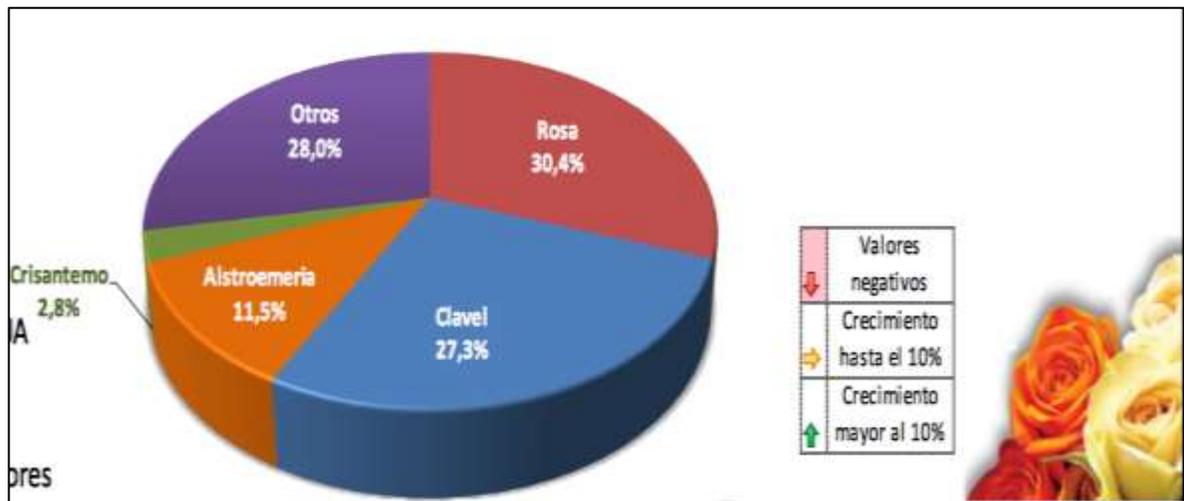
Fuente: Asocolflores, 2017. En línea: www.asocolflores.org/aym_imagenes/files/ARCHIVOS/17032017/2017_03_08_Boletin_Estadistico_Enero_2017_sin_produccion.pdf. Consultado 04 de marzo a las 10 am.

Imagen 4. Porcentaje de participación de 2017, volumen (ton). Las exportaciones de la flor del departamento de Cundinamarca aumentaron en 13,1% en valor y 5,3% en volumen, de enero de 2017 frente al mismo periodo de 2016.

Especie	Enero 2016		Enero 2017		% variación 2017/2016 Valor	% variación 2017/2016 Volumen	% participación en 2017 Valor
	Valor (USD)	Volumen (tons.)	Valor (USD)	Volumen (tons.)			
Rosa	\$ 16.765.298	2.903	\$ 18.409.156	3.223	↗ 9,8%	↗ 11,0%	29,1%
Clavel	\$ 16.775.623	3.141	\$ 15.063.438	2.893	↘ -10,2%	↘ -7,9%	23,8%
Alstroemeria	\$ 5.057.725	1.344	\$ 5.062.200	1.217	↔ 0,1%	↘ -9,5%	8,0%
Crisantemo	\$ 1.536.817	320	\$ 1.739.081	297	↗ 13,2%	↘ -7,1%	2,7%
Gypsophila	\$ 185.041	82	\$ 240.170	68	↗ 29,8%	↘ -17,1%	0,4%
Lirio	\$ 134.097	19,86	\$ 162.311	24,58	↗ 21,0%	↗ 23,7%	0,3%
Gérbera	\$ 51.278	12	\$ 110.634	51	>100%	>100%	0,2%
Aster	\$ 101.519	19	\$ 90.578	17	↘ -10,8%	↘ -8,0%	0,1%
Hortensia	\$ 86.575	18	\$ 69.502	12	↘ -19,7%	↘ -30,0%	0,1%
Orquídea	\$ 0	-	\$ 5.963	0	>100%	↔ 0,0%	0,0%
Otros	\$ 15.336.305	2.200	\$ 22.411.861	2.789	↗ 46,1%	↗ 26,8%	35,4%
Total	\$ 56.030.278	10.057	\$ 63.364.892	10.592	↗ 13,1%	↗ 5,3%	100,0%

Fuente: Asocolflores, 2017. En línea: www.asocolflores.org/aym_imagenes/files/ARCHIVOS/17032017/2017_03_08_Boletin_Estadistico_Enero_2017_sin_produccion.pdf. Consultado 04 de marzo a las 10 am

Imagen 5. Principales especies de flores exportadas del departamento de Cundinamarca



Fuente: Asocolflores, 2017. En línea: www.asocolflores.org/aym_images/files/ARCHIVOS/17032017/2017_03_08_Boletin_Estadistico_Enero_2017_sin_produccion.pdf. Consultado 04 de marzo a las 10 am.

La empresa floricultora ubicada en la sabana de Bogotá **Elite Flower Farmers S.A.S.** dedicada a la producción y comercialización en el sector floricultor, tienen como objetivo social la producción especializada de flor de corte bajo cubierta y al aire libre, la cual es sembrada en un campo de 240 hectáreas. Entre las variedades que comercializan se encuentran las Rosas, las Alstroemerias, las **Gerberas** y los Claveles. (**Elite Flowers Farmers S.A.S. 2014**)

La empresa se dedica al corte de la flor bajo cubierta se refiere a que estos se realizan en invernaderos los cuales están compuestos de una estructura cerrada cubierta por materiales transparentes de plástico, en la cual se logra obtener condiciones climáticas artificiales, esto con el fin que la especie a cultivar se adapte aun cuando las condiciones exteriores no sean las apropiadas para su desarrollo. Teniendo en cuenta esto, es posible obtener producciones en sitios en donde a campo abierta resultaría imposible debido a las condiciones climáticas.

La producción bajo invernadero presenta ventajas tales como: Precocidad en la cosecha, incremento de la calidad y del rendimiento, producción fuera de época o en condiciones ambientales diferentes a las requeridas por las especies cultivadas a campo abierto, ahorro en el consumo de agua para riego y fertilizantes, facilidad para el manejo de plagas y enfermedades. (Reed B. 2004).

Imagen 6. Invernaderos de la finca Marly pertenecientes a la empresa **Elite Flower Farmers S.A.S.**



Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Los invernaderos son estructuras cubiertas con un techo inclinado, presentan buena ventilación, gracias a que tienen aperturas en la parte de arriba y poseen una altura adecuada, el círculo amarillo indica la ubicación del reservorio 25 el lugar donde toman el agua para la hidratación de la **Gerbera sp.**

3.2. Comportamiento del sector floricultor

La posición geográfica, las condiciones climáticas y la luminosidad forman parte de las principales características que debe poseer una región o país para cultivar flores, además de considerar ciertos requerimientos para cumplir con las exigencias del producto en el mercado internacional.

Las flores son altamente dependientes de un manejo adecuado de su cadena de frío, condición que debe cumplir para ser distribuido en el mercado internacional. Este procedimiento, permite alargar la vida útil de la flor, convirtiéndose en la promesa de servicio al cliente. Por esta razón, las flores tradicionales como las *Rosas*, *Claveles*, *Crisantemos*, *Alstroemerias* y *Bouquets*, en contraste a las flores tropicales, deben mantenerse en cadena de frío desde el corte hasta la entrega del cliente final, de manera constante, sin interrupciones, y con baja humedad, para que se evidencie una óptima calidad del producto (González A. 2013).

3.3. Centro de origen

La flor de **Gerbera sp.**, descubierta durante el siglo XVII en Sudamérica un siglo después descubierto y estudiado por el naturalista holandés Grenovius, es un género

de plantas ornamentales originaria de África del Sur específicamente de la región de Transvaal y el nombre se le atribuye al botánico Gerber, también se conoce como margarita del Transvaal, la flor de **Gerbera sp.** pertenece a la familia de las compuestas Asteráceae. Su nombre científico es Trangott Gerber, es herbácea, vivaz, de crecimiento en roseta, cuyo cultivo puede durar varios años, sin embargo, comercialmente solo interesa cultivarla durante dos o tres según cultivares y técnicas de cultivo empleadas ya que después disminuye la productividad.

3.4. Clasificación taxonómica de la flor de Gerbera sp.

Reino: Plantae
Subreino: Embryonta
División: Anthophyta (angiospermas)
Clase: Monocotiledonea
Orden: Liliopsida
Familia: Asteraceae
Género: **Gerbera**
Especie: G. Carmina y G. fiorella

3.5. Descripción botánica de la flor de Gerbera sp.

Una de las características que distingue esta flor es el punto de madurez óptimo, sus pétalos, no deben presentar espacios, además de ser del mismo tamaño y el color es muy particular dependiendo de la variedad, otra particularidad a tener en cuenta es el tallo el cual debe ser recto y de textura firme, generalmente se permite un mínimo de 40 cm de largo y un máximo de 80cm. (Santa cruz Ana, 2008)

3.6. Factores que influyen en el desarrollo de Gerbera sp.

3.6.1. Factores

3.6.1.1. Clima

Es la planta típica para cultivarse en un clima templado, el mantenimiento de una temperatura óptima incide en el rendimiento y emparejamiento de la floración.

3.6.1.2. Suelo

para lograr el rendimiento óptimo de Gerbera sp. es necesario mantener Es necesario mantener niveles adecuados de elementos fertilizantes en el suelo, pues, al igual que todas las flores de corte bajo invernadero, es un cultivo intensivo, que constantemente en crecimiento vegetativo.

Este debe tener todos los nutrientes que favorezcan el crecimiento de las flores, además que se mantengan firmes y derechas, por lo que la estructura del suelo

debe garantizar suficiente aire y agua para las raíces, por ende, se debe tener en cuenta que el drenaje en estos cultivos es muy importante ya que se debe evitar la asfixia radicular a la que es tan sensible la planta, como la infección de determinados hongos que afectan al cuello y sistema radicular de la flor de **Gerbera sp.** (Rakesh y col. 2012)

Se debe tener en cuenta que la manera más rápida para colocar los elementos nutritivos dentro del suelo es usar fertilizantes que contengan uno o más de los tres nutrientes químicos necesarios para la planta, por tal motivo es necesario que no se apliquen antes de la plantación. Estos pueden eliminarse rápidamente, por tal motivo es necesario que no se apliquen antes de la plantación, además es importante tener en cuenta que este, no debe aplicarse cerca de la planta por que puede quemar la raíz. Por lo que se recomienda dispersarlo y mezclarlo en la superficie del suelo. (Guevara C. 2014)

3.6.1.3. Nutrición mineral

La flor de **Gerbera sp.** necesita ciertos componentes como son los almidones y azúcares que son almacenados en los tallos, hojas y pétalos, estos nutrientes juegan un rol importante, ya que garantizan una correcta apertura y duración en vida florero.

Los carbohidratos aumentan dependiendo la luz solar luego de un día de luz solar los niveles de carbohidratos en la tarde luego de un día de luz solar completo son generalmente altos. La cosecha de la flor es preferible que se realice temprano en la mañana porque las temperaturas son bajas, el contenido de agua es alto y se dispone del día completo para el procesamiento de la flor.

- **Fuente de nitrógeno:** Es un componente de muchos compuestos orgánicos importantes desde las proteínas hasta los ácidos nucleicos. Es un constituyente de la molécula de la clorofila que cual juega un papel importante permite el crecimiento de hojas y tallos color verde y resistencia a plagas. Otro síntoma de la deficiencia de N es la reducción del crecimiento trayendo como consecuencia floraciones fuera de temporada y con un ciclo de cultivo (Zenil N. 2013)
- **Fuente de fosforo:** Maduración temprana de semillas y frutos, formación de raíces, resistencia sequias, el fósforo forma parte de cada una de las células vivas existentes en la planta con la particularidad de que se presentan en la semilla en cantidades mayores que en el resto de las otras partes de la planta, aunque bien es cierto que se encuentra en las partes jóvenes que están en activo crecimiento (Zenil N. 2013)
- **Fuente de potasio:** Raíces y tallos fuertes, semillas y hojas gruesas ayuda a mover los nutrientes alrededor de las plantas. El fósforo forma parte de cada una de las células vivas existentes en la planta con la particularidad de

que se presentan en la semilla en cantidades mayores que en el resto de las otras partes de la planta, aunque bien es cierto que se encuentra en las partes jóvenes que están en activo crecimiento (Zenil N. 2013)

3.6.1.4. Luz

La flor de **Gerbera sp.** se considera una especie indiferente al fotoperiodo, o sea, florece tanto en períodos de luminosidad de días largos como cortos, la cantidad de luz y longitud del periodo de iluminación, se establece de acuerdo al ciclo anual de crecimiento y al desarrollo de estas plantas. No obstante, la luz influye sobre la emisión de brotes laterales que darán lugar a nuevas flores.

La luminosidad es importante sobre todo en variedades de coloración rosa y fucsia en donde una baja iluminación afecta la intensidad y calidad del color. Intensidades bajas producirán colores más oscuros y luminosidad alta producirá colores más intensos y encendidos. (Calderón U y Ortigón S. 2009)

La luminosidad también afecta la etapa reproductiva de la planta. En épocas de invierno, con luminosidades bajas y alta humedad en el suelo las plantas tienden a conservar un crecimiento vegetativo y tardan en realizar la diferenciación floral.

El control de la luminosidad depende del tipo de material utilizado para la cubierta. Los plásticos utilizados tienen diferentes especificaciones de acuerdo a las necesidades del cultivo y de la región geográfica en donde se ubique el invernadero, las temperaturas máxima, mínima y media, las posibilidades de heladas, el régimen de vientos, la humedad relativa, el régimen de lluvias y la radiación solar.

Debido a lo anterior la cantidad e intensidad de luz tiene gran importancia en el cultivo de flores de **Gerbera sp.** para poder producir un gran volumen de flores. Una falta de luz reducirá la emisión de brotes laterales y con ello un menor número de nuevas flores de **Gerbera sp.** De igual forma, esta escasez de luz afectará a la calidad de los tallos florales que serán largos y débiles, además de tener flores de menos intensidad de color. (Zacares, M. 2008)

3.7. Labores culturales

Son los trabajos que requiere el cultivo desde su siembra hasta su cosecha. Algunos de estos trabajos son comunes a todas las plantas, otros son especiales de cada especie. Estas actividades son realizadas en el cultivo, ejecutadas después del corte de la flor, labores como el deshoje, el cual se maneja manualmente en un tiempo fijo, donde se retiran hojas que tengan problemas fitosanitarios y/o senescentes, el lacado de hojas se los lavados de hojas, se realizan con ayuda de una manguera de aspersión, se lavan las camas con reportes de los blancos biológicos como: Mosca Blanca, Ácaros, Mildeo Polvoso, se utiliza tensoactivo y para control de mildew Bicarbonato de sodio, aspirada donde se aspira de acuerdo a niveles de acción por datos de monitoreo, riego de camino, en esta se pretende tener caminos húmedos mas no encharcados buscando evitar el polvo en el

ambiente, se alternan cintas de color blanco y amarillo al interior y en la retirada de muerte y resiembra el material enfermo debe ser retirado con una frecuencia definida y remplazado, buscando llenar los espacios vacíos. Solo reutilizar el medio de cultivo después de haber sido esterilizado. (Hernández y col. 2000)

3.8. Entutorado o tutorado

Es una labor que se hace para tener un cultivo en las mejores condiciones, es decir que la flor se encuentre en un estándar de crecimiento y forma, de manera que no se encuentre con curvaturas ni caídas, por lo general la primera malla se coloca a 25 cm, dependiendo del crecimiento se colocan las otras dos mallas, las cuales pueden ser entre 60 y 100 cm, además de las malla se coloca un apoyo en los tallos de las flores, para que se desarrollen correctamente y las flores no tengan contacto con el suelo. (Manriquez N y Ramos D. 2012)

3.9. Riego

Requerimientos Hídricos Las plantas absorben agua y nutrientes por diferentes mecanismos, flujo de masa, absorción pasiva o absorción activa, Es el riego diario o interdiario que se aplica para mantener un contenido adecuado de agua disponible en el suelo para el desarrollo de las plantas.

El cultivo bajo invernadero hace imprescindible un uso eficiente del agua de riego. Para ello debe contarse con equipos de riego localizado (riego por goteo) o por aspersión.

El agua destinada al riego se hace llegar a las plantas por medio de tuberías y mediante pulverizadores a una presión determinada que hace que el agua llegue a las plantas en forma de gotas.

Estos sistemas constan de una bomba que provee presión, una red de tuberías que conducen el agua por la superficie a regar compuesta por ramales principales de alimentación y ramales secundarios que conectan directamente con los aspersores.

El riego de producción debe hacerse de manera frecuente, de manera que el sustrato se mantenga a capacidad de campo, por tanto, estará en función de la capacidad de retención y drenaje del mismo. Después de la plantación se puede producir un estrés hídrico para favorecer un retraso en el crecimiento vegetativo de las plantas, debido a que las raíces no son capaces de extenderse y explorar más volumen de suelo. Para evitarlo, se debe combinar el riego con operaciones de sombreo y ventilación, para que de esta forma el suelo no se caliente demasiado y la planta pueda vegetar correctamente. (Pardo T. 2010)

3.10. Factores que influyen en la calidad de las flores.

3.10.1. Calidad del agua

Las soluciones de hidratación deben ser preparadas con agua de buena calidad, debido a este parámetro la empresa hace un proceso de tratamiento del agua tratada, en el cual a un tanque de 2000 litros se le agrega 3 gramos de hipoclorito de calcio y 100 ml de polidoc DPT4, se deja actuar por 2 horas, seguido se miden parámetros de pH, cloro total y dureza, a partir de esta agua se preparan las soluciones de hidratación.

Este proceso es de gran importancia debido a que, las aguas duras generalmente contienen minerales que impiden la fácil absorción de los tallos, reduciendo así la vida en florero.

3.10.2. Post-cosecha.

Las flores están compuestas de tejidos vivos, sujetos a cambios constantes, después de ser cosechados, se debe realizar un procedimiento adecuado que prolongue la vida de la flor, por tal motivo estas son llevadas a la post-cosecha, teniendo en cuenta que la calidad de la flor no mejora solo se mantiene, retrasando el fenómeno de senescencia y marchitez. Sin embargo, no hay un tratamiento post-cosecha universal eficiente para todos los tipos de flores, pero algunos tratamientos específicos contribuyen a la manutención de la calidad de ciertas flores, afectando uno o más de los siguientes factores: balance hídrico, reservas de carbohidratos y otros nutrientes y balance hormonal involucrado en el desarrollo y la senescencia floral. (Senapy R. 2008)

Por tal motivo estas flores son llevadas a la post-cosecha, la cual tiene como objetivo retrasar el fenómeno de senescencia y marchitez; de esta manera se satisface el requerimiento de los consumidores que quieren flores frescas de buena calidad y que duren en el florero un período razonable. En esta se realiza todo el proceso de empaqueo, hidratación, viaje simulado, enfriamiento y almacenamiento.

3.10.3. Soluciones para post-cosecha en flor de corte

3.10.3.1. Empaque

Para el empaque se arman los floreros de 15 tallos, se envuelven con papel de seda, esto es realizado en la post-cosecha, seguido de esto se llevan a hidratar por 4 horas.

3.10.3.2. Soluciones de hidratación

Las flores necesitan soluciones que prolongan la vida de la flor, en la empresa se utiliza actualmente el oxiclورو de Calcio y el hidroxipropionato de potasio, el

primero tiene acción bactericida, es a base de cloro, elimina rápida y efectivamente la contaminación de microorganismos, el segundo compuesto contiene un ácido inorgánico que logra mantener la acción del cloro a pH bajos, durante un tiempo mayor que los tratamientos convencionales con soluciones cloradas. El hidroxipropionato, reacciona con el cloro para formar un complejo estable, sin reducir o afectar su acción bactericida, este producto se recomienda como pre-tratamiento en flores recién cortadas.

La hidratación de las flores se realiza en tinas a las cuales se les agrega 5 litros de agua seguido de la adición del oxícloruro y el hidroxipropionato, luego de esta mezcla, se toman los ramos y se depositan en la solución recién preparada y se deja hidratar por 4 horas, a estas soluciones se les mide el pH, cloro y conductividad eléctrica. (Mascarini L. 2017)

La razón de usar soluciones hidratantes, está en mejorar o mantener la apariencia física de la flor pero el problema radica en que no se conoce la eficacia y rentabilidad de los productos que están disponibles en el mercado; además, al determinar los tiempos de refrigeración más adecuado se podrá establecer el tiempo máximo de conservación de la flor en cuarto frío, determinando con ello el tiempo más adecuado de almacenamiento sin que afecte su calidad de esta manera se podrá llegar a obtener resultados que ayuden al manejo apropiado de la flor cortada durante su permanencia en cuarto frío en las fincas.

3.10.3.3. Componentes de las soluciones para la vida en florero

En ornamentales, la vida en florero es una de las características más importantes que determinan su calidad y su capacidad para satisfacer las preferencias del consumidor, estimulando capacidad de adquisición. La vida en florero puede estar influenciada y limitada por factores extrínsecos a la flor como la acumulación de bacterias en las soluciones hidratantes o bien, del mismo tallo causando marchitamiento y deshidratación. Además, parte de la vida en florero depende de las reservas de azúcares con la que cuenta la flor al momento de ser cortada, puesto que una vez que esta ha sido cortada, las ganancias netas de carbono serán reducidas debido al catabolismo del proceso fotosintético.

3.10.3.4. Empacado en full

Se toman las flores por tratamientos y se empacan en cada una de las full, seguido se enzuncha y se realiza el cerrado de la caja.

3.10.3.5. Viaje simulado y choque térmico

Este es un proceso que se realiza en la post-cosecha, en el cuarto frío luego de realizar la hidratación por 4 horas, las flores son empacadas en fulles (cajas), se

enzunchan y se lleva a dicho cuarto por 7 días, se sacan las cajas por 5 horas, esto con el fin de realizar el choque térmico, luego se vuelven al cuarto frío.

3.10.3.6. Enfriamiento

La necesidad primordial en la industria florícola es el enfriamiento, una vez que se ha cortado la flor, ya que seguido del corte comienza una carrera que disminuye o acorta la vida de la flor. Por tal motivo se realiza un enfriamiento el cual disminuye la tasa de respiración en las flores cortadas, además se ha demostrado que la refrigeración prolongada de las flores hace que disminuyan los niveles de proteínas solubles y aumenten los niveles de amoníaco y aminoácidos. El primer y más evidente efecto de las bajas temperaturas es la disminución del crecimiento.

Además, se debe tener en cuenta que antes del enfriamiento se realiza un pre enfriamiento, el cual es un proceso que hace descender rápidamente la temperatura de la flor recién cortada prolongando la belleza y vida útil y determinando una mejor calidad del producto. Debido a esto se debe tener en cuenta que esto es indispensable para los productos forales que tienen altas tasas de respiración y desprenden mucho calor, como el clavel y la rosa. La experiencia ha demostrado que este procedimiento es benéfico para todas las especies

La actividad metabólica de las flores permanece casi en cero, si su temperatura interna se encuentra alrededor de los 2°C, el factor que permite ampliar el período de conservación es la temperatura.

Cuando se separa la flor de la planta madre, está sigue siendo un tejido vivo que respira. La conservación del producto a la temperatura más baja posible (0 C para cultivos templados o 10-12 C para los tropicales o subtropicales sensibles a daño por frío) aumentará la vida útil del mismo, ya que las temperaturas bajas disminuyen la tasa de respiración y la sensibilidad al etileno, reduciendo además la pérdida de agua.

Es importante dejar un espacio adecuado entre las pilas de cajas (unidades de carga) dentro de la cámara de refrigeración para que el producto se enfríe lo más rápidamente posible. (De la cruz G. 2007)

3.10.3.7. Tiempo de vida en florero

la vida en florero es una de las características más importantes que determinan su calidad y su capacidad para satisfacer las preferencias del consumidor, en la post-cosecha la vida útil de las flores varía dependiendo de la especie y caracteres de senescencia que presente. La vida de florero de la mayoría de las flores cortadas es regulada por el etileno. En este proceso se deben tener floreros a los cuales se les agrega agua en un 70% y se le agrega comida para flores (para 1 litro se agrega un sobre de comida para flores), en este momento las flores se dejan por 15 días y se realiza seguimiento diario, en el que se tendrá en cuenta la deshidratación, bacteriosis y hongo en flor como causas e eliminación.

La vida en florero puede estar influenciada y limitada por factores extrínsecos a la flor como la acumulación de bacterias en las soluciones hidratantes. Según la compañía **Elite Flowers Farmers S.A.S** el tiempo de vida de la **Gerbera sp.** es de 7 días

Imagen 7. Vida en florero de flores de **Gerbera sp**



Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Al lado izquierdo se encuentra la variedad **Carmina** de color rojo y al lado derecho **Fiorella** de color rosado.

3.10.3.8. Presencia de microorganismos

El ataque de bacterias y hongos acorta la vida de la flor por lo que la poca higiene, las altas temperaturas y la deshidratación en las flores aceleran la presencia de microorganismos, los cuales pueden obstruir los vasos vasculares del tallo.

Las bacterias reportadas para el cultivo de **Gerberasp.** son **Pseudomona viridiflava**, **Erwinia chysantemi**, ocasionando pudriciones radicales; **Erwinia cyripedii**, manchas circulares; **Erwinia nigrifluens** y **E. rhaponticii**, producen manchas foliares rojizas, el ataque de bacterias y hongos acorta la vida de la flor, por lo que la poca higiene, las altas temperaturas y la deshidratación en las flores aceleran la proliferación de microorganismos provocando la obstrucción de los vasos vasculares del tallo.

En el aislamiento a partir de las soluciones de hidratación implementadas en flores de **Gerberasp.** se aislaron posibles cepas de **Pseudomonas sp** las cuales resultaron ser bacilos Gram negativos, móviles con flagelos polares, aerobios estrictos, metabolismo oxidativo no fermentativo. La especie medicamente más importantes de este género es **Pseudomona aeruginosa**. Estos microorganismos de crecimiento rápido pueden sobrevivir en ambientes marginales; por consiguiente, son difíciles de radicar de áreas. (Requena J. 1991)

3.10.3.9. Mecanismos de acción de los desinfectantes sobre los microorganismos.

Se caracteriza por su intensidad y ausencia de especificidad, en este se distinguen varias etapas:

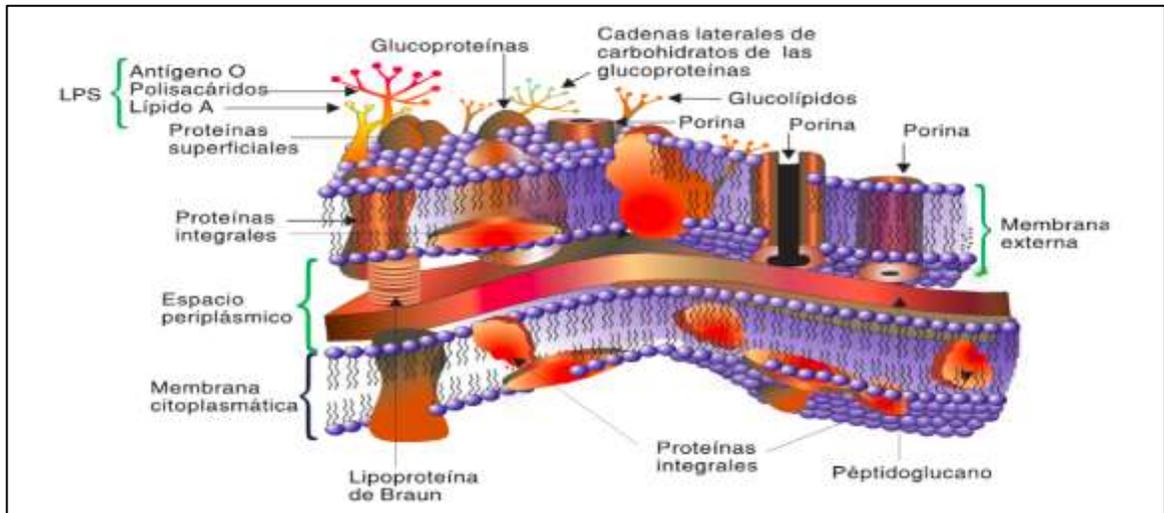
La fijación se da en la pared bacteriana y en función de la concentración y movimiento, la penetración en la cual los desinfectantes atraviesan la pared bacteriana y la membrana celular, la acción de estos se realiza en dos niveles, en la membrana citoplasmática, donde se produce la desorganización del metabolismo, la degradación y por último la muerte celular, además de darse la oxidación de sustancias y desnaturalización de proteínas con daños en el metabolismo celular. (Córdoba L. 2013). La acción que ejercen los agentes desinfectantes para destruir los microorganismos, tales como la oxidación, la coagulación de proteínas y el rompimiento de la pared y membrana celular, permiten que se lleven a cabo los mecanismos por los cuales se logra eliminar las bacterias.

La acción oxidante del cloro al combinarse con el agua, se lleva a cabo directamente sobre el protoplasma de la bacteria, causando desintegración de su estructura. Así mismo, se conoce que la mayoría de desinfectantes químicos coagulan las proteínas, como otro mecanismo de acción en la destrucción de las bacterias. El rompimiento de la pared celular se explica por el descenso de la tensión superficial causando en algunos casos que la bacteria se disuelva. (Córdoba L. 2013)

3.10.3.10. Resistencia intrínseca de las bacterias Gram negativas.

Las bacterias Gram negativas por lo general son más resistentes a los antisépticos y desinfectantes que las Gram positivas. La membrana externa de las bacterias Gram negativas actúa como una barrera que limita la entrada de varios tipos de agentes antibacterianos sin relación química. Las moléculas hidrofílicas de bajo peso molecular pasan fácilmente a través de las porinas, en cambio las moléculas hidrofóbicas se difunden a través de la bicapa de la membrana. Además de las vías antes descritas se ha propuesto una tercera vía para agentes catiónicos como los compuestos de amonio cuaternario, biguanidas y diamidinas, los cuales dañan la membrana y facilitan su autocaptación.

Imagen 8. Modelo tridimensional de la “cubierta o envoltura “celular de una bacteria Gram negativa.



Fuente. Montoya Hugo, 2008

La envoltura celular consta de una densa membrana externa, un periplasma o espacio periplasmático, una capa intermedia compuesta por peptidoglucano y una membrana citoplasmática subyacente.

3.10.3.11. Compuestos que liberan cloro

Los compuestos liberadores de cloro son desinfectantes, con un potente espectro de acción amplia. Son sensibles tanto las bacterias Gram negativas como las Gram positiva, además presentan cierta actividad frente a esporas bacterianas. (Arias, 2006).

Los hipocloritos son los desinfectantes más utilizados, están disponibles comercialmente en forma líquida (hipoclorito sódico) o sólida (hipoclorito cálcico, dicloroisocianurato sódico).

El hipoclorito de sodio es relativamente inestable a la temperatura y a luz. Los derivados clorados, en forma de polvo, son más estables pero sensibles a la humedad. El cloro gaseoso, el hipoclorito de sodio y los derivados clorados dan ácido hipocloroso (HClO) en presencia de agua.

El mecanismo de acción sobre los microorganismos, se basa en el poder oxidante del ácido hipocloroso (forma Activa) que entraña una destrucción de las proteínas estructurales y un bloqueo de la actividad enzimática. La actividad fungicida es poco marcada. (Sánchez L. 2005)

Son uno de los grupos de desinfectantes más utilizados a lo largo de la historia, fue uno de los primeros antisépticos en usarse, incluso antes de conocerse su

mecanismo de acción, y antes que se supiera el auténtico papel del microorganismo en las enfermedades infecciosas.

El cloro es un potente agente germicida con amplio espectro de actividad, activo frente a bacterias, esporas, hongos, virus y protozoos. Presenta efectos bactericidas rápidos. Es un agente oxidante que inactivan proteínas enzimáticas. La presencia de materia orgánica disminuye su actividad.

El mecanismo de acción sobre los microorganismos es poco conocido, pero se postula que actúan inhibiendo las reacciones enzimáticas y desnaturalizando las proteínas.

3.10.3.12. Florissima 225®

ha sido desarrollado para la hidratación de flores sensibles a la obstrucción vascular, y más específicamente para aquellas poscosechas donde el agua utilizada para la preparación de las soluciones de hidratación contiene un alto grado de contaminación bacteriológica y contenido de sólidos.

La acción bactericida de la Florissima 225, a base de cloro, elimina rápida y efectivamente la contaminación bacteriológica de las soluciones de hidratación, y su acción floculante purifica el agua precipitando los sólidos en suspensión.(Brenntag colombia S.A.)

El **oxicloruro de calcio** es un compuesto que al mezclarse con agua maneja un pH ácido por ende se produce una desestabilización del cloro y a la vez produce una inactivación del sulfato de aluminio.

3.10.3.13. Hipoclorito de Sodio.

El cloro es uno de los elementos más ampliamente distribuidos en la tierra. Las soluciones de hipoclorito de sodio (NaClO al 2% y al 5%) son probablemente los compuestos liberadores de halógenos mejor conocidos y figuran entre los desinfectantes más antiguos. Son extremadamente efectivos frente a todo tipo de microorganismos, pero pierden gran parte de su actividad en presencia de materia orgánica.

El hipoclorito de sodio son uno de los grupos de desinfectantes más utilizados a lo largo de la historia, fue uno de los primeros antisépticos en usarse, incluso antes de conocerse su mecanismo de acción, y antes que se supiera el auténtico papel de los microorganismos en las enfermedades infecciosas.

Es un compuesto halogenado utilizado como un agente proteolítico no específico capaz de eliminar magnesio e iones de carbonato.

El hipoclorito puede eliminar a los microorganismos diana en cuestión de segundos, incluso a bajas concentraciones, aunque otros informes han publicado tiempos considerablemente más largos para la muerte de las mismas especies.

Uno de tales métodos implicó la extracción de cal clorada (conocido como polvo de blanqueo) con carbonato de sodio para producir bajos niveles de cloro disponible.

Su mecanismo de acción ha sido ampliamente estudiado y se da cuando se contactan las proteínas del tejido y el NaClO , en esta reacción en corto tiempo se forma formaldehído y nitrógeno, los enlaces peptídicos se rompen para disolver las proteínas. Durante este proceso, el hidrógeno en los grupos amino ($-\text{NH}-$) se sustituye por el cloro ($-\text{NCl}-$) la formación de cloraminas desempeñan un papel importante para la eficacia antimicrobiana.

El hipoclorito de sodio actúa como un disolvente orgánico y de la grasa, degradando los ácidos grasos y los transforma en sales de ácidos grasos (jabón) y glicerol (alcohol). El hipoclorito de sodio neutraliza aminoácidos que forman agua y sal (reacción de neutralización). Con la salida de iones hidroxilo, hay una reducción del pH. Cuando el cloro se disuelve en agua y está en contacto con la materia orgánica, forma ácido hipocloroso. Este es un ácido débil, actúa como un oxidante. Ácido hipocloroso (HOCl) e hipoclorito (iones OCl^-) conducen a la degradación del aminoácido y la hidrólisis, Además de presentar acción antimicrobiana mediante la inhibición de enzimas bacterianas que conducen a la oxidación irreversible de grupos SH (grupo sulfhídrico) de las enzimas bacterianas esenciales. (Montoya Hugo, 2008)

4. METODOLOGÍA

En el presente trabajo se tuvieron en cuenta las posibles cepas de *Pseudomonas* sp., las cuales se encontraban conservadas en glicerol al 70% en el laboratorio de eficacia de la empresa, a partir de estas se realizaron repiques en agar King B, se llevaron a incubación a 30°C por 12 horas, pasado este tiempo se realizó tinción de Gram llevando la placa al microscopio donde se visualizaron bacilos cortos Gram negativos, además se tuvieron en cuenta las pruebas de catalasa y fluorescencia, las cuales se tuvieron en cuenta para una posible identificación de las cepas, seguido posteriormente se realizó la preparación de todo el material que se utilizaría en la prueba, para esto se utilizaron tres productos Florissima 225, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio, las soluciones fueron preparadas en 100 ml de agua destilada, al momento de realizar la preparación de los productos se implementaron 5 concentraciones de cada uno de los productos las cuales se probarían en las posibles cepas de *Pseudomonas* sp., de esta forma se determinaría, cuál de las concentraciones y productos evaluados podría inhibir el crecimiento de las posibles cepas de *Pseudomonas* sp. a cada una de estas se les midió el pH, cloro libre y conductividad eléctrica.

Posterior a esto se ejecutó la prueba de antibiograma, en donde se realizaron cinco pozos en cada una de las cajas de petri que contenía las posibles cepas de *Pseudomonas* sp. teniendo en cuenta las soluciones anteriormente preparadas se tomaron 50 microlitros de cada una y se depositaron en los diferentes pozos, se tuvo en cuenta un control positivo con glutaraldehído y un control negativo con agua destilada, se llevaron a incubación a 30°C por 72 horas, se tomaron lecturas de posibles halos de inhibición a las 24, 48 y 72 con ayuda de un pie de rey para tener medidas exactas, luego estos datos fueron registrados en una hoja en excel.

4.1. Primera fase y segunda fase

4.1.1. Análisis microbiológicos

4.1.1.1. Recuperación de la cepa conservada

Las posibles cepas de *Pseudomonas* sp. fueron aisladas de flores de *Gerbera* sp. las cuales se encontraban conservadas en glicerol al 70% en tubos eppendorf, estos se mantuvieron en congelación en el laboratorio de eficacia de la empresa, con el fin de preservar su viabilidad y minimizar posibles modificaciones.

A partir de esta conservación se tomó 0,1 ml y se agregó en la caja de petri con agar King B, con ayuda de un rastrillo se esparció por toda la caja y se incubó a 30°C por 12 horas seguido se realizaron pruebas preliminares (prueba de la catalasa, tinción de Gram y fluorescencia) según los resultados obtenidos catalasa positivo,

bacilos cortos Gram negativos y fluorescencia positiva la posible cepa de *Pseudomonas* sp. de esta manera se realizó la recuperación de la posible cepa.

4.1.1.2. Elaboración del cultivo microbiano

La preparación del cultivo microbiano se realizó para aumentar la cantidad de biomasa, a partir de la conservación de las posibles cepas de *Pseudomonas* sp, se tomó 0,1 ml y se sembró en cajas de petri que contenían agar King B, esto con ayuda de una micropipeta p200 y con una asa de *hockey* se rasó en toda la caja, se incubó por 37°C por 12 horas, pasado el tiempo de incubación se realizó prueba de fluorescencia, prueba de catalasa y tinción de Gram, seguido de la confirmación de las posibles cepas, se tomó 1 ml de agua destilada y se le agregó a la cepa se mezcló homogéneamente de esta manera se obtuvo el cultivo microbiano.

4.1.2. Confirmación de la cepa

4.1.2.1. Prueba catalasa

1. A partir de las posibles cepas de *Pseudomonas* sp. se transfirió a un portaobjeto limpio una colonia
2. Colocar una gota de peróxido de hidrógeno sobre un portaobjetos con ayuda de un gotero
3. Detecte la formación de burbujas
4. Si se presentan burbujas el microorganismo posee la enzima catalasa la cual la presentan las bacterias aerobias, estas descomponen el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, por lo tanto el desprendimiento de burbujas procedentes del oxígeno indica que la prueba es positiva, si no será negativa.

4.1.2.2. Tinción de Gram

A partir de las posibles cepas de *Pseudomonas* sp. conservadas, se realizaron repiques en agar King B, a partir de las colonias con crecimiento característico se procedió a realizar un frotis bacteriano, en el cual se tienen en cuenta una serie de pasos:

1. Con la ayuda de un mechero, se flameó un asa bacteriológica hasta el rojo vivo y esperar a que enfríe un poco.
2. Se tomó con el asa una gota de agua estéril y agregarla en un portaobjetos.
3. Se flameó nuevamente el asa y esperar a que enfríe.
4. Se tomó con el asa una colonia bacteriana aislada.
5. Después se agregó una colonia en la gota de agua que está en el portaobjetos y homogeneizar suavemente con movimientos circulares.
6. Se esperó que se seque al aire libre o poner durante uno o dos segundos con la llama de un mechero para fijar la muestra, teniendo en cuenta que el calor

no debe ser directo (sólo se pasa por la llama), puesto que el calor excesivo puede cambiar la morfología celular de las bacterias a observar.

7. Se agrego cristal violeta solo el suficiente para que se cubra el extendido bacteriano, el cual se dejo actuar por 50 segundos (enjuagar con agua destilada, de manera que se retire el exceso de colorante que quede en la placa)
8. Se agrego lugol y se dejo actuar durante 60 segundos. (Enjuagar con agua destilada la placa para retirar el exceso del colorante)
9. Se agrego una gota de alcohol-acetona dejar actuar por 45 segundo. (Enjuagar con agua destilada)
10. Se agrego Safranina, en la placa y se dejo actuar durante 60 segundos. (Enjuagar con agua destilada para retirar el exceso del colorante)
11. Se observo al microscopio con objetivos de 4X, 10X, 40X y 100X este último con aceite de inmersión.

4.1.2.3. Descripción morfológica

Después de haber fijado la colonia a la placa se observo en el microscopio en los objetivos de 4X, 10X, 40X y 100X este último objetivo se utilizó con ayuda del aceite de inmersión, donde se observaron bacilos cortos Gram negativos.

4.1.2.4. Medio de cultivo

Para dicha evaluación se utilizó el agar King B el cual fue preparado en el laboratorio de microbiología de la empresa, donde se tomaron 5 gramos del medio King B en 500 ml de agua destilada y 10 ml de glicerol, luego se mezcló y se llevó a calentamiento hasta ebullición, posteriormente se autoclavo y por último se sirvió en cajas de petri, las cuales fueron llevadas a incubación por 5 días antes de su utilización, esto para confirmar que el medio no se contamina al momento de la preparación.

Este medio utilizado para la detección y diferenciación de *Pseudomonas aeruginosa* de otras *Pseudomonas* basado en la producción de fluoresceína. (Anexo 1)

En el medio de cultivo, la tripteína y la peptona de carne aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, la glicerina favorece la producción de pigmentos, la concentración de fosfatos estimula la producción de fluoresceína e inhibe la producción de piocianina y piorrubina.

El sulfato de magnesio provee los cationes necesarios que incrementan la producción de fluoresceína y el agar es el agente solidificante

Para la preparación de dicho medio se pesó la cantidad 5 gramos en agua destilada y se le añadió 5ml de glicerol, se autoclave a 121°C 15 psi durante 15 minutos se mezcló y se vertió en las placas de cultivo (15 – 20 ml en cada placa), se dejó solidificar y se llevaron a incubación.

4.1.2.5. Preparación de las soluciones (productos)

Se seleccionaron tres productos los cuales en su composición presentaban un porcentaje de cloro, teniendo en cuenta, estos serían probados frente al microorganismo determinado (*Pseudomonas* sp.). por tal motivo se trabajaron 5 soluciones de cada uno de los productos, es decir 5 concentraciones que se implementaron para ser probadas en las posibles cepas de *Pseudomonas* sp. de esta manera se determinaría la concentración optima para producir la inhibición de las posibles cepas.

- Florissima 225[®]: Se tomaron 100 ml de agua destilada, se pesaron 0,2 gr - 0,8 gr - 1,0 gr - 2,0 gr y 4,0 gr respectivamente de Florissima 225[®], posteriormente, se midieron parámetros de pH, cloro libre y conductividad eléctrica a cada una de las concentraciones que se preparó.
- Hipoclorito de calcio: Se tomaron 100 ml de agua destilada, se pesaron 0,5 ppm – 1.0 ppm - 1,5 ppm- 2,0 ppm y 2.5 ppm respectivamente de hipoclorito de calcio, posteriormente, se midieron parámetros de pH, cloro libre y conductividad eléctrica a cada una de las concentraciones que se preparó
- hipoclorito de sodio: Se tomaron 100 ml de agua destilada, se pesaron 0,5 ppm – 1.0 ppm - 1,5 ppm- 2,0 ppm y 2.5 ppm respectivamente de hipoclorito de sodio, posteriormente, se midieron parámetros de pH, cloro libre y conductividad eléctrica a cada una de las concentraciones que se preparó
- Glutaraldehido: Se tomaron 10ml de glutaraldehido en 500ml de agua destilada. Este producto fue implementado como control positivo.
- Agua destilada: Setomaron 100 ml de agua destilada. Este se implementó como control negativo.

Tabla 1. Tratamientos a evaluar de Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio sobre posible *Pseudomonas sp.* (Primera fase)

TTO	Producto	Ingrediente activo	Concentración	Dosis
T0	Agua destilada	-----	-----	20 µl
T1	Producto Florissima 225 [®]	Oxícloruro de Calcio	0,2g/l	0,02 gr
T2	Producto Florissima 225 [®]	Oxícloruro de Calcio	0,8g/l	0,08 gr
T3	Producto Florissima 225 [®]	Oxícloruro de Calcio	1g/l	0,1 gr
T4	Producto Florissima 225 [®]	Oxícloruro de Calcio	2g/l	0,2 gr
T5	Producto Florissima 225 [®]	Oxícloruro de Calcio	4g/l	0,4 gr
T6	Hipoclorito de Calcio	65% cloro activo	0,5ppm	0,01 mg
T7	Hipoclorito de Calcio	65% cloro activo	1,0ppm	0,02 mg
T8	Hipoclorito de Calcio	65% cloro activo	1,5ppm	0,03 mg
T9	Hipoclorito de Calcio	65% cloro activo	2,0ppm	0,04 mg
T10	Hipoclorito de Calcio	65% cloro activo	2,5ppm	0,05 mg
T11	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	0,5ppm	3,7037 µl
T12	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	1,0ppm	7,4074 µl
T13	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	1,5ppm	11 µl
T14	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	2,0ppm	14,8 µl
T15	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	2,5ppm	18 µl

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Nota: Cada tratamiento se implementará para las 2 posibles cepas de *Pseudomonas sp.* aisladas a partir de flores de *Gerbera sp.* variedad **Carmina** y **Fiorella** en el laboratorio la esmeralda.

Tabla 2. Tratamientos a evaluar de hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio sobre posibles cepas de *Pseudomonas sp.* (Segunda fase)

TTO	Producto	Ingrediente activo	Concentración	Dosis
T1	Hipoclorito de calcio	65% cloro activo	1,5ppm	0,01 mg
T2	Hipoclorito de calcio	65% cloro activo	2,0ppm	0,02 mg
T3	Hipoclorito de calcio	65% cloro activo	2,5ppm	0,03 mg
T4	Hipoclorito de calcio	65% cloro activo	3,0ppm	0,04 mg
T5	Hipoclorito de calcio	65% cloro activo	3,5ppm	0,05 mg
T6	Hipoclorito de calcio	Acido hipocloroso	4,0ppm	3,7037 µl
T7	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	1,5ppm	3,7037 µl
T8	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	2,0ppm	14,8 µl
T9	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	2,5ppm	18 µl
T10	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	3,0ppm	22 µl
T11	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	3,5ppm	24 µl
T12	Hipoclorito de sodio	Acido hipocloroso	4,0ppm	26 µl

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Nota: Cada tratamiento se implementará para las 2 dos posibles cepas de *Pseudomonas sp.* aisladas a partir de flores de Gerbera **sp.** en el laboratorio la esmeralda.

4.1.3. Análisis fisicoquímico

Esta prueba se le realizó con agua destilada inicialmente mezclada con cada uno de los productos a evaluar, (Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio). Conductividad eléctrica, pH y cloro libre.

4.1.3.1. pH

Se evaluaron 100 mL de agua de cada tratamiento, Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio con las que se realizó la prueba de antibiograma. Esto se midió con ayuda de una sonda multiparametrica marca Hanna.

Para la realización de esta prueba se lavó el electrodo de la sonda multiparametrica con agua destilada, seguido se llevó al beaker donde teníamos la muestra a evaluar, se midió el pH se esperó unos minutos a que se estabilizara, para poder tomar la lectura y por último se retiró el electrodo y se lavó.

4.1.3.2. Cloro libre

Se tomarán 10 ml de las muestras de los diferentes tratamientos (oxicloruro de calcio, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio), el cloro se midió con ayuda del kit de cloro libre marca Hanna Checker Hi 700.

Para la realización de esta prueba se lavó el kit de cloro libre con agua destilada, seguido se tomaron 10 ml de la muestra preparada y se le agrego el indicador de la prueba se esperó unos minutos a que se estabilizara el equipo, para poder tomar la lectura y por último se registró el dato y se descartó la muestra utilizada. Debido a que el equipo mide un máximo de 2.5 ppm, los tratamientos que tuvieran una concentración de cloro de 2.5 ppm se realizó una dilución con el fin de conocer la concentración real.

4.1.4. Antibiograma

4.1.4.1. Siembra de las soluciones preparadas

Se tomó una de las cajas donde se sembraron las posibles cepas de *Pseudomonas sp.*, se tomó una punta de 1000 microlitros y se realizaron 5 pozos en la caja, luego se tomaron 50 microlitros de las soluciones anteriormente preparadas (Florissima

225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) y se transfirieron en cada pozo realizado, se llevó a incubación a 37°C durante 3 días.

4.2. MATERIALES

4.2.1. Material vegetal

Cultivo: flores de *Gerbera sp.*

4.2.2. Producto y/o variedades

Se realizó un aislamiento de las posibles cepas de *Pseudomonas sp.* a partir de flores de *Gerbera sp.*, las cuales fueron conservadas en el laboratorio de prueba de eficacia, el producto con el cual se trabajará en el ensayo es la Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio.

4.2.3. Origen del material

Las posibles cepas de *Pseudomonas sp.* fueron aisladas del cultivo de flores de *Gerbera sp.*, se realizó en el laboratorio de pruebas de Eficacia, lugar donde se llevó a cabo la prueba de antibiograma, además de la conservación de las posibles cepas de *Pseudomona sp.* En el laboratorio de eficacia fue donde se realizaron pruebas de eficacia de hongos donde se prueban varios productos sobre los distintos hongos que se encuentran en las flores (*Botryitys sp*, *Aspergillus sp*, *Fusarium sp*), para realizar controles biológicos los cuales son probados en los cultivos de la compañía.

4.3. **Calculo para el porcentaje de halos de inhibición**

18mm-----100%
X mm-----% de inhibición

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{X \text{ mm} * 100\%}{18 \text{ mm}}$$

Se realizó la medición de los halos de inhibición con ayuda de un pie de rey para obtener de esta manera medias exactas, los datos arrojados fueron en milímetros y se tomó de referencia 18 mm de diámetro teóricamente que equivale a un 100% de inhibición y X mm que es el resultado práctico esperado en la prueba, estos halos se midieron a las 24 - 48 y 72 horas de incubación.

4.4. Análisis estadístico

Análisis descriptivo de tablas y gráficas, donde se observa el comportamiento del cloro frente a posibles cepas de ***Pseudomonas sp.*** aislada de flores de ***Gerbera sp.*** frente a cada uno de los productos.

Se realizó un análisis estadístico donde se halló el promedio, la desviación estándar y la varianza de dos repeticiones por cada tratamiento (**Florissima 225, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio**).

5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Tabla 3. Cronograma de actividades

Actividad	Semana	Meses																		
		Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio		
		5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
Inducción a la empresa	x																			
Inducción al laboratorio de Microbiología		x																		
Asignación de evaluación de posibles cepas de <i>Pseudomonas sp.</i>			x																	
Preparación de material para la recuperación de la cepa			x				x													
Realizar pruebas catalasa, fluorescencia y tinción Gram				x			x					x								
Evaluación de variables microbiológicas y fisicoquímica					x					x		x		x		x		x		
Análisis de resultados, realización de informe, entrega de informe y discusión de resultados.								x	x		x	x			x	x			x	

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

6.1. Primera fase y segunda fase

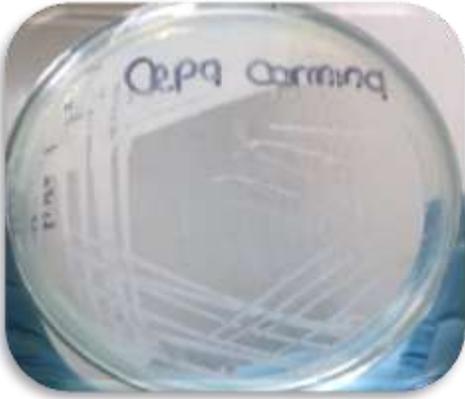
Para el desarrollo de la evaluación se realizó una recuperación de posibles cepas de *Pseudomonas* sp. aisladas de flores de *Gerbera* sp.

6.1.1. Recuperación de posibles cepas de *Pseudomonas* sp.

El medio empleado para el aislamiento fue King B, en el cual las colonias presuntivas presentaron crecimiento característico. (Ver tabla 4)

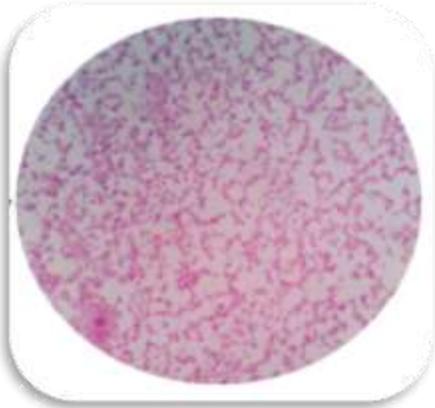
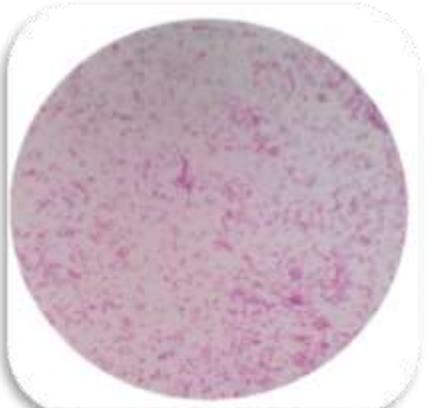
6.1.2. Recuperación de las posibles cepas de *Pseudomonas* sp aislada de flores *Gerbera* sp.

Tabla 4. Descripción posibles cepas de *Pseudomonas* sp. aisladas de flores de *Gerbera* sp

Posibles cepas de <i>Pseudomonas</i> sp.	
	
<ul style="list-style-type: none">• Colonias blancas• Borde entero• Pequeñas• Planas	<ul style="list-style-type: none">• Colonias crema, verdosas• Borde entero• Medianas• Convexas

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Tabla 5. Descripción microscópica para las posibles cepas de *Pseudomonas sp.* aislada de flores de *Gerbera sp.*

tinción de Gram cepa 1	tinción de Gram cepa 2
	
<ul style="list-style-type: none"> • Bacilos cortos • Gram negativos • Morfología homogénea • Objetivo 100X 	

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Tabla 6. Prueba de fluorescencia para las posibles cepas de *Pseudomonas sp.*

prueba fluorescencia cepa 1	prueba fluorescencia cepa 2
	
<p>Prueba de fluorescencia en donde la caja donde se sospecha el crecimiento de la posible cepa de <i>Pseudomonas sp.</i> se expone a luz U.V en donde se observa un pigmento de color azul verdoso fluorescente que rodea la colonia.</p>	

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Tabla 7. Prueba de catalasa para las posibles cepas de *Pseudomonas sp*



Prueba catalasa positiva para las posibles cepas de *Pseudomonas sp.* aisladas de flor de *Gerbera sp.*, donde se pone de manifiesto la presencia de la enzima catalasa, la cual es capaz de descomponer el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) en agua y oxígeno, con la consiguiente aparición de burbujas.

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Tabla 8. Datos de pH y cloro libre de cada una de las soluciones (primera fase).

Producto	Tratamiento	pH	Cloro libre
T1 = Florissima 225 [®] (0,2 gr/l)	T1	4,3	0
T2 = Florissima 225 [®] (0,8 gr/l)	T2	4	0,02
T3 = Florissima 225 [®] (1 gr/l)	T3	4,2	0,11
T4 = Florissima 225 [®] (2 gr/l)	T4	4,3	0,3
T5 = Florissima 225 [®] (4 gr/l)	T5	4,1	0,85
T6 = Hipoclorito de calcio (0,5 ppm)	T6	8,9	1,81
T7 = Hipoclorito de calcio (1 ppm)	T7	8,9	8,4
T8 = Hipoclorito de calcio (1,5 ppm)	T8	9	22
T9 = Hipoclorito de calcio (2,0 ppm)	T9	9	27
T10 = Hipoclorito de calcio (2,5 ppm)	T10	9,1	35
T11 = Hipoclorito de sodio (0,5 ppm)	T11	7,2	0,7
T12 = Hipoclorito de sodio (1,0 ppm)	T12	7,8	1
T13 = Hipoclorito de sodio (1,5 ppm)	T13	8,1	1,41
T14 = Hipoclorito de sodio (2,0 ppm)	T14	8,2	1,86
T15 = Hipoclorito de sodio (2,5 ppm)	T15	8,6	2,43

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

En la tabla 8 se presentan cada una de las soluciones preparadas (Florissima 225, Hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio), en la cual se puede observar el comportamiento del pH y el cloro.

Tabla 9. Datos de pH y cloro libre de cada una de las soluciones (segunda fase).

Tratamiento	Producto	Dosis	pH	Cloro libre
T1	Hipoclorito de calcio	1,5 ppm	7,5	2,17
T2	Hipoclorito de calcio	2,0 ppm	7,9	2,21
T3	Hipoclorito de calcio	2,5 ppm	7,9	2,31
T4	Hipoclorito de calcio	3,0 ppm	8,1	0,51
T5	Hipoclorito de calcio	3,5 ppm	8,2	0,61
T6	Hipoclorito de calcio	4,0 ppm	8,3	0,68
T7	Hipoclorito de sodio	1,5 ppm	8	1
T8	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm	8,2	1,18
T9	Hipoclorito de sodio	2,5 ppm	8,2	1,21
T10	Hipoclorito de sodio	3,0 ppm	8,1	1,35
T11	Hipoclorito de sodio	3,5 ppm	8,1	1,43
T12	Hipoclorito de sodio	4,0 ppm	8,2	1,55

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

En la tabla 9 se presentan los datos de las dos soluciones trabajadas (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio), en esta parte se descartó la Florissima 225 debido a que manejaba un pH muy bajo y no se observó efecto sobre las posibles ***Pseudomonas sp*** aisladas de flores de ***Gerbera sp.*** por tal motivo se realizó un ajuste en el pH.

Tabla 10. Datos halos de inhibición en flores de *Gerbera sp.* de cada uno de los tratamientos (Florissima 225®, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a las 24, 48 y 72 horas de con los productos evaluados (primera fase)

PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EVALUADOS POR VARIEDAD				
TRATAMIENTO	PRODUCTO	DOSIS	% INHIBICIÓN VARIEDAD CARMINA	% INHIBICIÓN VARIEDAD FIORELLA
T1	Florissima 225®	0,02gr	0	0
T2	Florissima 225®	0,08gr	0	0
T3	Florissima 225®	0,1gr	0	0
T4	Florissima 225®	0,2gr	0	0
T5	Florissima 225®	0,4gr	0	0
T6	Hipoclorito de Calcio	0,05mg	0	0
T7	Hipoclorito de Calcio	0,1mg	0	0
T8	Hipoclorito de Calcio	0,15mg	0	0
T9	Hipoclorito de Calcio	0,2mg	0	0
T10	Hipoclorito de Calcio	0,25mg	0	0
T11	Hipoclorito de sodio	3,70µL	0	0
T12	Hipoclorito de sodio	7,40 µL	0	0
T13	Hipoclorito de sodio	11 µL	0	5,55
T14	Hipoclorito de sodio	14,8 µL	0	5,55
T15	Hipoclorito de sodio	18 µL	0	5,55

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

En la presente tabla se observan los tratamientos (Florissima 225®, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) en donde posiblemente se encontraron halos de inhibición (ver anexo 10.1), los cuales fueron encontrados en el producto de hipoclorito de sodio donde obtuvieron rangos de pH entre 7,5 y 8,0 con dosis de 11 microlitros, 14,8 microlitros y 18 microlitros obteniéndose halos de inhibición de un 6 % correspondientes a un 1 % representando un 100% 18 mm.

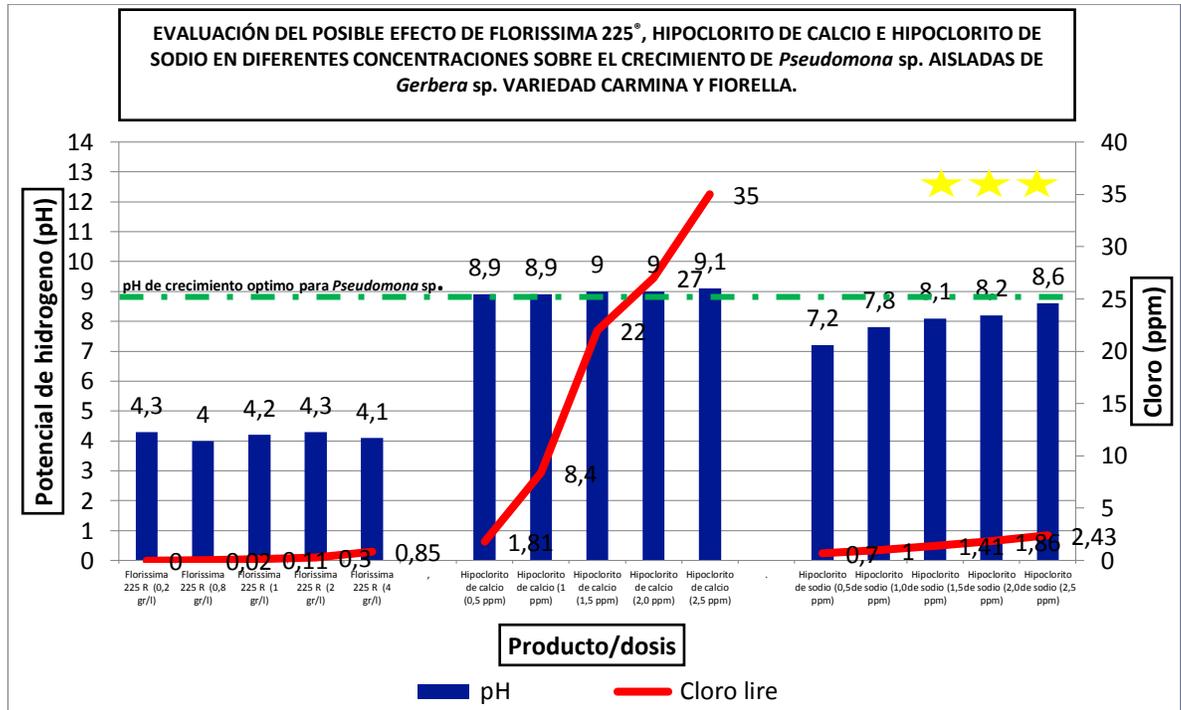
Tabla 11. Datos halos de inhibición en flores de *Gerbera* sp. de cada uno de los tratamientos (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a las 24, 48 y 72 horas de con los productos evaluados (segunda fase)

RESULTADOS DE PRUEBA DE ANTIBIOGRAMA PARA LA VARIEDAD CARMINA Y FIORELLA				
TRATAMIENTO	PRODUCTO	CONCENTRACIÓ N (ppm)	% INHIBICIÓ N VARIEDAD CARMINA	% INHIBICIÓ N VARIEDAD FIORELLA
T1	Hipoclorito de Calcio	1,5	0	0
T2	Hipoclorito de Calcio	2,0	0	5
T3	Hipoclorito de Calcio	2,5	0	0
T4	Hipoclorito de Calcio	3,0	6	0
T5	Hipoclorito de Calcio	3,5	0	0
T6	Hipoclorito de calcio	4,0	0	6
T7	Hipoclorito de sodio	1,5	0	0
T8	Hipoclorito de sodio	2,0	6	6
T9	Hipoclorito de sodio	2,5	0	0
T10	Hipoclorito de sodio	3,0	6	6
T11	Hipoclorito de sodio	3,5		0
T12	Hipoclorito de sodio	4,0		0

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

En la presente tabla se observan los tratamientos en donde posiblemente se encontraron halos de inhibición (ver anexo 10.2) los cuales fueron encontrados en el producto de hipoclorito de sodio donde obtuvieron rangos de pH entre 7,5 y 8,0 con dosis de 11 microlitros, 14,8 microlitros y 18 microlitros obteniéndose halos de inhibición de un 6 % correspondientes a un 1 % representando un 100% 18 mm.

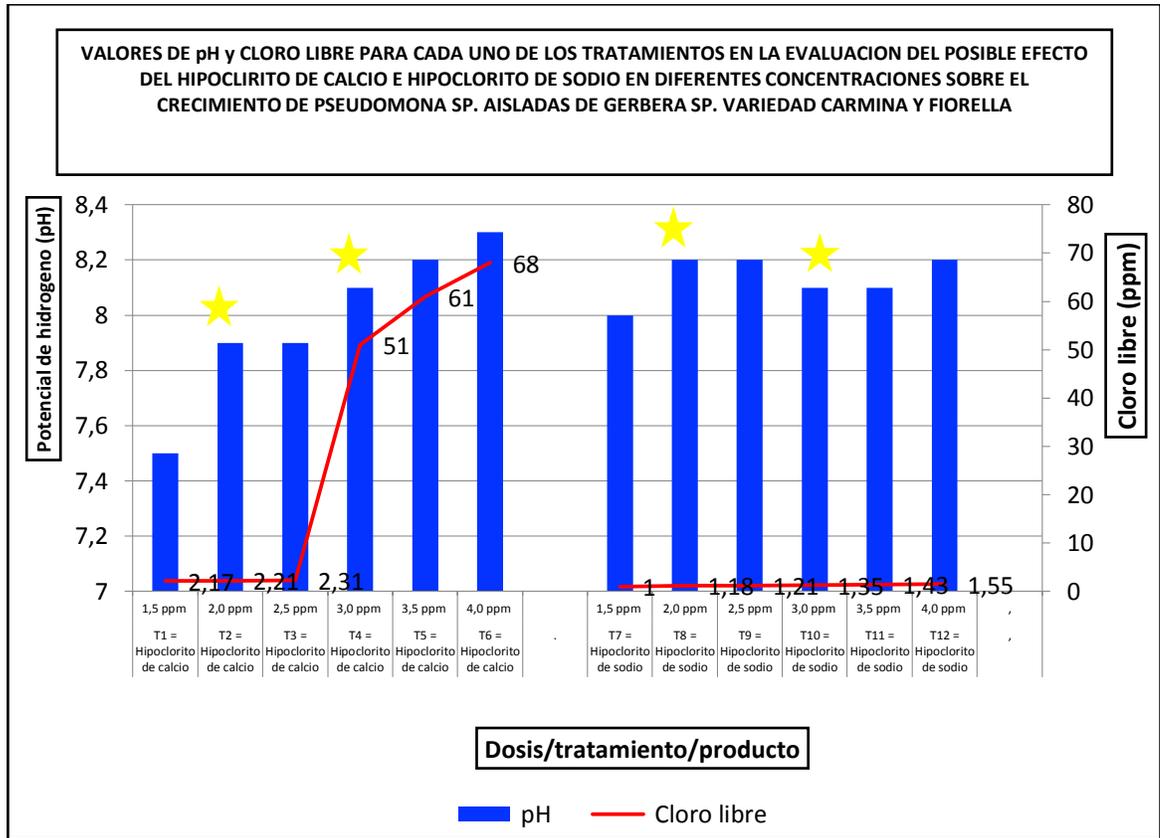
Grafica 1. Valores de pH y cloro libre para cada uno de los tratamientos (Florissima 225®, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a evaluar



Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

En el presente gráfico representa el comportamiento del pH vs el cloro libre presente en cada una de los tratamientos que se evaluaron, en esta se detalla que el rango óptimo de crecimiento de *Pseudomona sp.* es de 9, en el cual se encontró el pH para el hipoclorito de calcio, haciendo la relación no se observaría acción contra el microorganismo ya que manejan el mismo pH en el cual ella crece, mientras que en el hipoclorito de sodio el pH es un poco más bajo y es donde se reflejan los posibles halos de inhibición que está representado con las estrellas amarillas. Las barras azules representan el pH y las líneas rojas representan el cloro libre obtenido de cada tratamiento.

Grafica 2. Valores de pH y cloro libre para cada uno de los tratamientos (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a evaluar



Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

En la presente gráfica se observan de color azul la representación del pH y las líneas de color rojo el cloro libre, en la que se analiza la relación de pH y cloro libre en cada uno de los tratamientos, las estrellas amarilla representan los tratamientos donde se observaron los posibles halos de inhibición.

Tabla 12. Datos halos de inhibición obtenidos en el ensayo realizado con flores de *Gerbera sp* de cada uno de los tratamientos (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a las 24, 48 y 72 horas de con los productos evaluados donde se observan los halos de inhibición teóricos Vs valores prácticos

TTO	Producto	Dosis	Hora lecturas	Diámetro de inhibición práctico (mm)	Diámetro de inhibición teórico (mm)	% Inhibición práctico	% inhibición teórico
T13	Hipoclorito de sodio	1,5 ppm	24	1	18	6	100
T14	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm		1		6	
T15	Hipoclorito de sodio	2,5 ppm		1		6	
T13	Hipoclorito de sodio	1,5 ppm	48	1	18	6	100
T14	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm		1		6	
T15	Hipoclorito de sodio	2,5 ppm		1		6	
T13	Hipoclorito de sodio	1,5 ppm	72	1	18	6	100
T14	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm		1		6	
T15	Hipoclorito de sodio	2,5 ppm		1		6	

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

En la presente tabla se pueden analizar cada uno de los halos de inhibición teóricos frente a los prácticos obtenidos en el ensayo, donde encontramos que el porcentaje de inhibición obtenido es muy bajo frente a los teóricos, teniendo como referencia que un 100% corresponde a 18 mm de diámetro.

Tabla 13. Datos halos de inhibición en flores de *Gerbera* sp. de cada uno de los tratamientos (hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) a las 24, 48 y 72 horas de con los productos evaluados. (Segunda fase)

TTO	Producto	Dosis	Hora lecturas	Diámetro de inhibición practico (mm)	Diámetro de inhibición teórico (mm)	% Inhibición practico	% inhibición teórico
T8	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm	24	1,0	18	6	100
T10	Hipoclorito de sodio	3,0 ppm	48	1	18	6	100
T8	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm		1,2	18	7	100
T10	Hipoclorito de sodio	3,0 ppm		1,2	18	7	100
T8	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm		72	1,2	18	7
T10	Hipoclorito de sodio	3,0 ppm	1,2		18	7	100
T2	Hipoclorito de calcio	2,0 ppm	0,9		18	5	100
T8	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm	24	1	18	6	100
T8	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm	48	1,2	18	6	100
T10	Hipoclorito de sodio	3,0 ppm		1,2	18	6	100
T8	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm		1,2	18	6	100
T10	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm	72	1,3	18	7	100
T4	Hipoclorito de sodio	3,0 ppm		1,3	18	7	100

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

En la presente tabla se pueden analizar cada uno de los halos de inhibición teóricos frente a los prácticos obtenidos en el ensayo, donde encontramos que el porcentaje de inhibición obtenido es muy bajo frente a los teóricos, teniendo como referencia que un 100% corresponde a 18 mm de diámetro.

Los resultados obtenidos a través de este ensayo experimental se examinaron por medio de un análisis descriptivo de tablas y gráficas, donde se observa el comportamiento del cloro frente a posibles cepas de *Pseudomonas sp.* aislada de flores de *Gerbera sp.* frente a cada uno de los productos y concentraciones evaluadas, y de esta manera establecer el comportamiento de esto sobre el microorganismo.

En la gráfica 1, se esquematizan los rangos de pH y cloro libre obtenidos para cada uno de los productos analizados (Florissima 225[®] hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio), observando que el tratamiento que generó un posible efecto sobre las posibles cepas de *Pseudomonas sp.* aislada de flores de *Gerbera sp.* fue el hipoclorito de sodio, representado en la gráfica con estrellas amarillas, se observa el comportamiento de las posibles cepas de *Pseudomonas sp.* puede estar relacionado con el pH, ya que este puede estar relacionado con la efectividad del cloro, esto debido a que al momento de realizar la mezcla del producto con el agua el pH desciende o aumenta, por lo que se ve favorecida la formación ácido hipocloroso a partir de cloro molecular, el equilibrio se desplaza hacia la formación de ácido hipocloroso cuando el pH es superior a 4.0. sin embargo, cuanto mayor es el pH de la solución de 9, el ácido hipocloroso tiende a ionizarse y el equilibrio de la reacción se desplaza hacia la formación del ion hipoclorito, cuyo potencial Redox es menor (Reud, M 2012) y la acción germicida es mucho más lenta que la del ácido hipocloroso, por tal motivo no se observó efecto alguno en la Florissima 225[®], y el hipoclorito de calcio a pesar de ser el producto que manejo concentraciones de cloro mayor no presento resultados frente a *Pseudomonas sp.*, una posible causa fue el manejo del pH el cual se encontraba en un rango de 9,0 debido a que las tendencias de pH en estos dos productos fueron de 4,0 y 9,0, se llegó a la conclusión de realizar una segunda fase en cual se regulara el pH ya que es una variable que al controlarla podría arrojar resultados positivos. Medición de cloro en el agua; organización mundial de la salud; 2004), cabe resaltar que el pH donde se logró apreciar un efecto muy leve es en un rango de pH de 8,0.

A partir de los anterior se llevó a cabo una segunda fase, donde se descartó la Florissima 225[®] por el manejo del pH, el cual se encontró en 4,0, debido a esto se trabajó con el hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio, realizando un cambio en las concentraciones anteriormente evaluadas, en esta se pretendía tener un manejo o control del pH para el producto de hipoclorito de calcio y determinar si controlando este parámetro se obtenía un mayor control en comparación con el hipoclorito de sodio.

Los resultados obtenidos en la segunda fase de la evaluación se encuentran plasmados en la gráfica 3, donde encontramos un pequeño halo de inhibición a concentraciones de 2,0 ppm y 3,0 ppm en los tratamientos de hipoclorito de sodio e hipoclorito de calcio, afirmándose la teoría de que al regular el pH en el hipoclorito de calcio se encontró un mínimo efecto, cabe resaltar que las *Pseudomonas sp.* han adquirido resistencia gracias a la membrana externa ya que presenta diferencias en la composición del lipopolisacárido (LPS) y el contenido de cationes como el

magnesio, que produce enlaces estables entre moléculas de LPS y como complemento a este mecanismo, esta bacteria presenta pequeñas porinas que impiden el paso por difusión de ciertas sustancias. La presencia de un LPS menos ácido en la membrana externa puede ser un factor que contribuye a la resistencia intrínseca. (Montoya Hugo, 2008)

En *Pseudomonas aeruginosa* se han detectado dos porinas, la proteína F que funciona el transporte de fosfato y la proteína P cuya función como poro de difusión es pobre. La proteína F existen evidencias de que esta proteína forma dos tipos de poros, los canales pequeños que son los más abundantes, y los canales pequeños escasos. Debido a esta característica no es posible la entrada de antibióticos por lo que se explica la alta resistencia de este microorganismo a los antibióticos y desinfectantes. Utilizan una porina específica llamada OprD. La OprD puede cerrarse durante la terapia con antibióticos y desinfectantes, lo que lleva a una resistencia (Montoya H. 2008)

En la tabla 14, se observan los resultados correspondientes al porcentaje de inhibición de cada uno de los productos evaluados frente a ***Pseudomonas sp.***, estos resultados indican que las diferentes concentraciones del hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio, no presentaron efecto de inhibición de ***Pseudomonas sp.*** la interpretación de esta es la resistencia al cloro, así como a las diferentes concentraciones trabajadas en cada producto evaluado.

En la tabla 17, representa la segunda fase de la evaluación donde se observan los resultados correspondientes al porcentaje de inhibición de cada uno de los tratamientos evaluados, donde se encuentra que a resistencia de dicho microorganismo a los productos evaluados se mantiene.

Por tal motivo ***Pseudomonas sp.*** presento resistencia con cada uno de los tratamientos evaluados tanto en la primera fase como en la segunda fase de la evaluación, a pesar de que cada uno de los productos son a base de cloro no hizo ningún efecto sobre la pared celular del microorganismo, por tal motivo se recomienda implementar nuevas dosis o productos diferentes a los cuales este microorganismo presente alguna sensibilidad. Por lo que según literatura se recomienda que dicho microorganismo se trabaje con compuestos que contengan peróxido de hidrogeno ya que posiblemente este es sensible al peróxido de hidrogeno, debido a que este genera una perturbación de los componentes de la membrana celular. (Zaragoza R Y col. 2007).

Análisis estadísticos de los datos obtenidos en el antibiograma con las posibles cepas de ***Pseudomonas sp.*** aisladas de flores de ***Gerbera sp.*** estos son los datos que se obtuvieron al realizar el análisis en Excel.

Tabla 14. Análisis estadísticos de los datos obtenidos en el antibiograma (primera fase)

TTO	Producto	Dosis	Variedad	Halo de inhibición (xi)	xi-X	(xi-X) ²
T1	Producto Florissima 225®	0,2 gr/lit	Fiorella	0	-1,1	1,21
T2	Producto Florissima 225®	0,8 gr/lit	Fiorella	0	-1,1	1,21
T3	Producto Florissima 225®	1,0 gr/lit	Fiorella	0	-1,1	1,21
T4	Producto Florissima 225®	2,0 gr/lit	Fiorella	0	-1,1	1,21
T5	Producto Florissima 225®	4,0 gr/lit	Fiorella	0	-1,1	1,21
T6	Hipoclorito de calcio	0,5 ppm	Fiorella	0	-1,1	1,21
T7	Hipoclorito de calcio	1,0 ppm	Fiorella	0	-1,1	1,21
T8	Hipoclorito de calcio	1,5 ppm	Fiorella	0	-1,1	1,21
T9	Hipoclorito de calcio	2,0 ppm	Fiorella	0	-1,1	1,21
T10	Hipoclorito de calcio	2,5 ppm	Fiorella	0	-1,1	1,21
T11	Hipoclorito de sodio	0,5 ppm	Fiorella	0	-1,1	1,21
T12	Hipoclorito de sodio	1,0 ppm	Fiorella	0	-1,1	1,21
T13	Hipoclorito de sodio	1,5 ppm	Fiorella	5,5	4,4	19,36
T14	Hipoclorito de sodio	2,0 ppm	Fiorella	5,5	4,4	19,36
T15	Hipoclorito de sodio	2,5 ppm	Fiorella	5,5	4,4	19,36
			Numero de datos	15	Promedio	4,84
			Valor medio	1,1	Desviación	1,29354441
					Varianza	1,67325714

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Tabla 15. Análisis estadísticos de los datos obtenidos en el antibiograma (primera fase)

Producto	Dosis	Variedad	Halo de inhibición	xi-X	(xi-X)²
Hipoclorito de calcio	1,5 ppm	Fiorella	0	-1,916666667	3,673611111
Hipoclorito de calcio	2,0 ppm	Fiorella	5	3,083333333	9,506944444
Hipoclorito de calcio	2,5 ppm	Fiorella	0	-1,916666667	3,673611111
Hipoclorito de calcio	3,0 ppm	Fiorella	0	-1,916666667	3,673611111
Hipoclorito de calcio	3,5 ppm	Fiorella	0	-1,916666667	3,673611111
Hipoclorito de calcio	4,0 ppm	Fiorella	6	4,083333333	16,67361111
Hipoclorito de sodio	1,5 ppm	Fiorella	0	-1,916666667	3,673611111
Hipoclorito de sodio	2,0 ppm	Fiorella	6	4,083333333	16,67361111
Hipoclorito de sodio	2,5 ppm	Fiorella	0	-1,916666667	3,673611111
Hipoclorito de sodio	3,0 ppm	Fiorella	6	4,083333333	16,67361111
Hipoclorito de sodio	3,5 ppm	Fiorella	0	-1,916666667	3,673611111
Hipoclorito de sodio	4,0 ppm	Fiorella	0	-1,916666667	3,673611111
		Numero de datos	12	Promedio	7,409722222
		Valor medio	1,916666667	Desviación	2,23411531
				Varianza	4,991271219

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Según los datos obtenidos en la prueba de antibiograma la desviación estándar se encuentra alejada del promedio, es decir, que no hay homogeneidad entre los datos, indicando que hay dispersión por lo que se alejan los valores respecto al promedio en la distribución de los datos.

En los datos de la primera fase se obtuvo un promedio inferior a los de la segunda fase esto debido a que se obtuvieron menos halos de inhibición entre los tratamientos, mostrando se lo contrario en la segunda fase donde se encuentra

mayores halos de inhibición, a pesar de esto los datos se encuentra dispersos entre sí, por lo que los datos de la desviación estándar y el coeficiente de variación se encuentran más cercanos frente al promedio.

7. CONCLUSIONES

- Las concentraciones y producto evaluados en el ensayo no fueron representativos en la inhibición de las posibles cepas de ***Pseudomonas sp.*** aisladas de flores de ***Gerbera sp.*** tratadas con Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio
- Las posibles cepas de ***Pseudomonas sp.*** aisladas de flores de ***Gerbera sp.*** son resistentes a cada uno de las concentraciones trabajadas de los productos evaluados (Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio) debido a que no se observaron halos de inhibición.

8. RECOMENDACIONES

- Realizar la trazabilidad de la flor desde el momento que es cortada hasta llegar a la post-cosecha, en esta se deben hacer análisis microbiológicos al agua que es utilizada para la hidratación, a las soluciones de hidratación, las tinas en las cuales se hidrataran las flores además de realizar análisis a los floreros y al agua que se utilizará en la vida florero.
- Realizar un patrón MacFarland para saber exactamente la concentración bacteriana de *Pseudomonas* sp. que se implementa en la evaluación.
- Se debe trabajar con un control en este caso con el glutraldehido para observar el comportamiento de *Pseudomonas* sp.
- Se deben realizar nuevas pruebas donde se trabajen nuevos productos que penetren fácilmente en la membrana bacteriana de *Pseudomonas* sp.
- Trabajar concentraciones más altas para lograr un efecto inhibitorio de *Pseudomonas* sp.
- El tratamiento de corte y de procesamiento de la muestra se debe realizar con todas las medidas pertinentes de tal manera que se evite la contaminación cruzada
- Realizar un nuevo ensayo en el cual se manejen concentraciones de Florissima 225[®], hipoclorito de sodio e hipoclorito de calcio más altas debido a que *Pseudomonas* sp. posee una densa capa de polisacáridos la cual establece una barrera no solo física si no química capaz de proteger a la bacteria de las moléculas e iones de cloro residual.
- Controlar el pH ya que este juega un papel importante en la eliminación de *Pseudomonas* sp. se recomienda trabajar pH entre 7,0 y 8,5 ya que, a estas concentraciones esta es más sensible
- Realizar un nuevo ensayo en el cual se manejen concentraciones de oxiclورو de calcio, hipoclorito de sodio e hipoclorito de calcio más altas debido a que *Pseudomonas* sp. posee una densa capa de polisacáridos la cual establece una barrera no solo física si no química capaz de proteger a la bacteria de las moléculas e iones de cloro residual.
- Controlar el pH ya que este juega un papel importante en la eliminación de *Pseudomonas* sp. se recomienda trabajar pH entre 7,0 y 8,5 ya que a estas concentraciones esta es más sensible

9. BIBLIOGRAFÍA

- CÓRDOBA VALENCIA, Luz Karime; MOSQUERA VALENCIA, Ligia Lucia. 2008; Evaluación de la eficacia de un desinfectante de alto nivel, a base de peróxido de hidrogeno, empleado en la esterilización de dispositivos e instrumentos hospitalarios. Bogotá Colombia médica. Vol. 38 N 2: 149 - 158.
- DE LA CRUZ GUZMÁN, G; ARRIAGA FRÍAS, A; MANDUJANO PIÑA, M; ARIAS, J. B. 2007; Efecto de tres preservadores de la longevidad sobre la vida post-cosecha de Rosa cv. Royalty REVISTA CHAPINGO SERIE HORTICULTURA, vol. 13, núm., pp. 109-113 Universidad Autónoma Chapingo México. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1932/193217832008.pdf>.
- GONZÁLEZ CARDENAS, Andrea C. 2013; Intercambio de información en las cadenas de suministro internacionales. El caso de la cadena de suministro de flor fresca cortada colombiana para la exportación. Series Comercio Internacional CEPAL, p 78.
- GUEVARA LIZARAZO, Diana Carolina. 2014; Efecto de diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio como irrigante endodóntico sobre propiedades físicas de la dentina. Tesis o trabajo de investigación presentado a la Universidad Nacional de Colombia.
- HERNÁNDEZ, Annia; GARCÍA, Damarys; SOROA, María R y HERNÁNDEZ, Ana N. 2000; Estudio de algunos géneros bacterianos asociados a la rizosfera de los cultivos de gerbera (*Gerbera jamesonii*) y clavel (*Dianthus barbatus*, *Dianthus caryophyllus*) Cultivos Tropicales, vol. 21, núm. 3, pp. 15-18 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba.
- LORENZO, Gabriel; MASCARINI, Libertad; GONZALEZ, Mariel. 2017; Dosis de N sobre reflectancia espectral, contenido de clorofila y nutrientes en plantas de gerbera. Horticultura Brasileira 35:278-285. DOI - <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620170220>
- MANRÍQUEZ, Natalia y RAMÍREZ, Daniela. 2012; Floricultura colombiana en contexto: experiencias y oportunidades en Asia pacífico; vol. 3 No 5 (2014) disponible en: <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/map/article/view/2701>. (citado en 12 enero de 2014.)
- MONTOYA VILLAFAN, Hugo. 2008; Microbiología básica para el área de la salud y afines 2.ª edición Morfología y fisiología de las bacterias; Universidad de Antioquia, Marzo; p 43.
- CALDERÓN UMAÑA, Silvia; ORTEGA VINDAS, Jorge. 2009; Planificación nacional y política económica; área de modernización del estado; Guía para

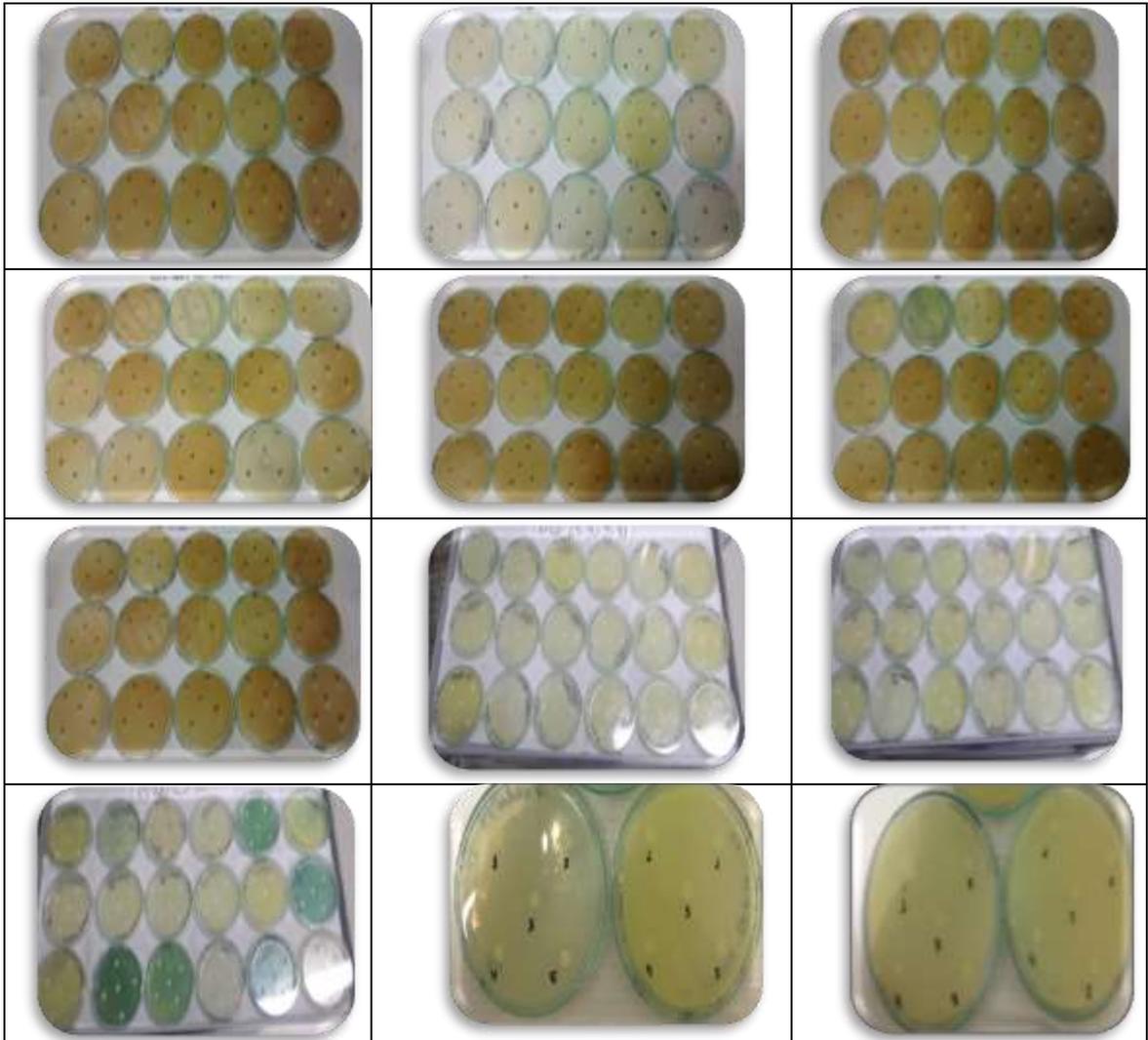
la elaboración de diagramas de flujo; Julio 2009 Norma DIN 66001:09. Disponible en: <https://documentos.mideplan.go.cr/alfresco/d/d/workspace/SpacesStore/6a88ebe4-da9f-4b6a-b366-425dd6371a97/guia-elaboracion-diagramas-flujo-2009.pdf>.

- RAKESH, Kumar y SAURABH, Sharman. 2012; Evaluación de varias variedades de *Rosa damascena* y la adhesión de *Rosa bourboniana* al contenido y composición del aceite esencial en el Himalaya occidental. Recibido 29 Sep 2012, Aceptado 06 Jul 2013, Publicado en línea: 12 Aug 2013 Pág. 147-152. Disponible en <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2013.829004>
- REED, Bob. 2004; Medición de cloro en el agua; organización mundial de la salud. Disponible en: <http://www.disaster-info.net/Agua/pdf/11-CloroResidual.pdf>
- REID S, Michael. 2012; Recomendaciones para mantener la calidad post-cosecha; Department of Environmental Horticulture; University of California, Davis, CA 95616; Gerbera.; disponible en: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/Producefacts/espanol/ProduceFacts-espanol.shtml#ornamentals>
- REQUENA, José. 1991; La post-cosecha de flor cortada; utilización de soluciones de conservación; Perito Industrial Químico; p13-17
- RODRÍGUEZ LÓPEZ, Carmen. 2014; clorosis en hojas y tallo de *alstroemeria* sp. en post-cosecha; institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas, montecillo, México
- SÁNCHEZ SALDAÑA, Leonardo. 2005; SÁENZ ANDUAGA, Eliana; Los agentes catiónicos muestran pH alcalinos (Antisépticos y desinfectantes). Dermatología Peruana; Vol. 15: No 82-2
- SANTACRUZ CRUZ, Ana Cristina. 2008; Efecto de tres tiempos de refrigeración y tres soluciones hidratantes en el manejo post-cosecha de tres variedades de rosas de exportación; Tesis Ing. Agr. Quito. UCE. Facultad de Ciencias Agrícolas. p. 2-57
- SENAPATY, Rose; ROUT S. 2008; Study of culture conditions for improved micropropagation of hybrid rose. División de biotecnología de plantas, centro regional de recursos de plantas, India, p 27 – 34 disponible en: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/00764.pdf>
- TORRES PARDO, José Guillermo; 2010; Manejo de flor cortada de acuerdo con los parámetros establecidos para satisfacción de los clientes p 2-20; SENA Mosquera. Disponible en: <http://es.calameo.com/read/001735459e7f615584b4f>

- ZACARES SANMARTIN, Laura; 2008; Universidad nacional abierta y a distancia – unad; escuela de ciencias agrícolas, pecuarias y del medio ambiente; programa de agronomía; tesis doctoral; Valencia 2008
- ZARAGOZA CRESPO, Rafael; CARDONA GIMENO, Concepción; PEMA GARCIA, Javier; SALAVERT LLETI, Miguel. 2007; Microbiología aplicada al paciente crítico. p 265; Buenos aires
- ZENIL LUGO, Nadia. 2013; caracterización fisiológica y bioquímica asociada al estrés oxidativo en Rosa híbrida L) Chapingo, Estado de México. Disponible en <https://chapingo.mx/horticultura/pdf/tesis/TESISDCH2013121607126659.pdf>

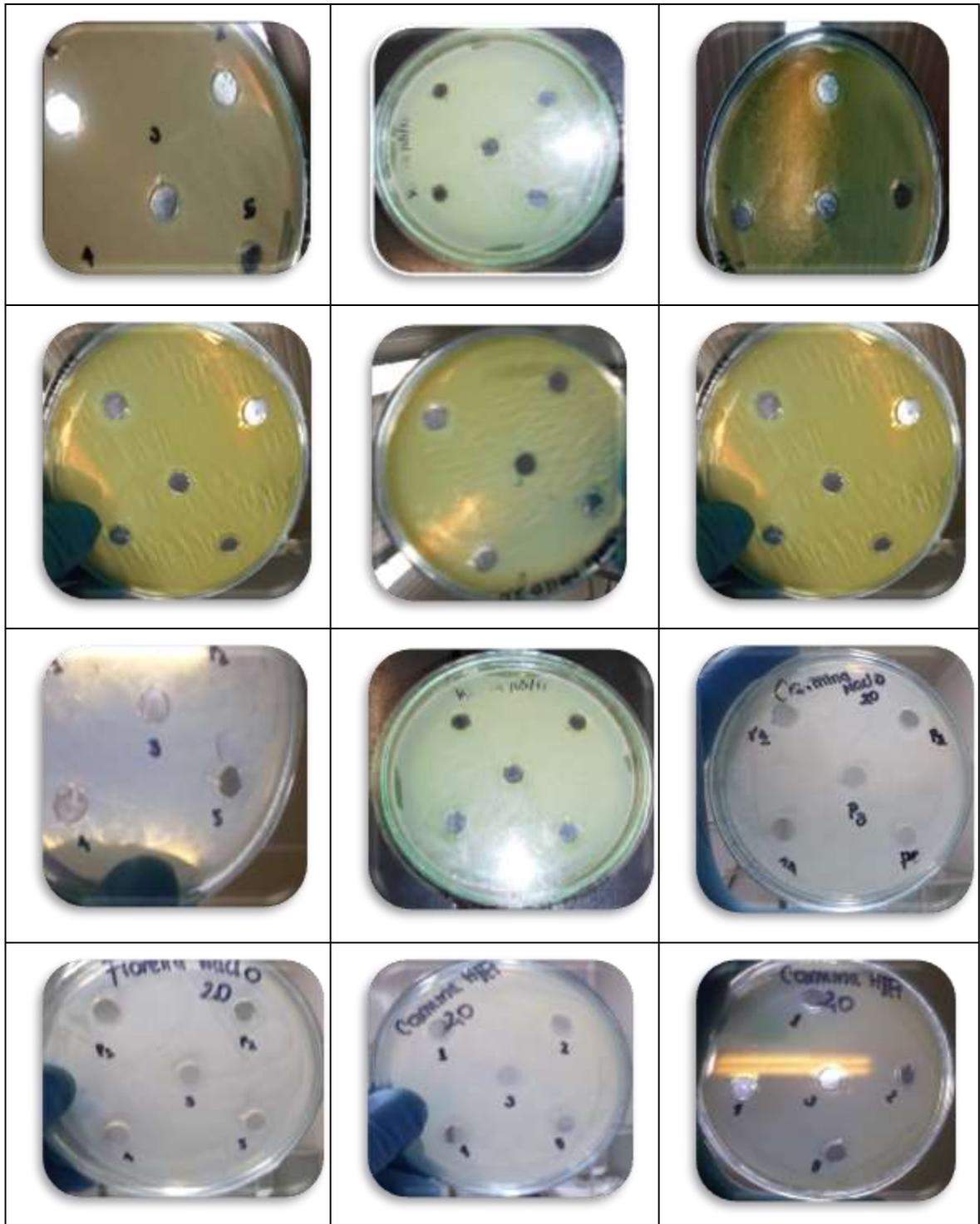
10. Anexos

10.1. Registro fotográfico de la prueba antibiograma por medio de la técnica de difusión en agar por medio de pozos.



Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

10.2. Registro fotográfico de la prueba antibiograma por medio de la técnica de difusión en agar por medio de pozos donde se observan posibles halos de inhibición.



Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

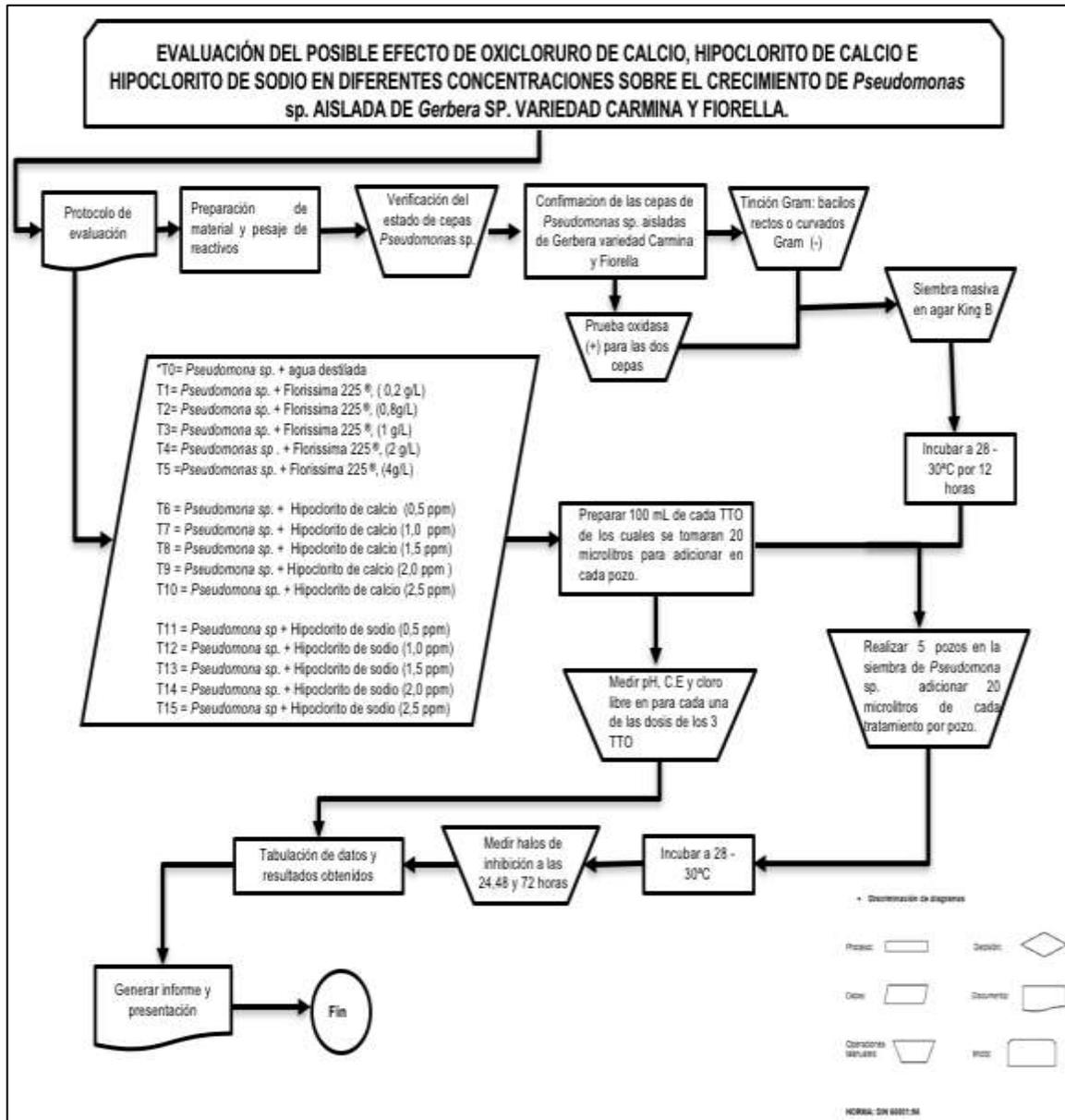
10.3 Agar King B

Es un medio para la detección y diferenciación de *Pseudomonas aeruginosa* de otras *Pseudomonas* basado en la producción de fluoresceína.

Composición

	Concentración del medio
Mezcla de peptona	20,0 g/litro
Fosfato di-potásico	1,5 g/litro
Sulfato de magnesio	1,5 g/litro
Agar	15,0 g/litro
Final pH: 7,0 ± 0,2	

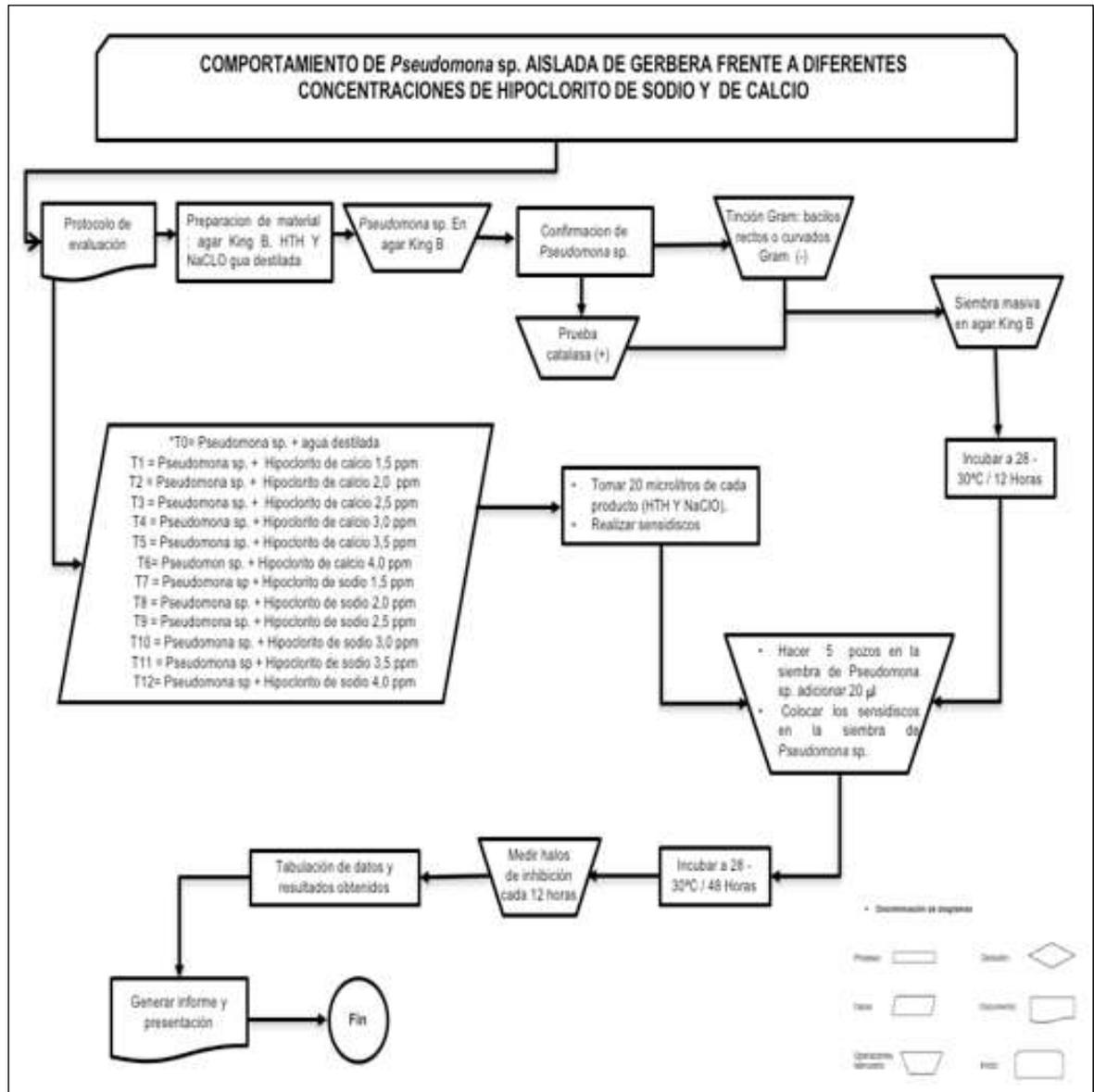
10.4. Diagrama de flujo (fase uno)



Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Diagrama 1. Metodología de la **evaluación del efecto de Florissima 225[®], hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio sobre *Pseudomonas* sp. aisladas de flores de Gerbera sp.** Tomado de planificación nacional y política económica; área de modernización del estado; Guía para la elaboración de diagramas de flujo; Julio 2009 Norma DIN 66001:09.

10.5. Diagrama de flujo (fase dos)



Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Diagrama 2. Metodología de la evaluación del efecto del hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio sobre *Pseudomonas* sp. aisladas de flores de *Gerbera* sp. Tomado de planificación nacional y política económica; área de modernización del estado; Guía para la elaboración de diagramas de flujo; Julio 2009 Norma DIN 66001:09.

10.6. Equipos, reactivos y medios

Equipos de laboratorio

Equipos	Cantidad
Autoclave	1
Mecheros	3
Balanza analítica	1
Microscopio	1
Sonda multiparametrica	1
Kit de cloro libre	1
Micropipetas de 1 ml	1
Micropipetas de 0,1 ml	1
Puntas de 1 ml	1
Puntas de o,1 ml	1

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

Reactivos y medio de cultivo

Reactivos y medios de cultivo	Cantidad
Agar King b	60
Alcohol antiséptico	100 ml
Hipoclorito de calcio	5 gramos
Hipoclorito de sodio	10 ml
Florissima 225 [®]	10 gramos

Elaboración propia. Los datos del autor ya están en la portada al igual que la fecha.

10.7.

Planos bloque de obtención de muestras (finca

Marly)

