SACAROSA Y ÁCIDO CÍTRICO EN SOLUCIONES CON NANO PARTÍCULAS DE PLATA, EN LA VIDA FLORERO DE ROSA

SUCROSESUCROSE AND CITRIC ACID IN PRESERVATIVE SOLUTIONS WITH NANO SILVER PARTICLES IN THE VASE LIFE OF ROSA

Columba **Vicencio-Salas Solís**[1], Araceli **Zavaleta-Mancera**[1*], Ma. de Lourdes **Arévalo Galarza**[2], Luis M. **Carrillo-López**[1], Mario **Luna-Cavazos**[3]

[1]Botánica (arazavaleta@colpos.com.mx). [2]Fruticultura. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México. [3]Facultad de Zootecnia y Ecología, CONACYT-Universidad Autónoma de Chihuahua, Periférico Francisco R. Almada Km 1, 31453. Chihuahua.

RESUMEN

Las nano partículas de plata (NPs de Ag) en las soluciones florero son agentes antimicrobianos e inhibidores de etileno en algunas especies de flor para corte, pero el efecto combinado de sacarosa y el ácido cítrico no se ha investigado. La biosíntesis de NPs de Ag con extractos vegetales es un método eficiente y ecológicamente amigable. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de sacarosa y ácido cítrico en combinación con 1 ppm NPs de Ag, en la vida florero de *Rosa hybrida* cv. Freedom. Las NPs se sintetizaron con extracto de *Camelia sinensis* y se caracterizaron con espectrometría UV-Vis y Microscopía Electrónica de Transmisión. El diseño fue completamente al azar y los tratamientos fueron: 1) 1 ppm NPs de Ag; 2) 1 ppm NPs de Ag + 2 % sacarosa (pH 6); 3) 1 ppm NPs de Ag +ácido cítrico (pH 3), d) 1 ppm NPs Ag + ácido cítrico + 2 % sacarosa; 4) testigo (agua destilada, pH 6). La unidad experimental fue un tallo floral con 15 repeticiones por tratamiento. El tratamiento 1 ppm NPs + ácido cítrico generó la mayor vida de florero (7.3 d) y el mayor consumo de agua (147.08 mL) y el mayor peso fresco relativo (89.50 %). Los tratamientos con solo NPs de Ag y NPs + ácido cítrico retrasaron la apertura floral máxima (5.33 d y 6.80 d) con respecto al testigo (3.13 d), variable relacionada con la longevidad de la flor. La presencia de NPs de Ag en la solución inhibió el crecimiento bacteriano pero el ácido cítrico aumentó el consumo de agua y el peso fresco del tallo floral. La presencia de sacarosa en la solución redujo la vida florero, el consumo de agua y aumentó el conteo bacteriano pero la acidificación del medio con ácido cítrico revirtió parcialmente el efecto negativo de la sacarosa.

ABSTRACT

The silver nanoparticles (Ag NPs) in the vase solutions are antimicrobial agents and ethylene inhibitors in some species for cut flowers, but the combined effect of sucrosesucrose and citric acid remains uninvestigated. The biosynthesis of Ag NPs with plant extracts is an efficient and ecologically friendly method. The objective of the present study was to evaluate the effect of sucrosesucrose and citric acid in combination with 1 ppm NPs of Ag in the vase life of *Rosa hybrida* cv. Freedom. The NPs were synthesized with *Camelia sinensis* extract and characterized them with UV-Vis spectrometry and Transmission Electron Microscopy. The design was completely randomized and the treatments were: 1) 1 ppm Ag NPs; 2) 1 ppm Ag NPs + 2% sucrosesucrose (pH 6); 3) 1 ppm Ag NPs + citric acid (pH 3), d) 1 ppm Ag NPs + citric acid + 2% sucrosesucrose; 4) control (distilled water, pH 6). The experimental unit was a floral stem with 15 replicates per treatment. The treatment 1 ppm NPs + citric acid generated the longest vase life (7.3 d), the highest water consumption (147.08 mL) and the highest relative fresh weight (89.50 %). The treatments with AgNPs alone and AgNPs + citric acid delayed the maximum floral opening (5.33 d and 6.80 d) with respect to the control (3.13 d); variable related to the longevity of the flower. The presence of AgNPs in the solution inhibited bacterial growth but the citric acid increased the water consumption and the fresh weight of the floral stem. The presence of sucrosesucrose in the solution reduced the vase life, the consumption of water and increased the bacterial count but the acidification of the medium with citric acid partially reversed the negative effect of sucrosesucrose.

Key words: *Rosa hybrida*, silver nanoparticles, vase solution, sucrosesucrose, citric acid.

* Autor responsable ❖ Author for correspondence.
Recibido: septiembre, 2017. Aprobado: julio, 2018.
Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 52: 951-965. 2018.

Palabras clave: *Rosa hybrida*, nanopartículas de plata, solución florero, sacarosa, ácido cítrico.

INTRODUCCIÓN

México es un país con amplio potencial para la producción y exportación de flores de corte y plantas en maceta: posee climas satisfactorios para el cultivo de diferentes especies, cuenta con buena oferta de mano de obra, un gran mercado y cercanía al gran consumidor que es Estados Unidos de América (Tejeda y Arévalo, 2012; Hernández, 2007; van Vliet, 2004). Sin embargo, el potencial del país es mermado por el atraso tecnológico, falta de organización, mal aspecto laboral del país y las bajas exportaciones (Tejeda-Sartorius y Arévalo-Galarza, 2012; van Vliet, 2004).

En las flores de corte las causas comunes de senescencia son la inhibición de la absorción de agua, la deshidratación por mal manejo, el bajo abastecimiento de carbohidratos para sostener la respiración, la presencia de etileno y otros eventos metabólicos asociados (Halevy y Mayak, 1981). La contaminación microbiana en la base de los tallos es la principal causa del bloqueo de los vasos del xilema, lo cual reduce la absorción de agua y en consecuencia la longevidad de los tallos florales (Zagory y Reid, 1986).

Algunos requerimientos necesarios para la sobrevivencia de las flores de corte son la calidad y la acidez (pH 3-5) del agua, los cuales afectan el crecimiento microbiano (Hayat *et al.,* 2012). Las soluciones florero, contribuyen a alargar la vida de las flores cortadas. Estas soluciones tienen varias funciones: reducir la síntesis de etileno; inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos; mantener el equilibrio hídrico y respiratorio; contribuir a la conservación del color e inducir la apertura de los botones florales (Halevy y Mayak, 1981).

La plata (Ag^{+}) se usa en soluciones preservativas como tiosulfato de plata o nitrato de plata debido a sus propiedades antimicrobianas y para inhibir producción de etileno en flores de corte prolongando la vida de florero; pero el desecho de estas soluciones en las empacadoras de flores es un daño potencial al ambiente, por lo que se debe encontrar alternativas para reducir su uso. Los materiales nanoestructurados tienen al menos una dimensión en escala nanométrica (1-100 nm) entre los que podemos encontrar a las nanopartículas, nanobarras, nanoalambres, y películas

INTRODUCTION

Mexico is a country with a wide potential for the production and export of cut flowers and pot plants; it has satisfactory climates for the cultivation of different species, has good labour offer, a large market and proximity to the great consumer, the United States of America (Tejeda and Arévalo, 2012, Hernández, 2007, van Vliet, 2004). However, the country's potential is diminished by technological backwardness, lack of organization, poor working conditions in the country and low exports (Tejeda-Sartorius and Arévalo-Galarza, 2012, van Vliet, 2004).

In cut flowers, the common causes of senescence are the inhibition of water absorption, dehydration due to poor management, low carbohydrate supply to sustain respiration, the presence of ethylene and other associated metabolic events (Halevy and Mayak, 1981). Microbial contamination at the base of the stems is the main cause of the blockage of the xylem vessels, which reduces water absorption and consequently the longevity of the flower stems (Zagory and Reid, 1986).

Some requirements necessary for the survival of the cut flowers are the quality and acidity (pH 3-5) of the water, which affect the microbial growth (Hayat *et al.*, 2012). The vase solutions contribute to lengthen the life of cut flowers. These solutions have several functions: to reduce the synthesis of ethylene; inhibit the development of pathogenic microorganisms; maintain water and respiratory balance; contribute to the conservation of colour and induce the opening of flower buds (Halevy and Mayak, 1981).

Silver (Ag^{+}) is used in preservative solutions such as silver thiosulfate or silver nitrate, due to its antimicrobial properties and to inhibit ethylene production in cut flowers and thus prolonging vase life; but the disposal of these solutions by the flower packers is a potential damage to the environment, so we must find alternatives to reduce their use. The nanostructured materials have at least one dimension in nanometric scale (1-100 nm) among which we can find nanoparticles, nanobars, nanowires and thin films (Cao and Wang, 2011).

When the particle size decreases there is an increase in the volume fraction of the boundaries of the particle or interfaces and triple bonds, with an increase in the density of defects; the atoms in the

delgadas (Cao y Wang, 2011). Cuando el tamaño de la partícula decrece hay un aumento en la fracción del volumen de los límites de la partícula o intercaras y uniones triples, con el aumento de la densidad de defectos, los átomos en los límites de las partículas y las uniones triples comienzan a compararse con los que residen en los núcleos (Murty *et al.*, 2013). Debido a la alta relación superficie/volumen, entre otras propiedades químicas y físicas, las nanopartículas son eficientes por el contacto con microrganismos lo que las hace muy efectivas como germicidas (Monge, 2009), por lo que las concentraciones de plata son mucho menores cuando se usan nanoparticulas que cuando se usa sales de plata. Además, la biosíntesis de nanopartículas consiste en la producción de NPs usando sistemas biológicos, el cual se basa en la propiedad reductora de las biomoléculas y este método de síntesis se considera ecoamigable (Sadowski, 2010), ya que los reactivos para síntesis (extracto vegetal) no son tóxicos ni requieren sustancias estabilizadoras, a diferencia de los métodos químicos y físicos. (Iravani, 2014). Varios extractos acuosos de plantas se usan en la reducción de NPs de Ag, como *Phlomis* sp. (Allafchian *et al.*, 2016), *Pteris tripartita* (Baskaran *et al.* 2016), *Acacia leucophloea* (Murugan *et al.,* 2014) y *Opuntia ficus-indica* (Rico-Moctezuma *et al.*, 2010) para la biosíntesis de NPs de Ag.

El tamaño y la morfología de las nanoestructuras depende de la interacción de las biomoléculas con los iones metálicos (Makarov *et al.,* 2014; Shiv Shankar *et al.*, 2004). Compuestos fenólicos como flavonoides y antocianinas contienen grupos hidroxilos que poseen fuerte habilidad para enlazar iones de plata e involucrarlos en la biosíntesis de nanopartículas y funcionar como agente reductor de iones de plata (Ag^{+}) a NPs de Ag (Ag^{0}) (Jain *et al.*, 2009; Solgi y Taghizadeh, 2012). Los NPs de Ag originadas con métodos químicos se usan en soluciones florero o pulso en experimentos. El efecto biocida de las NPs de Ag se ha investigado en soluciones florero y pulso (Nemati *et al.*, 2013; Solgi *et al.*, 2009), pero poco se conoce del efecto de la sacarosa y ácido cítrico en soluciones florero preparadas con NPs de Ag como agente microbicida.

El objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto de sacarosa y ácido cítrico en soluciones preservativas adicionadas con NPs de Ag sintetizadas

particle boundaries and triple bonds begin to compare with those residing in the nuclei (Murty *et al.*, 2013). Due to the high surface/volume ratio, among other chemical and physical properties, nanoparticles are efficient by contact with microorganisms, which makes them very effective as germicides (Monge, 2009); therefore, silver concentrations are much lower when nanoparticles are used instead of silver salts. In addition, the biosynthesis of nanoparticles consists of the production of NPs using biological systems, which is based on the reductive property of biomolecules. This synthesis method is considered eco-friendly (Sadowski, 2010) since the reagents for synthesis (plant extract) are not toxic nor require stabilizing substances, unlike chemical and physical methods (Iravani, 2014). Several aqueous extracts of plants are used in the reduction of Ag NPs, such as *Phlomis* sp. (Allafchian *et al.*, 2016), *Pteris tripartita* (Baskaran *et al.*, 2016), *Acacia leucophloea* (Murugan *et al.*, 2014) and *Opuntia ficus-indica* (Rico-Moctezuma *et al.*, 2010) for the biosynthesis of Ag NPs.

The size and morphology of the nanostructures depends on the interaction of the biomolecules with the metal ions (Makarov *et al.*, 2014; Shiv Shankar *et al.*, 2004). Phenolic compounds such as flavonoids and anthocyanins contain hydroxyl groups that have a strong ability to bind silver ions and involve them in the biosynthesis of nanoparticles and function as a reducing agent of silver ions (Ag+) to Ag NPs (Ag^{0}) (Jain *et al.*, 2009; Solgi and Taghizadeh, 2012).

The Ag NPs originated with chemical methods are used in vase or pulse solutions in experiments. The biocidal effect of Ag NPs on vase and pulse solutions (Nemati *et al.*, 2013, Solgi *et al.*, 2009) is frequently the object of research, but little is known about the effect of sucrosesucrose and citric acid in vase solutions prepared with Ag NPs as a microbicidal agent.

The objective of the present research was to study the effect of sucrosesucrose and citric acid in preservative solutions added with Ag NPs synthesized with extracts of *Camellia sinensis* in the vase life, bacterial population, floral opening, perspiration and water relations of *Rosa hybrida* cultivar Freedom.

con extractos de *Camellia sinensis* en la vida florero, población bacteriana, apertura floral, transpiración y relaciones hídricas de *Rosa hybrida* cultivar Freedom.

MATERIALES Y MÉTODOS

Biosíntesis de nanopartículas de plata

El extracto vegetal se obtuvo mediante la ebullición (95 °C) por 5 min de 2 g de te verde Lagg®. (*Camellia sinensis*) en 100 mL de agua desionizada, se enfrió a 22 °C y se filtró con papel Whatman No. 4. De una solución 10 mM de $AgNO_3$ (Sigma Aldrich de México, ACS ≥ 99.0 %) preparada con agua desionizada, se tomaron 5 mL, se adicionaron 3 mL de extracto acuoso de *Camellia sinensis*, y después la solución se aforó a 15 mL con agua desionizada (modificación de Carrillo, 2014 y Nakhjavani *et al*., 2017) y se expuso 5 min a la luz solar.

Caracterización de las NPs de Ag

La formación de las NPs se evaluó con espectroscopia (UV-vis) en un Espectrofotómetro HP 845x UV-visible System en un rango de 350 a 700 nm, para verificar la presencia del plasmón de resonancia superficial (PRS). La estabilidad en el tiempo de las NPs se verificó a 1 h, 2h, 3 h, 4 h, 5 h, 24 h, 48 h, 72 h, 5 d, 12 d, 30 d, 60 d, 90 d, 130 d, 160 d, 200 d, y 9, 10, 11, 12, 13 y 14 meses. La morfología y dimensiones de las NPs Ag se estudiaron con un Microscopio Electrónico de Transmisión (MET, Tecnai 2 Spirit, ThermoFisher-Fei Copany), en la modalidad de campo claro a en x150 - 300 mil aumentos y a 120 kV.) El diámetro mayor (DMa) y menor (DMe) se midió en 251 partículas con el procesador de imágenes TIA 4.7 SP3 (Tecnai: Imagining & Analysis, USA) para obtener el diámetro promedio y el índice de redondez (IR= DMa/DMe).

Material biológico y establecimiento del experimento

Tallos de *Rosa hybrida* cv. Freedom se obtuvieron del invernadero comercial de la empresa "Flores Selectas de Tequexquinahuac", S. de P R. de R. L. (19° 28' 51.26" N, 98° 50' 23.03" O), en Tequexquinahuac, Texcoco, Estado de México. Los tallos florales se cortaron el mismo día, con un índice de cosecha 2 de acuerdo con De la Cruz *et al*., (2015) y se usaron sin recibir ningún tratamiento postcosecha. Los tallos se ajustaron a 35 cm ±2 de longitud y 6 hojas.

En un estudio preliminar la concentración de 1 ppm de NPs mostró ser la más eficiente para reducir la obstrucción del tejido vascular y la población bacteriana en la solución preservativa, por lo cual esta concentración se uso en el presente estudio. Las soluciones

MATERIALS AND METHODS

Biosynthesis of silver nanoparticles

We obtained the vegetal extract by boiling (95 °C) for 5 min 2 g of Lagg® green tea (*Camellia sinensis*) in 100 mL of deionized water, cooled to 22 °C and filtered with Whatman No. 4 paper. From a 10 mM solution of $AgNO_3$ (Sigma Aldrich from Mexico, ACS ≥ 99.0%) prepared with deionized water, we took 5 mL, added 3 mL of aqueous extract of *Camellia sinensis*, and then adjusted the solution to 15 mL with deionized water (modification by Carrillo, 2014 and Nakhjavani *et al*., 2017) and exposed to sunlight for 5 minutes.

Characterization of Ag NPs

We evaluated the formation of the NPs with spectroscopy (UV-vis) in an HP 845x UV-visible System Spectrophotometer in a range of 350 to 700 nm, to verify the presence of the surface plasmon resonance (SPR). The stability over time of NPs was verified at 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 24 h, 48 h, 72 h, 5 d, 12 d, 30 d, 60 d, 90 d, 130 d, 160 d, 200 d, and 9, 10, 11, 12, 13 and 14 months. We studied the morphology and dimensions of the Ag NPs with an Electronic Transmission Microscope (MET, Tecnai 2 Spirit, Thermo Fisher Scientific-Fei Copany), in bright field mode, at 150 000 and x300 000 magnifications and 120 kV.) The largest (DMa) and smallest (DMe) diameters were measured in 251 particles with the TIA 4.7 SP3 image processor (Tecnai: Imagining & Analysis, USA) to obtain the average diameter and the roundness index (IR = DMa/DMe).

Biological material and establishment of the experiment

We obtained stems of *Rosa hybrida* cv. Freedom from the commercial greenhouse of the company "Flores Selectas of Tequexquinahuac", S. de P. R. de R. L. (19° 28' 51.26" N, 98° 50' 23.03" W), in Tequexquinahuac, Texcoco, State of Mexico. The floral stems were cut the same day, with a harvest index of 2, according to De la Cruz *et al*., (2015) and they were used without receiving any postharvest treatment. We adjusted the stem lengths to 35 cm ±2 and 6 leaves.

In a preliminary study, the concentration of 1 ppm NPs appeared to be the most efficient in reducing vascular tissue obstruction and the bacterial population in the preservative solution, so we used this concentration for the present study. We prepared the solutions with distilled water from a solution with 1 ppm of Ag NPs, with and without sucrosesucrose (2%) and two pH (5.8 and 3.4) by the addition of citric acid. The control treatment was distilled water pH 5.6.

se prepararon con agua destilada a partir de una solución con 1 ppm de NPs de Ag, con y sin sacarosa (2 %) y dos pH (5.8 y 3.4) por la adición de ácido cítrico. El tratamiento testigo fue agua destilada pH 5.6.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con los siguientes tratamientos: 1) 1 ppm NPs de Ag, 2) 1 ppm NPs de Ag + 2% sacarosa (pH 6), 3) 1 ppm NPs de Ag +ácido cítrico (pH 3), 4) 1 ppm NPs de Ag + ácido cítrico+ 2% sacarosa, y 5) testigo (agua destilada, pH 6). La unidad experimental fue un tallo floral colocado en un florero (250 mL) con 200 mL de solución preservativa, con 15 repeticiones por tratamiento. Los tallos se colocaron en un cuarto a 25±2 °C y 60 % de humedad relativa y se cortaron 2 cm en la base los días 4 y 9. Los floreros se cubrieron con parafilm para evitar la evaporación. Los resultados se analizaron con un ANDEVA y las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con el software SAS System 9.0.

Variables evaluadas

El consumo de agua se evaluó cada día con una balanza digital (Setra, S1-2000, USA), para calcular el volumen (mL) de agua consumida por el tallo. El cambio de peso fresco se obtuvo mediante la diferencia entre el peso fresco inicial (PF0) y el peso fresco a las 24 h (PF1) x 100 hasta el término de la vida de florero. La vida de florero (d) o longevidad se midió al inicio del experimento hasta la senescencia de los tallos, la cual se determinó considerando la presencia de alguna de las siguientes características: marchitez de los pétalos, oscurecimiento de ≥30 % del borde de los pétalos externos, doblamiento de cuello y peso relativo del 85 % (Hernández *et al.*, 2009). La apertura floral y la apertura floral máxima se evaluó con la medición diaria del diámetro del botón (mm) con un vernier digital (Trupper, México). El conteo bacteriano (Log 10 CFU mL^{-1}) solución preservativa se midió el tercer y séptimo día en 5 floreros por tratamiento por fecha, para lo cual se usaron placas 3M™ Petrifilm™ (3M MEXICO S.A. DE C.V.); para ello se depositó 1 mL de solución florero por placa y después se incubaron a 22 °C por 24 h, en condiciones asépticas. En los casos de presentarse excesivas colonias bacterianas, la solución se diluyó 1:10 y 1:20 con agua destilada según el caso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de nanopartículas

La formación de NPs de Ag con extracto de *C. sinensis* se observó por el cambio de coloración de

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was completely randomized with the following treatments: 1) 1 ppm Ag NPs, 2) 1 ppm Ag NPs + 2 % sucrosesucrose (pH 6), 3) 1 ppm Ag NPs + citric acid (pH 3), 4) 1 ppm Ag NPs + citric acid + 2% sucrosesucrose and 5) control (distilled water, pH 6). The experimental unit was a floral stem in a vase (250 mL) with 200 mL of preservative solution, with 15 replicates per treatment. The stems were placed in a room at 25±2 °C and 60 % relative humidity, and 2 cm were cut at the base on days 4 and 9. The vases were covered with parafilm to avoid evaporation. Results were analysed with ANOVA and the treatment means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$) using the SAS System 9.0 software.

Variables evaluated

We measured water consumption every day with a digital balance (Setra, S1-2000, USA), to calculate the volume (mL) of water consumed by the stem. We estimated the change in fresh weight from the difference between the initial fresh weight (PF0) and the fresh weight at 24 h (PF1) x 100 until the end of the vase life. The vase life (d) or longevity was measured at the beginning of the experiment until the senescence of the stems, which was determined considering the presence of any of the following characteristics: wilting of the petals, darkening of ≥30 % of the edge of external petals, neck bending and relative weight of 85 % (Hernández *et al.*, 2009). We evaluated the floral opening and the maximum floral opening by daily measuring the diameter of the button (mm) with a digital vernier scale (Trupper, Mexico). The bacterial count (Log 10 CFU mL^{-1}) in the preservative solution was measured on the third and seventh days in 5 vases per treatment per date, for which we used 3M™ Petrifilm™ plates (3M MEXICO S.A. DE C.V.); on this account, we placed 1 mL of vase solution per plate and incubated it at 22 °C for 24 h, under aseptic conditions. In cases of excessive bacterial colonies, we diluted 1:10 and 1:20 the solution with distilled water, depending on the case.

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of nanoparticles

Brahmachari *et al.* (2014) suggest that in *Oncimum sanctum* eugenol is the predominant chemical compound, so under solar radiation the phenolic OH bond undergoes homolytic cleavage to form a radical that eventually transfers its electron to the silver ion (Ag^{+}) to form Ag NPs. The UV-Vis absorption spectra provide information on the

la solución coloidal de amarillo a café rojizo. Estas observaciones coinciden con las realizadas durante la síntesis de NPs de Ag con *Chenopodium ambrosioides* (Carrillo *et al.,* 2014). Los polifenoles en el extracto de té verde son responsables de la reducción y estabilización o "capping" de nanopartículas de Ag y Au (Sun *et al*., 2014; Loo *et al*., 2012; Konwar Boruah *et al*., 2012; Kamal *et al*., 2010).Brahmachari *et al.* (2014) sugieren que en *Oncimum sanctum* el eugenol es el compuesto químico predominante, por lo que bajo radiación solar el enlace fenólico O-H se somete a escisión homolítica para formar un radical que eventualmente transfiere su electrón al ión plata (Ag^{+}) para formar NPs de Ag. Los espectros de absorción UV-Vis proporcionan información sobre las propiedades ópticas dependientes del tamaño, la distribución y las propiedades superficiales de las NPs metálicas (Ider *et al.,* 2016).

Con el método de biosíntesis con 5 mL de $AgNO_3$ 10 mM + 3 mL de extracto acuoso de *Camellia sinensis* el pico de absorción se encontró en los 436.8±2.154 nm desde la primera hora de reacción, el cual aumentó en el tiempo, y la mayor absorbancia se obtuvo en el mes 14 (Figura 1), lo cual indica

optical properties dependent on the size, distribution and surface properties of metallic NPs (Ider *et al*., 2016).

With the biosynthesis method with 5 mL of 10 mM $AgNO_3$ + 3 mL of *Camellia sinensis* aqueous extract, the absorption peak was 436.8 ± 2.154 nm from the first hour of reaction, which increased in time, and the highest absorbance was obtained at month 14 (Figure 1). This indicates an increase of Ag NPs synthesized over time (Carrillo *et al*., 2014). The amplitude of the plasmon peak depends on the size distribution of NPs (Pastoriza *et al*., 2002). Vilchis-Nestor *et al*. (2008) observed that in the solutions with $AgNO_3$, 10 mM and aqueous extract of *C. sinensis* from 1 to 10 mL the reduction of silver ions and the formation of stable NPs occurred within the first 4 h of reaction. The wavelengths of the maximum absorption of Ag NPs at 4 h (440, 445 and 430 nm) were similar to those obtained by Hussain and Khan (2014), Kamal *et al*. (2010) and Vilchis-Nestor *et al*. (2008). The maximum absorbance (20.89 u.a.) was higher in our study compared with those already mentioned. The experiment with black tea (*C. sinensis*) conducted by Begum *et al*. (2009)

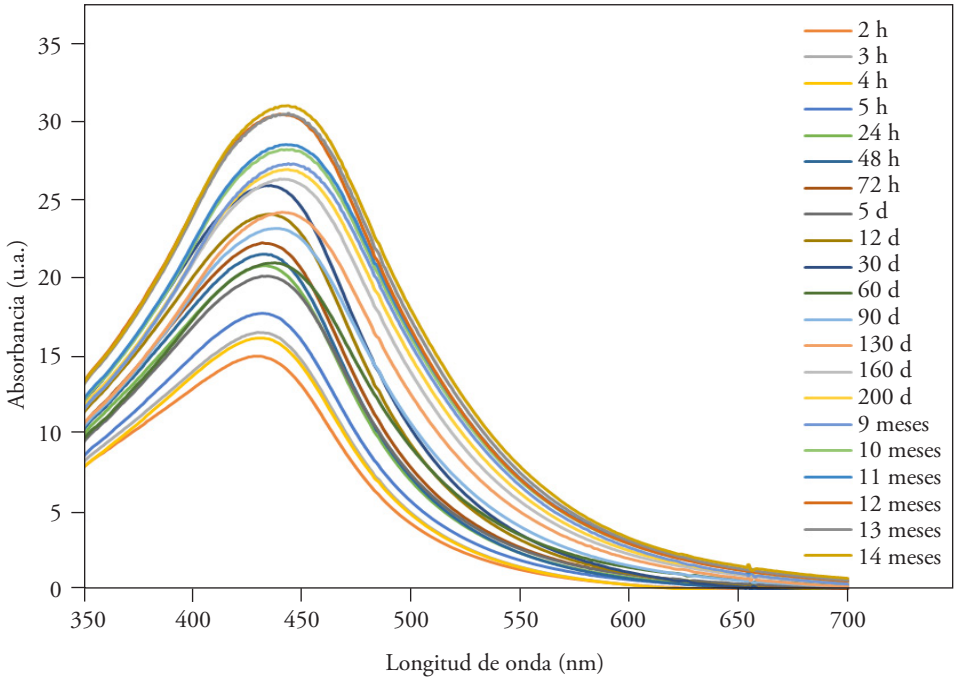

Figura 1. Espectros de absorción (PRS) de nanopartículas de plata sintetizadas con AgNO3 10 mM (5 mL) y extracto acuosos de *C. sinensis* (3 mL) a 24 °C tomados a diferentes tiempos.

Figure 1. Spectra of absorption (SPR) of silver nanoparticles synthesized with 10 mM $AgNO_3$ (5 mL) and aqueous extract of *C. sinensis* (3 mL) at 24 °C taken at different times.

un aumento en la cantidad de NPs de Ag sintetizadas en el tiempo (Carrillo *et al.,* 2014). La amplitud del pico del plasmón depende de la distribución de tamaños de las NPs (Pastoriza *et al*., 2002). Vilchis-Nestor *et al.* (2008) observaron que en las soluciones con $AgNO_3$, 10 mM y extracto acuosos de *C. sinensis* de 1 a 10 mL la reducción de iones de plata y la formación de NPs estables ocurrió dentro de las primeras 4 h de reacción. Las longitudes de onda de la máxima absorción de las NPs de Ag a las 4 h (440, 445 y 430 nm), fueron semejantes con las obtenidas por Hussain y Khan (2014), Kamal *et al.* (2010) y Vilchis-Nestor *et al.* (2008). La absorbancia máxima (20.89 u.a.) fue mayor en nuestro estudio comparado con los ya mencionados. El experimento realizado por Begum *et al.* (2009) con té negro (*C. sinensis*) muestra una absorbancia máxima similar (460 nm) a la reportada. Las absorbancias máximas aumentaron en función del tiempo. A los 60 min (1h) la absorbancia máxima fue de 11.99 u.a. (λ de 433 nm), pero a los 14 meses la absorbancia aumentó a 31.06 u.a. (λ de 446 nm). Los PRS fueron simétricos, indicador de la estabilidad del sistema en el tiempo (Ider *et al.,* 2016; Carrillo *et al.,* 2014). La forma simétrica del pico del PRS pasmón de resonancia superficial indica la existencia de NPs de Ag con forma esférica y una distribución uniforme (Ider *et al.,* 2016).

Una mayor absorción registrada en el pico del plasmón de resonancia superficial refleja mayor reducción de iones de plata y, a su vez, una concentración más alta de NPs de Ag (Ider *et al.,* 2016; Carrillo *et al.,* 2014).

El 80 % de las NPs de Ag sintetizadas y almacenadas durante 14 meses a 4 °C mostraron diámetros entre 10-40 nm y forma cuasi esférica (índice de redondez 0.893±0.006) (Figura 2).

Las NPs de Ag producidas presentaron un tamaño promedio de 21.509±0.634 nm y el 81.6 % fueron menores a los 30 nm. Los intervalos de tamaño con mayor frecuencia fueron de 10 a 20 y de 20 a 30 (Figura 3). Hussain y Khan (2014) obtuvieron nanodiscos de 47 nm de largo y 10 de ancho, sintetizadas con $AgNO_3$ 1 mM y 4% de extracto con catequinas, y Sun *et al*. (2014) sintetizaron NPs de 20-90 nm con $AgNO_3$ 10 mM y con diferentes concentraciones de extracto de té. Además, Rastogi y Arunachalam (2011) obtuvieron NPs de Ag esféricas de 7.3±4.4 nm al exponer una solución de $[Ag(NH_3)_2]^+$ 0.1 M con extracto de *Allium sativum* (ajo) a luz solar por 15 min.

shows a similar maximum absorbance (460 nm) to that reported. The maximum absorbances increased over time. At 60 min (1 h) the maximum absorbance was 11.99 u.a. (λ of 433 nm), but at 14 months the absorbance increased to 31.06 u.a. (λ 446 nm). The SPR were symmetric, indicating the stability of the system over time (Ider *et al*., 2016; Carrillo *et al*., 2014). The symmetric shape of the PSR peak indicates the existence of spherical-shaped Ag NPs and a uniform distribution (Ider *et al*., 2016).

A greater absorption registered in the peak of the SPR reflects a greater reduction of silver ions and, in turn, a higher concentration of Ag NPs (Ider *et al*., 2016; Carrillo *et al*., 2014).

Eighty percent of the Ag NPs synthesized and stored for 14 months at 4 °C showed diameters between 10-40 nm and a quasi-spherical shape (roundness index 0.893±0.006) (Figure 2).

The Ag NPs produced had an average size of 21.509±0.634 nm and 81.6% were less than 30 nm. The size intervals with the highest frequency were 10 to 20 and 20 to 30 (Figure 3). Hussain and Khan (2014) obtained nanodiscs 47 nm long and 10 nm wide, synthesized with 1 mM $AgNO_3$ and 4 % extract with catechins; and Sun *et al*. (2014) synthesized NPs of 20-90 nm with 10 mM $AgNO_3$ and with different concentrations of tea extract. In addition, Rastogi and Arunachalam (2011) obtained spherical Ag NPs of 7.3±4.4 nm by exposing a solution of $[Ag(NH_3)_2]$ + 0.1 M with extract of *Allium sativum* (garlic) to sunlight for 15 min.

The roundness index (IR) was high, 0.893±0.006, and indicated a quasi-spherical shape.

Changes in fresh weight and water consumption

In the treatment with citric acid (pH 3) we obtained the highest relative fresh weight (PFR) (104.77%) on the third day and during the whole experiment it was significantly higher than the control (pH 6) (PFR, 86.24%), which was reflected in a reduction of the vase life. Safa *et al*. (2015), Liu *et al*. (2012) and Lü *et al*. (2010) observed that the use of Ag NPs in vase solutions significantly decreases the loss of PFR in stems of *Gerbera jamesonii* cv. 'Balance', *Acacia holasericea* and *R. hybrida* cv. 'Movie Star'. In all these tests, the PFR was significantly lower in the control treatment. The reduction of pH by the addition of citric acid to a solution with NPs

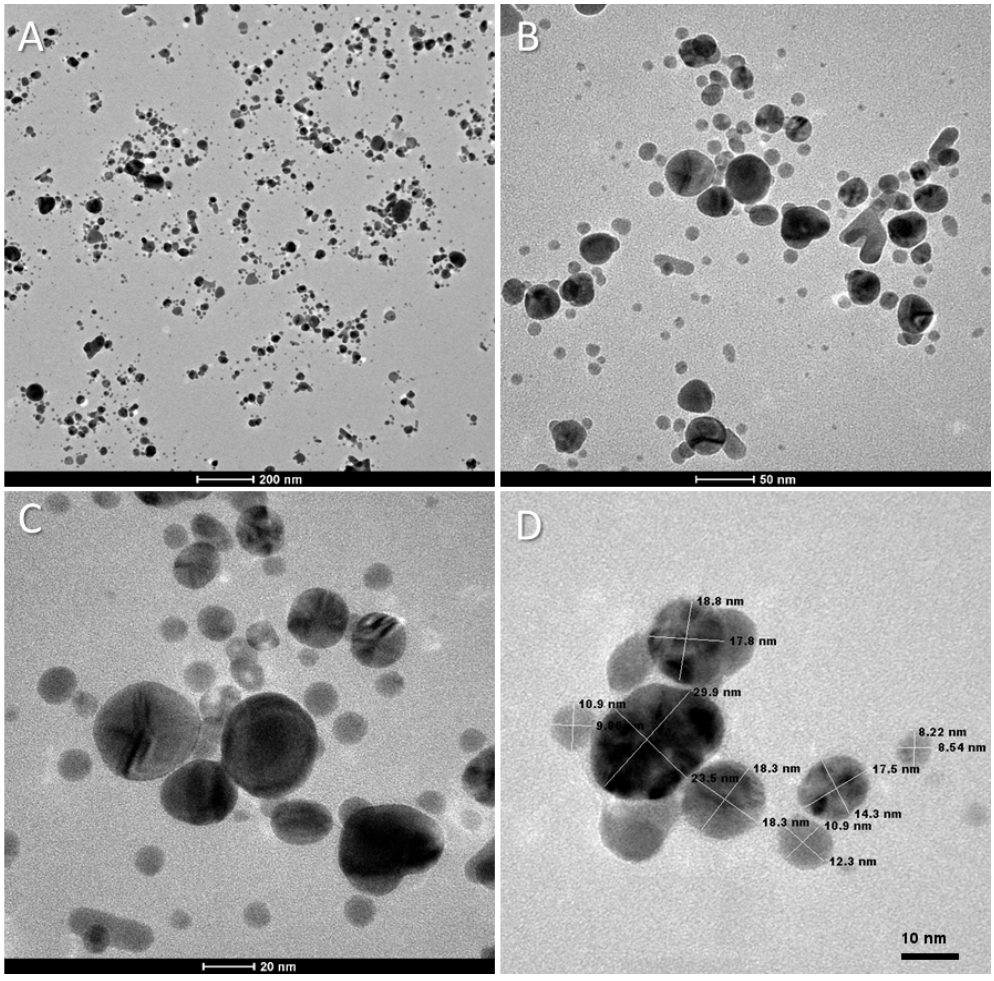

Figura 2. Microscopía Electrónica de Transmisión de NPs de Ag sintetizadas con + 5 mL 10 mM de $AgNO_3$ + 3 mL de extracto de *C. sinensis*. A y B, morfología y distribución. D, medición (de diámetro mayor y menor para indice de redondez. Tecnai 2G Spirit, a 120 kV.

Figure 2. Transmission Electron Microscopy of Ag NPs synthesized with + 5 mL 10 mM $AgNO_3$ + 3 mL of *C. sinensis* extract. A and B, morphology and distribution. D, measurement of the largest and smallest diameter for roundness index. Tecnai 2G Spirit, at 120 kV.

El índice de redondez (IR) fue alto, 0.893±0.006, y esto indicó una forma cuasi-esférica.

Cambios en peso fresco y consumo de agua

En el tratamiento con ácido cítrico (pH 3) se obtuvo el mayor peso fresco relativo (PFR) (104.77 %) el tercer día y durante todo el experimento fue significativamente mayor que el testigo (pH 6) (PFR, 86.24 %), lo cual se reflejó en una reducción de la vida florero. Safa *et al.* (2015), Liu *et al.* (2012) y Lü *et al.* (2010) observaron que el uso de NPs de Ag en soluciones florero disminuyen significativamente

improved the preservative effect of the Ag NPs and allowed a greater absorption of water by the stem. The treatment of Ag NPs with sucrosesucrose (pH 6) had an accelerated loss of PF from day 4. The treatments of Ag NPs without sucrosesucrose caused gain of PF until day 3, and later they lost weight progressively (Figure 4).

The water balance results from the difference between water consumption and water loss in the stem (Ried and Jiang, 2012). The absorption of water stops during dry management due to the phenomenon of embolism, in which the water column in the xylem does no longer flow due to a bacterial occlusion or

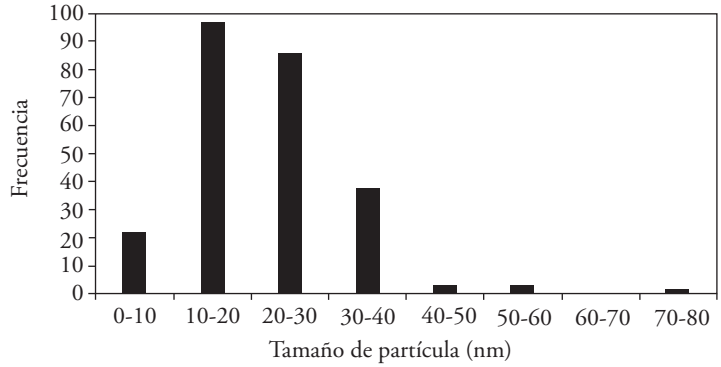

Figura 3. Distribución de tamaños de NPs de Ag sintetizadas con 5 mL de $AgNO_3$ 10 mM + 3 mL de extracto acuoso de *C. sinensis* y 5 min de exposición a luz solar, (n=251).

Figure 3. Size distribution of Ag NPs synthesized with 5 mL of 10 mM $AgNO_3$ + 3 mL of aqueous extract of *C. sinensis* and 5 min of exposure to sunlight (n=251).

Cuadro 1. Efecto de sacarosa y ácido cítrico en soluciones con 1 ppm de NPs de Ag, en el peso fresco relativo de tallos de *Rosa hybrida* cv. Freedom.

Table 1. Effect of sucrosesucrose and citric acid on solutions with 1 ppm of Ag NPs on the relative fresh weight of stems of *Rosa hybrida* cv. Freedom.

Tratamientos	Peso fresco relativo (%)				
	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	M.A.F (días)
Testigo (agua)	104.44 a	82.41 c	67.86 c	57.68 b	3.13 c
NPs de Ag	102.97 ab	96.56 ab	92.48 a	82.12 a	5.33 ab
NPs de Ag + sacarosa	98.45 b	92.05 bc	80.41 b	66.82 b	3.87 bc
NPs de Ag + Ác. cítrico	104.15 a	100.40 a	96.30 a	89.50 a	6.80 a
NPs de Ag + Ác. cítrico + sacarosa	99.33 b	97.05 ab	93.02 a	85.67 a	4.73 bc
C.V. (%)	7.43	10.23	12.73	16.69	38.31

MAF: Días a la máxima apertura floral. Letras diferentes en columnas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey; $p \leq 0.05$; n=15) ❖ MAF: Days at the maximum floral opening. Different letters in columns indicate significant statistical differences (Tukey; $p \leq 0.05$, n=15).

la pérdida de PFR en tallos de *Gerbera jamesonii* cv. 'Balance', *Acacia holasericea* y *R. hybrida* cv. 'Movie Star'. En todos estos experimentos el PFR fue significativamente menor en el tratamiento testigo. La reducción de pH mediante la adición de ácido cítrico a una solución con NPs mejoró el efecto preservativo de la NPs Ag y permitió una mayor absorción de agua por el tallo. El tratamiento de NPs de Ag con sacarosa (pH 6) tuvo pérdida acelerada de PF desde el día 4. Los tratamientos de NPs de Ag sin sacarosa causaron ganancia de PF hasta el día 3, y después perdieron peso de manera progresiva (Figura 4).

El balance de agua es determinado por la diferencia entre el consumo de agua y la pérdida de agua en el tallo (Ried y Jiang, 2012). La absorción de agua es suspendida durante el manejo en seco debido al formation of tampons by tyloses, and gels in the vessels (Van Doorn and Reid, 1995). The control and treatments with Ag NPs without sucrosesucrose registered higher water consumption during the first 2 d (54.16 mL) (Table 2). The treatment with Ag NPs + citric acid had the highest cumulative consumption (147.08 mL) on day 8. According to Nazemi and Ramezanian (2013), treatments with Ag NPs increase the rate of water absorption in *Rosa* cv. Avalanche, but in the present study we corroborated the positive effect of acidification of the medium on water absorption due to the reduction of vascular blockage (Reid and Jiang, 2012, Reid and Kofranek, 1980).

The control and sucrosesucrose treatments had less accumulated water consumption. This variable

Figura 4. Tallos de *Rosa hybrida* cv. Freedom a los diez días de evaluación. T-1: Agua; T-2: 1 ppm de NPs de Ag; T-3: 1 ppm de NPs de Ag + sacarosa; T-4; 1 ppm de NPs de Ag + ácido cítrico y; T-5: 1 ppm de NPs de Ag + ácido cítrico +sacarosa.
Figure 4. Stems of *Rosa hybrida* cv. Freedom after ten days of evaluation. T-1: Water; T-2: 1 ppm of Ag NPs; T-3: 1 ppm Ag NPs + sacchrose; T-4: 1 ppm of Ag NPs + citric acid, and T-5: 1 ppm of Ag NPs + citric acid + sacchrose.

nómeno de embolismo, en el que la columna de agua en el xilema es interrumpida por la oclusión bacteriana o formación de tampones por tilosas, y geles en los vasos (Van Doorn y Reid, 1995). El testigo y los tratamientos con NPs de Ag sin sacarosa registraron mayor consumo de agua durante los primeros

related to vase life, and stems with a lower water consumption showed early wilting, loss of color and neck bending (Figure 5). The Ag NPs + citric acid treatment favored longer vase life, increased water consumption, and obtained greater fresh weight and better vase life quality (Figure 5). Ethylene is a

Cuadro 2. Efecto de sacarosa y ácido cítrico en soluciones con NPs de Ag en el consumo de agua acumulado de *R. hybrida* cv. Freedom.
Table 2. Effect of sucrosesucrose and citric acid on solutions with Ag NPs in the accumulated water consumption of *R. hybrida* cv. Freedom.

Tratamientos	Consumo de agua acumulado (mL)			
	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
Testigo (agua)	54.16 a	77.96 bc	88.78 bc	96.88 cd
NPs de Ag	50.67 ab	89.10 ab	110.03 ab	126.40 ab
NPs de Ag + sacarosa	39.42 b	67.22 c	78.45 c	86.29 d
NPs de Ag + ác. cítrico	54.94 a	98.73 a	128.04 a	147.08 a
NPs de Ag + ác. cítrico + sacarosa	44.07 ab	79.33 abc	98.19 bc	116.86 bc
C.V. (%)	26.33	24.27	22.31	21.78

Letras diferentes en una columna indican diferencias estadísticas significativas (Tukey; $p \leq 0.05$; n=15)
❖ Different letters in a column indicate significant statistical differences (Tukey, $p \leq 0.05$; n=15).

2 d (54.16 mL) (Cuadro 2). El tratamiento con NPs de Ag + ácido cítrico tuvo el mayor consumo acumulado (147.08 mL) en el día 8. Según Nazemi y Ramezanian (2013), tratamientos con NPs de Ag aumentan la tasa de absorción de agua en rosa cv. Avalancha, pero en nuestro estudio se corroboró el efecto positivo de la acidificación del medio en la absorción de agua, debido a la reducción del bloqueo vascular (Reid y Jiang, 2012; Reid y Kofranek, 1980).

Los tratamientos testigo y con sacarosa tuvieron menor consumo acumulado de agua. Esta variable estuvo relacionada con vida de florero, y los tallos con menor consumo de agua presentaron temprana marchitez, pérdida de color y doblez del cuello (Figura 5). El tratamiento NPs Ag+ ácido cítrico promovió una mayor vida de florero, aumentó el consumo de agua y se obtuvo mayor peso fresco y mejor calidad de vida de florero (Figura 5). El etileno es una fitohormona que tiene efectos negativos en la longevidad floral de especies sensibles a esta molécula, pero este efecto puede ser inhibido por el ion Ag+ (Reid y Jiang, 2012).

En nuestro experimento no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos respecto al diámetro de la máxima apertura floral, pero sí en la velocidad de apertura floral la cual fue retrasada en la solución con ácido cítrico + 1 ppm de NPs de Ag (Figura 5), variable relacionada con la longevidad de la flor.

phytohormone that has negative effects on the floral longevity of species sensitive to this molecule, but this effect can be inhibited by the Ag + ion (Reid and Jiang, 2012).

In the present study there were no significant differences between treatments regarding the diameter of the maximum floral opening, but we did detect them in the floral opening speed which was delayed in the solution with citric acid + 1 ppm of Ag NPs (Figure 5), variable related to the longevity of the flower.

Vase life

The longest vase life treatment was NPs + citric acid (7.3 d). In *Gerbera jamesonii* we obtained the maximum vase life only with the addition of Ag NPs to the vase solution (Geshnizjany *et al*., 2014). In the experiment with the cv. of Rosa Freedom, the addition of sucrosesucrose to the vase solutions with 1 ppm of Ag NPs decreased the vase life, in contrast to the sole presence of Ag NPs (Figure 5). The use of sucrosesucrose in the vase solutions has benefits: longer vase life and relative fresh weight in stems, improvement in floral opening, pigmentation, reduction of sensitivity to ethylene and improved water relations (Asgari *et al*., 2013; and Jiang, 2012; Hayat *et al*., 2012; Lü *et al*., 2010). Yet in the present study, sucrosesucrose had an adverse effect on

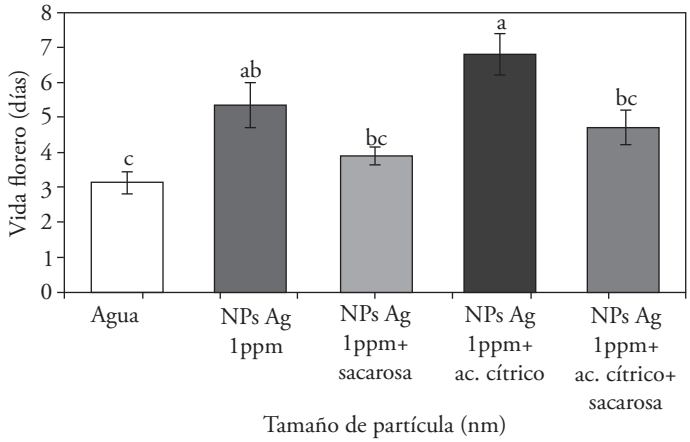

Figura 5. Efecto de NPs de Ag con sacarosa y ácido cítrico en la vida de florero de tallos de *Rosa hybrida* cv. Freedom. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, p≤0.05, n=15).

Figure 5. Effect of Ag NPs with sacchrose and citric acid in the vase life of stems of *Rosa hybrida* cv. Freedom. Different letters indicate significant differences (Tukey, p≤0.05, n=15).

Vida de florero

El tratamiento con mayor vida de florero fue NPs + ácido cítrico (7.3 d). En *Gerbera jamesonii* la máxima vida de florero se obtuvo solo con la adición de NPs de Ag a la solución florero (Geshnizjany *et al*., 2014). En el experimento con el cv. de rosa Freedom, la adición de sacarosa a las soluciones florero con 1 ppm de NPs Ag disminuyó la vida de florero, en contraste con la sola presencia de NPs de Ag (Figura 5). El uso de sacarosa en las soluciones florero tiene beneficios: mayor vida de florero y peso fresco relativo en tallos, mejoramiento en la apertura floral, pigmentación, reducción de sensibilidad a etileno y mejora de las relaciones hídricas (Asgari *et al*., 2013; Reid y Jiang, 2012; Hayat *et al*., 2012; Lü *et al.,* 2010), pero en nuestro estudio la sacarosa tuvo un efecto adverso en soluciones con NPs Ag, lo cual aumentó el conteo bacteriano en la solución y redujo la vida de florero. Este efecto adverso fue contrarrestado por el ácido cítrico, el cual disminuyó los efectos adversos de la sacarosa al acidificar la solución (Figura 7). La disminución del pH limita la proliferación de microorganismos (Hayat *et al*., 2012; Jowkar *et al*., 2012), los cuales se relacionan con la obstrucción de los vasos y disminución de la absorción del agua (Macnish *et al*., 2008; Van Doorn, 1997).

Recuento bacteriano de la solución

En nuestro estudio la adición de sacarosa en la solución preservativa con NPs Ag promovió el

Cuadro 3. Recuento bacteriano en la solución (Log 10 UFC mL^{-1}) por tratamiento.
Table 3. Bacterial count in the solution (Log 10 CFU mL^{-1}) per treatment

Tratamientos	Log 10 UFC mL^{-1} Día 3	Día 7
Control (agua)	2.42 a	3.51 a
NPs de Ag	1.85 ab	2.36 ab
NPs de Ag + sacarosa	2.60 a	2.91 a
NPs de Ag + ác. cítrico	0.17 c	0.85 b
NPs de Ag + ác. cítrico + sacarosa	0.64 bc	1.26 b
C.V. (%)	42.34	33.95

Letras diferentes en una columna indican diferencias estadísticas significativas (Tukey; p≤0.05; n=5) ❖ Different letters in a column indicate significant statistical differences (Tukey; p≤0.05; n=5).

solutions with Ag NPs, which increased the bacterial count in the solution and reduced the flower vase life. This adverse effect was counteracted by citric acid, which decreased the adverse effects of sucrosesucrose by acidifying the solution (Figure 7). The decrease of pH limits the proliferation of microorganisms (Hayat et al., 2012; Jowkar et al., 2012), related to vessel obstruction and lower water absorption (Macnish et al., 2008; Van Doorn, 1997).

Bacterial count of the solution

In this study, the addition of sucrosesucrose in the preservative solution with AG NPs promoted bacterial growth in the solution on the third day, but on the seventh day the control (water) recorded the highest bacterial count (Table 3). The treatment with the lowest bacterial count (CFU mL^{-1} 0.85) was that of Ag NPs + citric acid (pH3). The treatments with citric acid, with pH 3, had lower CFU mL^{-1} than the other treatments, with pH 6, so the acidification of the solutions contributed to the inhibition of bacterial growth.

The number of CFUs increased over time, the same as in the experiment by Liu *et al.* (2009, 2012), who did not find significant differences between the control treatment (distilled water) and the treatment with Ag NPs (5 mg L^{-1}), in pulse solutions. According to Okafor *et al*. (2013), concentrations of 4 ppm of Ag NPs synthesized with plant extracts (aloe, geranium, magnolia and black cohosh) and 3-9 nm in size, inhibited the bacterial growth of *E. coli*.

In a previous study all the treatments presented bacterial growth in the solution, but the treatments with 1, 5 and 10 ppm of Ag NPs (21.5 nm) synthesized with aqueous extract of *C. sinensis* had an antimicrobial activity that prevented the occlusion of a large number of xylem vessels. Okafor *et al*. (2013) observed that Ag NPs synthesized with aloe extract had the highest antibacterial activity compared to treatments with 2 and 4 ppm of Ag NPs (3-9 nm) synthesized with extracts of geranium, magnolia and black cohosh. According to Jowkar *et al*. (2013), there was no microbial growth in vase solutions treated with 1, 2.5 and 5% of Ag NPs, but these concentrations are higher than those of our study. However, Carrillo *et al*. (2016) reported that vase solutions with 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 and 5 mM of Ag NPs (10.3 nm) had no CFU in the solution. Reid

crecimiento bacteriano en la solución al tercer día, pero en el séptimo día el mayor recuento bacteriano fue del testigo (agua) (Cuadro 3). El tratamiento con menor conteo bacteriano (UFC mL^{-1} 0.85) fue el tratamiento de NPs de Ag + ácido cítrico (pH3). Los tratamientos con ácido cítrico, con pH 3, tuvieron menor UFC mL^{-1} que los demás tratamientos, pH 6, por lo que la acidificación de las soluciones contribuyó con la inhibición del crecimiento bacteriano.

El número de UFC aumentó con el tiempo al igual que en el experimento de Liu *et al.* (2009, 2012), quienes no encontraron diferencias significativas entre el tratamiento testigo (agua destilada) y el tratamiento con NPs de Ag (5 mg L^{-1}), en soluciones pulso. Según Okafor *et al*. (2013), concentraciones de 4 ppm de NPs de Ag sintetizadas con extractos vegetales (aloe, geranio, magnolia y cohosh negro) y con un tamaño de 3-9 nm, inhibieron el crecimiento bacteriano de *E. coli*.

En un estudio previo todos los tratamientos presentaron crecimiento bacteriano en la solución, pero los tratamientos con 1, 5 y 10 ppm de NPs de Ag (21.5 nm) sintetizadas con extracto acuoso de *C. sinensis* tuvieron actividad antimicrobiana que evitó la oclusión de un gran número de vasos del xilema (datos no presentados). Okafor *et al*. (2013) observaron que las NPs de Ag sintetizadas con extracto de aloe tuvieron la mayor actividad antibacterial comparada con los tratamientos con 2 y 4 ppm de NPs de Ag (3-9 nm) sintetizadas con extracto de geranio, magnolia y cohosh negro. Según Jowkar *et al.* (2013), no hubo crecimiento microbiano en soluciones florero tratadas con 1, 2.5 y 5 % de NPs de Ag, pero estas concentraciones son más altas que las de nuestro estudio. Sin embargo, Carrillo *et al*. (2016) reportaron que soluciones florero con 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 y 5 mM de NPs de Ag (10.3 nm) no presentaron UFC en la solución. Reid y Jiang (2012) mencionaron que la reducción del pH de la solución, ya sea con ácido cítrico o $Al_2(SO_4)_3$, ayuda a reducir el crecimiento bacteriano, pero es insuficiente por sí mismo porque levaduras acidófilas y bacterias pueden rápidamente colonizar la solución florero.

Se propone que no todas las especies de microorganismos afectan de la misma forma a la vida de florero. Zagory y Reid (1986) observaron que una levadura no identificada causó más daño en la vida de florero de clavel (*Dianthus caryophyllus*) con un inóculo de 10^3 UFC mL^{-1} que *Pseudomonas* sp. con un inóculo de 10^6 UFC mL^{-1}.

and Jiang (2012) mentioned that reducing the pH of the solution, either with citric acid or Al2 $(SO_4)_3$, helps to reduce bacterial growth, but it is insufficient in itself because acidophilic yeasts and bacteria can quickly colonize the vase solution.

It follows that not all species of microorganisms affect vase life in the same way. Zagory and Reid (1986) observed that an unidentified yeast caused more damage in the vase life of carnation (*Dianthus caryophyllus*) with an inoculum of 103 CFU mL^{-1} than Pseudomonas sp. with an inoculum of 106 CFU mL^{-1}.

CONCLUSIONS

The addition of aqueous extract of *Camellia sinensis* in a solution of $AgNO_3$, with exposure to sunlight, produced Ag NPs of quasi-spherical forms, with uniform size distribution. The NPs obtained were stable for 14 months stored at 4°C, which was corroborated with the presence of the SPR in the solutions with Ag NPs. The Ag NPs did not cause the total elimination of mesophilic aerobic bacteria in the vase solutions, but the increase in CFUs between the first and second counting was lower in the solutions with Ag NPs than in the control.

The sucrosesucrose treatments showed a higher number of CFU in the solution and shorter vase life. The addition of Ag NPs and citric acid to the vase solutions improved the quality of the stems; the opening period lengthened, and there was greater water absorption by the stem and vase life.

A low concentration of Ag NPs allowed to improve the quality of the vase life of stems of *Rosa hybrida* cv. Freedom. But it is necessary to formulate alternatives for the use of Ag NPs in vase solutions based on drinking water, as it is the one used by local farmers and final consumers. However, the concentration of 1 ppm of Ag NPs is low and more studies are required to evaluate the impact of these nanoparticles on the environment.

—End of the English version—

CONCLUSIONES

La adición de extracto acuoso de *Camellia sinensis* en una solución de $AgNO_3$, con exposición a luz solar, produjo NPs de Ag de formas cuasiesféricas, con distribución de tamaños uniformes. Las NPs obtenidas fueron estables durante 14 meses almacenadas a 4 °C, lo cual se corroboró con la presencia del plasmón de resonancia superficial en las soluciones con NPs de Ag. Las NPs de Ag no ocasionaron la eliminación total de las bacterias aeróbicas mesófilas en las soluciones florero, pero el aumento de las UFC entre el primer y el segundo conteo fue menor en las soluciones con NPs de Ag que en el testigo.

Los tratamientos con sacarosa presentaron mayor número de UFC en la solución y menor vida de florero. La adición de NPs de Ag y ácido cítrico a las soluciones florero mejoró la calidad de los tallos; el periodo de apertura se alargó, y hubo mayor absorción de agua por el tallo y vida de florero.

Una baja concentración de NPs de Ag permitió mejorar la calidad de la vida de florero de tallos de *Rosa hybrida* cv. Freedom. Pero es necesaria la formulación de alternativas para el uso de NPs de Ag en soluciones florero a base de agua potable, por ser la usada por los productores locales y los consumidores finales. No obstante, la concentración de 1 ppm de NPs de Ag es baja y se requieren más estudios para evaluar el impacto de las disposiciones de estas nanopartículas en el ambiente.

LITERATURA CITADA

Allafchian, A. R., S. Z. Mirahmadi-Zare, S. A. H. Jalali, S. S. Hashemi, and M. R. Vahabi. 2016. Green synthesis of silver nanoparticles using phlomis leaf extract and investigation of their antibacterial activity. J. Nanostruct. Chem. 6: 129–135.

Asgari, M., M. H. Azimi, Z. Hamzehi, S. N. Mortazavi, and F. Khodabandelu. 2013. Effect of nano-silver and sucrose on vase life of Tuberose (*Polianthes tuberosa* cv. peril) cut flowers. Intl. J. Agron. Plant Prod. 4: 680–687.

Baskaran, X., A. V. Geo V., T. Parimelazhagan, D. Muralidhara-Rao, and S. Zhang. 2016. Biosynthesis, characterization, and evaluation of bioactivities of leaf extract-mediated biocompatible silver nanoparticles from an early tracheophyte, *Pteris tripartita* Sw. Int. J. Nanomedicine 11: 5789–5806.

Begum, A. A., S. Mondal, S. Basu, R. A., and Mandal Debabrata. 2009. Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of black tea leaf extracts. Colloids Surf B Biointerfaces 71: 113-118.

Boruah, S. K., P. K. Boruah, P. Sarma, C. Medhi, and O. K. Medhi. 2012. Green synthesis of gold nanoparticles using *Camellia sinensis* and kinetics of the reaction. Adv. Mat. Lett. 3: 481–486.

Brahmachari, G., S. Sarkar, R. Ghosh, S. Barman, N. C. Mandal, S. K. Jash, B. Banerjee, and R. Roy. 2014. Sunlight-induced rapid and efficient biogenic synthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. with enhanced antibacterial activity. Org. Med. Chem. Lett. 4:18.

Cao, G., and Y. Wang. 2011. Nanostructures and nanomaterials: synthesis, properties, and applications. World Scientific. Singapore. 581 p.

Carrillo L., L. M., A. Morgado G., and A. Morgado G. 2016. Biosynthesized silver nanoparticles used in preservative solutions for *Chrysanthemum* cv. Puma. J. Nanomater 2016. https://doi.org/10.1155/2016/1769250

Carrillo L., L. M., H. A. Zavaleta M., A. Vilchis N., R. M. Soto H., J. Arenas A., L. I. Trejo T., and F. Gómez M. 2014. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Chenopodium ambrosioides*. J Nanomater 2014. https://doi.org/10.1155/2014/951746

De la Cruz G., G. H., M. L. Arévalo G., C. B. Peña V., A. M. Castillo G., M. T. Colinas L., y M. Mandujano P. 2015. Influencia del índice de cosecha en la vida de florero de siete cultivares de *Rosa hybrida*. Agroproductividad 8: 3 - 11.

Geshnizjany, N., A. Ramezanian, and M. Khosh-khui. 2014. Postharvest life of cut gerbera (*Gerbera jamesonii*) as affected by nano-silver particles and calcium chloride. Int. J. Hort. Sci. Technol. 1: 171–180.

Halevy, A. H., and S. Mayak. 1981. Senescence and postharvest physiology of cut flowers-part 2. *In*: Jules, J. (ed). Horticultural Reviews. John Wiley & Sons. pp: 59–143.

Hayat, S., N. U. Amin, M. A. Khan, T. M. A. Soliman, M. Nan, K. Hayat, I. Ahmad, M. R. Kabir, and L. J. Zhao. 2012. Impact of silver thiosulfate and sucrose solution on the vase life of rose cut flower cv. cardinal. Adv. Environ. Biol. 6: 1643–1649.

Hernández H., F., M. L. Arévalo G., M. T. Colinas L., H. A. Zavaleta M., y J. Valdes C. 2009. Diferencias anatómicas y uso de soluciones de pulso en dos cultivares de rosa (*Rosa* sp.). Rev. Chapingo Ser. Hortic. 15:11–16.

Hussain, S., and Z. Khan. 2014. Epigallocatechin-3-gallate-capped Ag nanoparticles: preparation and characterization. Bioprocess Biosyst. Eng. 37: 1221–1231.

Jain, D., H. K. Daima, S. Kachhwaha, and S. L. Kothari. 2009. Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their anti-microbial activities. Dig. J. Nanomater Biostruct. 4: 723-727.

Jowkar, M. M., M. Kafi, A. Khalighi, and N. Hasanzadeh. 2012. Reconsideration in using citric acid as vase solution preservative for cut rose flowers. Curr. Res. J. Biol. Sci. 4: 427–436.

Jowkar, M. M., A. Khalighi, M. Kaf,i and N. Hassanzadeh. 2013. Nano silver application impact as vase solution biocide on postharvest microbial and physiological properties of "Cherry Brandy". JFAE 11: 1045–1050.

Kamal, S. S. K., P. K. Sahoo, J. Vimala, M. Premkumar, S. Ram, and L. Durai. 2010. A novel green chemical route for synthesis of silver nanoparticles using *Camellia sinensis*. Acta Chim. Slov. 57: 808–812.

Iravani, S., H. Korbekandi, S.V. Mirmohammadi, and B. Zolfaghari. 2014. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. Res. Pharm. Sci. 9: 385–406.

Ider M., K. Abderrafi, A. Eddahbi, S. Ouaskit, and A. Kassiba. 2016. Rapid synthesis of silver nanoparticles by microwave-polyol method with the assistance of latex copolymer. J. Clust. Sci. DOI 10.1007/s10876-016-1096-6.

Liu, J., S. He, Z. Zhang, J. Cao, P. Lv, S. He, G. Cheng, and D. C. Joyce. 2009. Nano-silver pulse treatments inhibit stem-end bacteria on cut gerbera cv. Ruikou flowers. Postharvest Biol. Technol. 54: 59–62. doi: 10.1016/j.postharvbio.2009.05.004

Liu, J., K. Ratnayake, D. C. Joyce, S. He, and Z. Zhang. 2012. Effects of three different nano-silver formulations on cut *Acacia holosericea* vase life. Postharvest Biol. Technol. 66: 8–15. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.11.005.

Loo, Y. Y., B. W. Chieng, M. Nishibuchi, and S. Radu. 2012. Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis*. Int. J. Nanomedicine 7: 4263–4267.

Lü, P., J. Cao., S. He, J. Liu, H. Li, G. Cheng, Y. Ding, and D. C. Joyce. 2010. Nano-silver pulse treatments improve water relations of cut rose cv. Movie Star flowers. Postharvest Biol. Technol. 57: 196–202. doi:10.1016/j.postharvbio.2010.04.003

Macnish, A. J., R. T. Leonard and T. A. Nell. 2008. Treatment with chlorine dioxide extends the vase life of selected cut flowers. Postharvest Biol. Technol. 50: 197–207. doi: 10.1016/j.postharvbio.2008.04.008

Monge, M. 2009. Nanopartículas de plata : métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. An. Quím. 105: 33-41.

Murugan K., B. Senthilkumar, D. Senbagam, and S. Al-Sohaibani. 2014. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Acacia leucophloea* extract and their antibacterial activity. Int. J. Nanomedicine 9: 2431–2438.

Nakhjavani, M., V. Nikkhah, M. M. Sarafraz, S. Shoja, and M. Sarafraz. 2017. Green synthesis of silver nanoparticles using green tea leaves: Experimental study on the morphological, rheological and antibacterial behaviour. Heat Mass Transfer. DOI 10.1007/s00231-017-2065-9

Murty, B. S., P. Shankar, B. Raj, B. B. Rath, and J. Murday. 2013. Textbook of Nanoscience and Nanotechnology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin. 244 p.

Nemati, S. H., A. Tehranifar, B. Esfandiari, and A. Rezaei. 2013. Improvement of vase life and postharvest factors of *Lilium orientalis* "bouquet" by silver nano particles. Not Sci. Biol. 5: 490–493.

Okafor, F., A. Janen, T. Kukhtareva, V. Edwards, and M. Curley. 2013. Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity. Int. J. Environ. Res. Public Health 10: 5221–5238.

Pastoriza S., I., and L. M. Liz M. 2002. Formation of PVP-protected metal nanoparticles in DMF. Langmuir 18: 2888-2894.

Rafi, Z. N., and A. Ramezanian. 2013. Vase life of cut rose cultivars 'Avalanche' and 'Fiesta' as affected by Nano-Silver and S-carvone treatments. S. African J. Bot. 86: 68-72.

Rastogi, L., and J. Arunachalam. 2011. Sunlight based irradiation strategy for rapid green synthesis of highly stable silver nanoparticles using aqueous garlic (*Allium sativum*) extract and their antibacterial potential. Mater. Chem. Phys. 129: 558–563.

Reid, M., and A. Kofranek. 1980. Postharvest physiology of cut flowers. Chronica Horticulturae 20: 25-27.

Reid, M. S., and C. Z. Jiang. 2012. Postharvest biology and technology of cut flowers and potted plants. *In*: Janick, J. (ed). Horticultural Reviews. John Wiley & Sons. pp: 1-54.

Rico M., A., A. R. Vilchis N., V. Sánchez M., M. Avalos B., and M. A. Camacho L. 2010. Biosíntesis de nanopartículas de oro mediante el extracto de *Opuntia ficus-indica*. Superficies y Vacío 23: 94–97.

Sadowski, Z. 2010. Biosynthesis and application of silver and gold nanoparticles. *In*: Pozo P., D. (ed). Silver Nanoparticles. CC BY-NC-SA. pp: 257–277.

Safa, Z., D. Hashemabadi, B. Kaviani, N. Nikchi, and M. Zarchini. 2015. Studies on quality and vase life of cut *Gerbera jamesonii* cv. "Balance" flowers by silver nanoparticles and chlorophenol. J. Environ. Biol. 36: 425–431.

Shankar, S. S., A. Rai, A. Ahmad, and M. Sastry. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. J. Colloid Interface Sci. 275: 496-502.

Solgi, M., and M. Taghizadeh. 2012. Silver nanoparticles ecofriendly synthesis by two medicinal plants. Int. J. Nanomater and Biostructures 2: 60–64. doi: 10.1016/j.postharvbio.2009.04.003

Solgi, M., M. Kafi, T. S. Taghavi, and R. Naderi. 2009. Essential oils and silver nanoparticles (SNP) as novel agents to extend vase-life of gerbera (*Gerbera jamesonii* cv. "Dune") flowers. Postharvest Biol. Technol. 53: 155–158.

Sun, Q., X. Cai, J. Li, M. Zheng, Z. Chen, and C. P. Yu. 2014. Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. Colloids Surf A Physicochem. Eng. Asp. 444: 226–231.

Tejeda S., O., y M. L. Arévalo G. La floricultura, una opción económica rentable para el minifundio mexicano. Agroproductividad 5: 11-19.

van Doorn, W. G. 1997. Water Relations of Cut Flowers. Jules, J. (ed). John Wiley & Sons. pp:1-85.

van Doorn, W. G., and M. S. Reid. 1995. Vascular occlusion in stems of cut rose flowers exposed to air: role of xylem anatomy and rates of transpiration. Physiol. Plant. 93: 624–629.

van Vliet, C. 2004. Mexican growers start to apply heat in US. FlowerTECH 7: 6-9.

Vilchis, N., A. R., V. Sánchez M., M. A. Camacho L., R. M. Gómez E., M. A. Camacho L., and J. A. Arenas A. 2008. Solventless synthesis and optical properties of Au and Ag nanoparticles using *Camellia sinensis* extract. Materials Lett. 62: 3103–3105.

Zagory, D., and M. S. Reid. 1986. Role of vase solution microorganisms in the life of cut flowers. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 111: 154-158.