

EFFECTO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SOBRE CRECIMIENTO, PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS Y ACTIVIDAD PEROXIDASA DE PLANTAS DE ROSAL

Effect of Ascorbic Acid on Growth, Photosynthetic Pigments and Peroxidase Activity of Rosebush

Silvia Lizbeth Herrera-Martínez¹, Martha Elena Mora-Herrera^{1‡}, Rómulo García-Velasco¹, Janet Gomora-Rasso¹ y Gloria Rogel-Millán¹

RESUMEN

El ácido ascórbico (AA) participa en muchos procesos fisiológicos tales como: fotosíntesis, cofactor enzimático, homeostasis del sistema redox, precursor en las rutas de síntesis de moléculas del metabolismo primario y secundario, entre otras funciones. En el presente trabajo, se evaluó el efecto del AA en plantas de rosal variedad Fetera® en condiciones de invernadero. El objetivo fue evaluar el efecto de la molécula antioxidante AA como un compuesto alternativo involucrado en las respuestas de crecimiento, contenido de pigmentos fotosintéticos y actividad enzimática de la peroxidasa (POX), en el cultivo de rosal variedad Fetera®. Las plantas se asperjaron dos veces por semana con 0, 600 y 1200 mg L⁻¹ de AA durante cinco meses. El tratamiento de AA incrementó la longitud y el diámetro del tallo, así como el número de brotes laterales en las plantas de rosal. Las plantas asperjadas con AA mostraron incremento de los pigmentos fotosintéticos y la actividad enzimática de la POX. Los avances de este trabajo indican que el AA puede ser un compuesto potencialmente útil para incrementar el crecimiento del cultivo de rosal.

Palabras clave: moléculas señal, ornamentales, manejo integrado de cultivo.

SUMMARY

Ascorbic acid (AA) is involved in many physiological processes such as photosynthesis and

redox homeostasis. It also functions as enzyme cofactor and precursor of molecule synthesis routes in primary and secondary metabolism. The effect of AA on rosebush (*Rosa* sp) FeteraTM variety in the greenhouse was studied as an antioxidant molecule and as an alternative compound involved in growth responses. Also studied were photosynthetic pigment content and enzymatic activity of POX in improvement of crop yield. Plants were sprayed twice weekly with 0, 600 and 1200 mg L⁻¹ for five months. There was a positive trend in height, diameter and number of lateral buds. There was also an increase in photosynthetic pigments and POX enzyme activity. The partial results of this study indicate that AA is a potentially useful compound for increasing growth of rosebushes.

Index words: signal molecule, ornament plants, integrated crop mangement.

INTRODUCCIÓN

El rosal, actualmente es el cultivo florícola con mayor superficie cultivada bajo invernadero en el Estado de México, cuenta con una superficie de 668 ha que corresponden a un volumen de producción de 5 302 996 toneladas, principalmente en los municipios de Villa Guerrero, Tenancingo y Coatepec Harinas (SIAP, 2010). En 2008, en el Estado de México se cultivaron 646 ha de rosales, siendo los municipios de Villa Guerrero y Tenancingo los mayores productores, tan solo en ambos municipios se cultivaron 550 ha (SAGARPA, 2008). El rosal es la planta de jardín más popular en el mundo y comercialmente es una de las más importantes como flor de corte (Yamada *et al.*, 2007). La producción de la rosa es altamente dependiente de insumos químicos, lo que ha propiciado un incremento en el costo de producción y un alto impacto ambiental. En los últimos años se ha propuesto el uso de moléculas señal como el ácido ascórbico

¹ Centro Universitario UAEM Tenancingo. Ex-Hacienda de Santa Ana, Carretera Tenancingo-Villa Guerrero Km 1.5. 52400 Tenancingo, México.

[‡] Autor responsable (marthaelenam@gmail.com)

(AA), ácido salicílico (AS) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), entre otros, para incrementar la calidad y productividad del cultivo, dichas moléculas son económicas e inocuas (Mora-Herrera *et al.*, 2011).

El AA está presente en cloroplastos, citosol, vacuolas y espacio apoplástico. El AA es quizás el antioxidante no enzimático más importante en las plantas, que participa en la defensa contra el estrés oxidativo biótico y abiótico por su función en la degradación del H_2O_2 vía el ciclo del glutatión-ascorbato (Smirnoff, 1996). El AA también participa en otros procesos fisiológicos tales como: fotosíntesis, cofactor enzimático, homeostasis del sistema redox, precursor en las rutas de síntesis de moléculas del metabolismo primario y secundario (Smirnoff, 1996) y regulador de la actividad enzimática de las peroxidasas (Sánchez *et al.*, 1997; Stasolla y Yeung, 2007). Además está involucrado en el crecimiento, desarrollo y modulación del ciclo celular así como de la división y elongación celular (De Pinto y De Gara, 2004).

Existen evidencias de que el AA aplicado exógenamente en algunos cultivos promueve el crecimiento, lo que lleva a un mejor rendimiento (El-Tohamy *et al.*, 2008); se ha demostrado que esto está asociado con un incremento en los pigmentos fotosintéticos, en canola (Sakr y Arafa, 2009), papa (Romero-Romero y López-Delgado, 2009), berenjena (Abd El-Aziz *et al.*, 2006) y crisantemo (Mora-Herrera *et al.*, 2011). Por otro lado, las POX participan en varias funciones fisiológicas de las plantas tales como: lignificación, entrecruzamiento de polisacáridos de la pared celular, oxidación del ácido indolacético, regulación de la elongación celular y oxidación de fenoles ligados al crecimiento (Yoshida *et al.*, 2003).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del ácido ascórbico sobre el contenido de pigmentos fotosintéticos, actividad enzimática de la POX, y crecimiento vegetal del cultivo del rosal variedad Fetera®.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en un invernadero semi-tecnificado en el Centro Universitario Tenancingo de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), ubicado en el Km 1.5 de la carretera

Tenancingo-Villa Guerrero, Estado de México, en los 18° 57' N y 99° 35' O, a una altitud de 2066 m.

Como material biológico se utilizaron plantas de rosal (*Rosa* sp, variedad Fetera®) sembradas en camas de suelo enriquecido con materia orgánica y cascarilla de cebada en septiembre de 2010, como se realiza en la región, establecidas en el invernadero de rosa para investigación del Centro Universitario UAEM Tenancingo. El experimento se llevó a cabo en los meses de marzo a julio de 2011.

Aspersiones de Ácido Ascórbico

Se hicieron soluciones de ácido ascórbico (Reasol) con concentraciones de 0 (testigo), 600 y 1200 mg L⁻¹ ajustadas a un pH 5.6 con KOH 1N, las cuales se prepararon 24 horas antes de las aplicaciones para que el AA quedara en su forma oxidada (Dehidroascorbato DHA) y se les agregó polisorbato 20 (Tween, Reasol) como surfactante al 0.01% (Mora-Herrera *et al.*, 2011). Las aspersiones se hicieron sobre el haz de las hojas de la planta de rosal (35 mL por planta) dos veces por semana durante el tiempo que duro el experimento. Las aspersiones se realizaron en basales en pleno desarrollo vegetativo hasta floración.

La aplicación se realizó con gota fina usando un aspersor manual (Venus-Pro) con capacidad de 2 L, con boquilla de cono.

Parámetros Evaluados

Las variables evaluadas fueron: actividad enzimática de la peroxidasa (POX) y pigmentos fotosintéticos, así como número de yemas por tallo, número de laterales, altura y grosor de los tallos. Todas las variables fueron evaluadas tres meses después de iniciada la aplicación de AA. El experimento se realizó con 90 plantas (30 plantas por tratamiento).

Cuantificación de la actividad enzimática de la Peroxidasa (POX). La extracción de proteína se realizó de acuerdo al método de Anderson *et al.* (1995); se maceró un fragmento (100 mg) apical de hoja madura de la parte central del tallo principal. La proteína total se extrajo en una proporción de 1:4 mL con el amortiguador de fosfato de potasio (Baker; 50 mM, ajustado a un pH 7.2) conteniendo 5 mM de dithiothreitol (Sigma; DTT), 1 mM de ácido etilen

diamino tetracético (Sigma; EDTA) y 2% de polyvinyl pirrolidona (Baker; PVP). El extracto se centrifugó a 10 000 rpm durante 10 minutos y se mantuvieron a una temperatura de 4 °C. El sobrenadante se usó para cuantificar proteína y actividad enzimática de la POX. La actividad enzimática de la POX se midió de acuerdo al método descrito por Mora Herrera *et al.* (2011), en una mezcla de reacción con amortiguador de fosfato de sodio 50 mM ajustado a un pH 7.0, 3.33 mM de guaiacol, 4 mM de H₂O₂ y 0.020 mL del sobrenadante de la muestra en un volumen final de 3 mL. La reacción se inició con la adición del sobrenadante. La oxidación del sustrato (guaiacol) se midió por el incremento en la absorbancia a 470 nm durante tres minutos en intervalos de 30 seg.

Para expresar la actividad enzimática de la POX se usó el coeficiente de extinción del guaiacol $\epsilon = 2.6 \text{ mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$, en la ecuación $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} = (\epsilon) (\text{volumen final/volumen de la muestra}) (\text{mg de proteína})$. La cuantificación de proteína se realizó con un espectrofotómetro tipo nanodrop (Thermo Científica) usando una longitud de onda de 280 nm.

Cuantificación de los pigmentos fotosintéticos.

La cuantificación de los pigmentos fotosintéticos se hizo de acuerdo al método de Lichtenthaler y Wellburn (1983). Para ello 50 mg de tejido de hojas maduras tomadas de la parte central del tallo principal, se maceraron en 2 mL de acetona previamente refrigerada (4 °C) al 80%. El extracto se centrifugó a 2500 rpm durante 10 min en una centrífuga Eppendorf AG, 22331 Hamburg y el sobrenadante se recuperó y ajustó a 2 mL. Se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Thermo scientific, Genesys 10-S) a 470, 646 y 663 nm. Las concentraciones de clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), xantofilas y carotenoides (x+c) se calcularon empleando las fórmulas:

$$\text{Chl}_a = 12.21 A_{663} - 2.81 A_{646}$$

$$\text{Chl}_b = 20.13 A_{646} - 5.03 A_{663}$$

$$C_{x+c} = (1000 A_{470} - 3.27 [\text{Chl}_a] - 107 [\text{Chl}_b])/229$$

Los resultados obtenidos se expresan en mg g⁻¹ de peso fresco (PF).

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 90 plantas divididas en tres bloques con 10 plantas por tratamiento. Se consideraron 10 plantas de rosal como la unidad experimental. Con los datos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$) mediante el programa estadístico StarGraphics plus versión 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plantas de rosal variedad Fetera® tratadas con AA 1200 mg L⁻¹, mostraron un incremento en la longitud y el diámetro del tallo principal, así como yemas y laterales, con respecto al tratamiento testigo (Cuadro 1), este incremento en el crecimiento vegetal puede llevar a un posible aumento en la productividad mediante el manejo del cultivo indicado. La función del AA aplicado de forma exógena en el incremento de la productividad, también fue reportado en caobas, en donde las aspersiones de AA contrarrestaron el efecto de la salinidad ayudando a la división, elongación celular y actividad meristemática (Abd El-Aziz *et al.*, 2006). En la berenjena se reportó que el AA incrementó número de hojas, de ramas y peso fresco de las plantas (El-Tohamy *et al.*, 2008). En el trigo las aspersiones de AA favorecieron

Cuadro 1. Efecto del ácido ascórbico (AA) en la longitud y diámetro del tallo, número de yemas y laterales en plantas de rosal variedad Fetera®.

Tratamiento de ácido ascórbico	Longitud	Diámetro del tallo	Número de yemas por tallo	Número de brotes laterales
mg L ⁻¹	cm	mm		
Testigo 0	27.68 ± 1.66 b [†]	6.29 ± 0.27 b	1.85 ± 0.15 a	2.96 ± 0.30 c
600	26.96 ± 1.58b	6.50 ± 0.27 b	1.34 ± 0.08 b	2.72 ± 0.24 b
1200	30.00 ± 1.73 a	6.99 ± 0.27 a	1.86 ± 0.15 a	3.66 ± 0.33 a

Los resultados son el promedio de 30 plantas por tratamiento. ± e. s. † valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

la capacidad fotosintética en las hojas e incrementaron la actividad enzimática de la catalasa, aún en condiciones salinas (Athar *et al.*, 2008). En gladiolos el AA ayudó en el desarrollo vegetativo aumentando el número de hojas y el crecimiento de las plantas, e induciendo la floración (Abd El Aziz *et al.*, 2009); en tubérculos de papa el AA aumenta pigmentos fotosintéticos y la productividad en el cultivo (Romero-Romero y López-Delgado, 2009); en haba el AA favoreció el desarrollo vegetativo (Younis *et al.*, 2009) y en crisantemo el AA favoreció significativamente la longitud del tallo, peso seco, número de botones y tallos por planta con respecto al testigo (Mora-Herrera *et al.*, 2011). Con estas evidencias y los resultados obtenidos en el cultivo del rosal en esta investigación, se demuestra la función del AA en favorecer el desarrollo y crecimiento de un gran número de cultivos.

Por lo que se sugiere que este compuesto sea incluido en el manejo integrado del cultivo de rosa, ya que el incremento de la productividad depende de la cantidad de área foliar activa, así como la calidad del

tallo floral depende de la longitud y grosor, variables que fueron incrementadas con AA a dosis de 1200 mg L⁻¹; además, su aplicación es económica e inocua al ambiente y a la salud como lo menciona Mora-Herrera *et al.* (2011). Autores como Davey *et al.* (2000) y Pastori *et al.* (2003), señalan que al AA favorece la lignificación, división celular y en la respuesta de la planta al ataque de patógenos.

El tratamiento de AA 1200 mg L⁻¹ incrementó significativamente el contenido de la clorofila *b*, con respecto al testigo (Figura 1). Es posible que el AA asperjado a las plantas de rosal en el presente experimento, haya participado en varios eventos fisiológicos induciendo incremento en el desarrollo debido a que el AA participa en actividades biológicas en la célula vegetal como: a) cofactor de enzimas, b) fotoprotector, c) donador/dador de electrones en las reacciones de la membrana plasmática o en los cloroplastos, d) crecimiento de la pared celular, e) elongación celular y resistencia a diferentes tipos de estrés abióticos (Smirnoff, 1996; Smirnoff y Wheeler, 2000; Davey *et al.*, 2000).

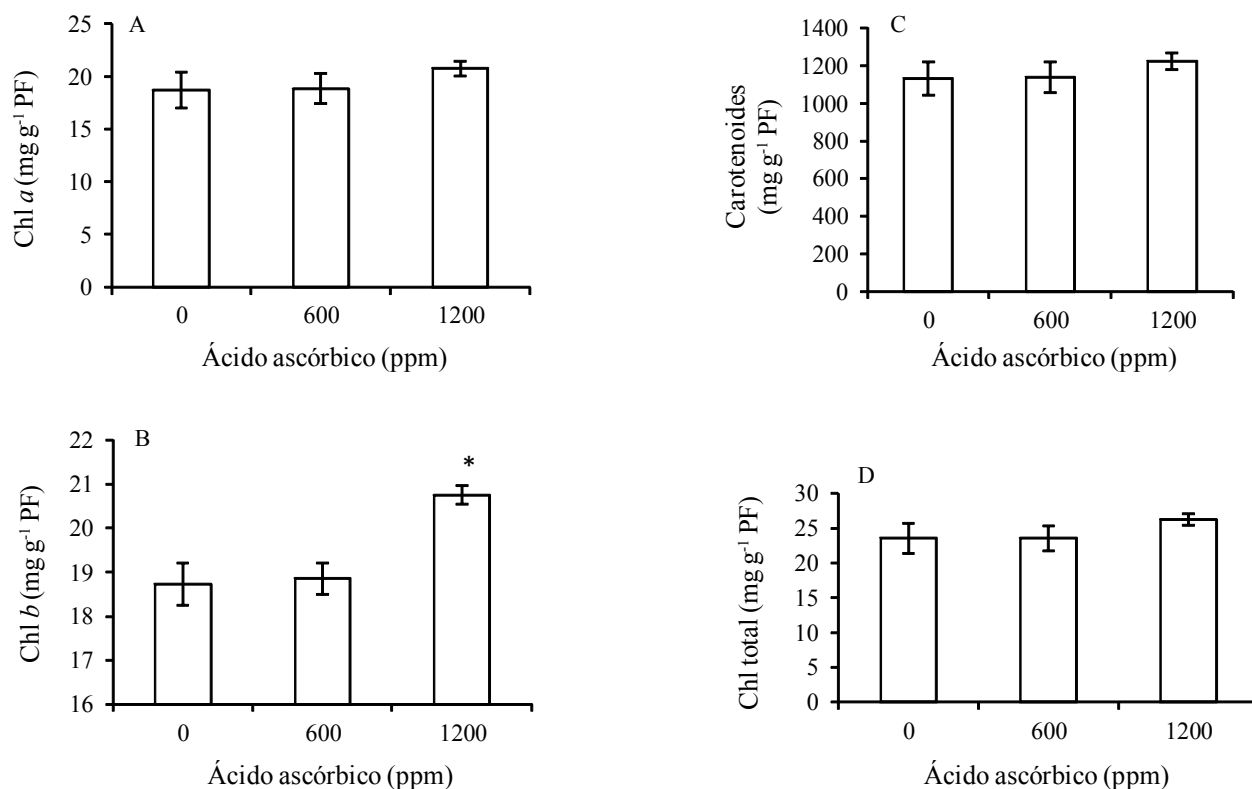


Figura 1. Efecto del ácido ascórbico (AA) en pigmentos fotosintéticos: A) Clorofila a, B) Clorofila b, C) Carotenoides y D) Clorofila total en plantas de rosal variedad Fetera®. Los resultados son el promedio de 9 muestras medidas por triplicado por tratamiento ± e.s. (*) Significativamente diferentes con respecto al testigo (Tukey, 0.05).

La importancia de los pigmentos fotosintéticos en el desarrollo y crecimiento de las plantas es primordial debido a su participación en la fotosíntesis y por lo tanto en la producción de fotosintatos (Smirnoff, 1996). Se ha demostrado que el AA asperjado en plantas de soja acelera los procesos fotosintéticos (Golan-Goldhirsh *et al.*, 1995) a través de la inducción del contenido de clorofila (Dolatabadian y Jouneghani, 2009; Khan *et al.*, 2010), lo que lleva a incrementar los azúcares reductores (Abd El-Aziz *et al.*, 2006). Por lo que en este trabajo, el incremento de la clorofila *b* mediada por AA observada en el cultivo de rosal, coadyuvó al incremento vegetativo encontrado en el cultivo.

Se demostró que en plantas de berenjena, el AA asperjado incrementa el contenido de N (nitrógeno), P (fosforo) y K (potasio) lo que está implicado en el crecimiento y desarrollo (Abd El-Aziz *et al.*, 2006; El-Tohamy *et al.*, 2008). De acuerdo a Smirnoff (1996), el AA tiene una función central en la fotosíntesis como disipador de electrones, principalmente en el exceso de luz. Y una de las funciones de la clorofila *b* es la de disipar energía durante la radiación, por lo que el AA indujo este pigmento como parte de su función en la fotosíntesis.

Con respecto a la actividad enzimática de la POX, se encontró que esta tuvo un incremento en las plantas

de rosal variedad Fetera® tratadas con 600 mg L⁻¹ de AA con respecto al testigo (Figura 2). Este resultado confirma la función de señal del AA, donde concentraciones bajas pueden generar respuestas que varían de acuerdo al cultivo y condiciones experimentales (Smirnoff, 1996; Romero-Romero y López-Delgado, 2009). Así, se ha encontrado que en trigo (Khan *et al.*, 2006; Athar *et al.*, 2008), canola (Dolatabadian *et al.*, 2008) y frijol (Dolatabadian y Jouneghani, 2009) la aplicación de AA no modifica la actividad enzimática de la POX, aunque afecta otras enzimas antioxidantes (Athar *et al.*, 2008). Mientras que, en crisantemo la aplicación de AA sí incrementa la actividad de la POX (Mora-Herrera *et al.*, 2011). Algunas de las funciones fisiológicas de las peroxidasas en las plantas son: a) participación en la biosíntesis del etileno, b) defensa contra infecciones, c) cicatrización y d) lignificación de la pared celular (McInnis *et al.*, 2006). De ahí la importancia de que el AA favorezca la inducción de la actividad de la POX en el cultivo del rosal.

De acuerdo a resultados de investigaciones similares la actividad enzimática de la POX va a depender además de la concentración de aplicación, de la forma y número de aplicaciones, del tipo y etapa fenológica del cultivo tratado, entre otros factores.

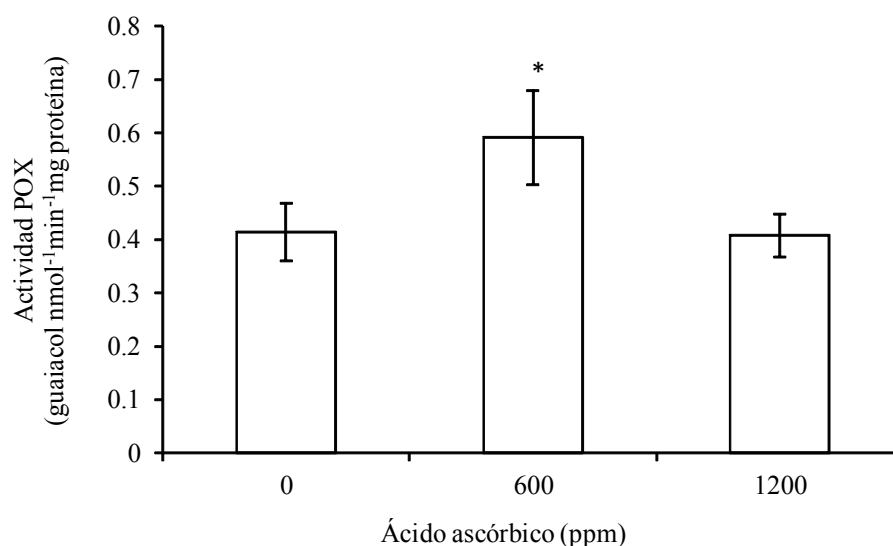


Figura 2. Respuesta de la aplicación de ácido ascórbico sobre la actividad enzimática de la POX en plantas de rosal variedad Fetera®. (*) Significativamente diferentes con respecto al testigo (Tukey, 0.05).

CONCLUSIONES

La aplicación del ácido ascórbico (AA) en el cultivo de rosa incrementó pigmentos fotosintéticos y la actividad enzimática de la peroxidasa (POX), reflejándose en mayor longitud y diámetro de tallos, así como mayor número de yemas y brotes laterales.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada gracias a la beca otorgada por la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMex) para el proyecto 3098/2011.

LITERATURA CITADA

- Abd El-Aziz, N. G., A. A. M. Mazher, and E. El-Habba. 2006. Effect of foliar spraying with ascorbic acid on growth and chemical constituents of *Khaya senegalensis* grown under salt condition. *Am. Euras. J. Agric. Environ. Sci.* 1: 207-214.
- Abd El-Aziz, N. G., S. TahaLobna, and M. M. I. Soad. 2009. Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus plants at nubaria. *Ozean J. Appl. Sci.* 2: 169-179.
- Anderson, M. D., T. K. Prasad, and C. R. Stewart. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol.* 109: 1247-1257.
- Athar, H. u R., A. Khan, M. and Ashraf. 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environ. Exp. Bot.* 63: 224-231.
- Davey, M., M. Van Montagu, D. Inzé, M. Sanmartín, A. Kanellis, N. Smirnoff, I. J. J. Benzie, J. J. Strain, D. Favell, and J. Fletcher. 2000. Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J. Sci. Food Agric.* 80: 825-860.
- De Pinto, M. C. and L. De Gara. 2004. Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation. *J. Exp. Bot.* 55: 2559-2569.
- Dolatabadian, A., S. A. M. M. Sanavy, and N. A. Chashmi. 2008. The effects of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. *J. Agron. Crop Sci.* 194: 206-213.
- Dolatabadian, A. and R. S. Jouneghani. 2009. Impact of exogenous ascorbic acid on antioxidant activity and some physiological traits of common bean subjected to salinity stress. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj-Napoca* 37: 165-172.
- El-Tohamy, W. A., H. M. El-Abagy, and N. H. M. El-Greadly. 2008. Studies on the effect of putrescine, yeast and vitamin C on growth, yield and physiological responses of eggplant (*Solanum melongena* L.) under sandy soil conditions. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2: 296-300.
- Golan-Goldhirsh, A., A. Mozafar, and J. J. Oerti. 1995. Effect of ascorbic acid on soybean seedlings grown on medium containing a high concentration of copper. *J. Plant Nutr.* 18: 1735-1741.
- Khan, A., M. S. Q. Ahmad, H. R. Athar, and M. Ashraf. 2006. Interactive effect of foliarly applied ascorbic acid and salt stress on wheat (*Triticum aestivum* L.) at the seedling stage. *Pak. J. Bot.* 38: 1407-1414.
- Khan, A., I. Iqbal, A. Shah, H. Nawaz, F. Ahmad, and M. Ibrahim. 2010. Alleviation of adverse effects of salt stress in Brassica (*Brassica campestris*) by Pre-sowing seed treatment with ascorbic acid. *Am. Euras. J. Agric. Environ. Sci.* 7: 557-560.
- Lichtenthaler, H. K. and A. R. Wellburn. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11: 591-592.
- McInnis, S. M., D. C. Emery, R. Porter, R. Desikan, J. T. Hancock, and S. J. Hiscock. 2006. The role of stigma peroxidases in flowering plants: insights from further characterization of a stigma-specific peroxidases (SSP) from *Senecio squalidus* (Asteraceae). *J. Exp. Bot.* 8: 1835-1846.
- Mora-Herrera, M. E., J. Peralta-Velázquez, H. A. López-Delgado, R. García-Velasco y J. G. González-Díaz. 2011. Efecto del ácido ascórbico sobre crecimiento, pigmentos fotosintéticos y actividad peroxidasa en plantas de crisantemo. *Rev. Chapingo Serie Horticul.* 17: 73-81.
- Pastori, G. M., G. Kiddle, J. Antoniw, S. Bernard, S. Veljovic-Javanovic, P. J. Verrier, G. Noctor, and C. M. Foyer. 2003. Leaf vitamin C contents modulate plant defense transcripts and regulate genes that control development through hormone signaling. *Plant Cell* 15: 939-951.
- Romero-Romero, M. T. and H. A. López-Delgado. 2009. Ameliorative effects of hydrogen peroxide, ascorbate and dehydroascorbate in *Solanum tuberosum* infected by phytoplasma. *Am. J. Pot. Res.* 86: 218-226.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2008. Producción de rosa a nivel nacional y por municipio. [http:// www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx) (Consulta: marzo 13, 2009).
- Sakr, M. T. and A. A. Arafa. 2009. Effect of some antioxidants on canola plants grown under soil salt stress condition. *Pak. J. Biol. Sci.* 12: 582-588.
- Sánchez, M., E. Queijeiro, G. Revilla, and I. Zarra. 1997. Changes in ascorbic acid levels in apoplastic fluid during growth of pine hypocotyls. Effects on peroxidase activities associated with cell walls. *Physiol. Plant.* 101: 815-820.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2010. Cierre de la producción agrícola. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350 (Consulta: febrero 15, 2012).
- Smirnoff, N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann. Bot.* 78: 661-669.
- Smirnoff, N. and G. Wheeler. 2000. Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function in photoprotection. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355: 1455-1464.
- Stasolla, C. and E. C. Yeung. 2007. Cellular ascorbic acid regulates the activity of mayor peroxidases in the apical poles of germinating white spruce (*Picea glauca*) somatic embryos. *Plant Physiol. Biochem.* 45: 188-198.

- Yamada, K., M. Ito, T. Oyama, M. Nakada, M. Maesaka, and S. Yamaki, S. 2007. Analysis of sucrose metabolism during petal growth of cut roses. *Postharv. Biol. Technol.* 43: 174-177.
- Yoshida, K., P. Kaothien, T. Matsui, A. Kawaoka, and A. Shinmyo. 2003. Molecular biology and application of plant peroxidase genes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60: 665-670.
- Younis, M. E., M. N. Hasaneen, and A. M. Kazament. 2009. Exogenously applied ascorbic acid ameliorates detrimental effects of NaCl and mannitol stress in *Vicia faba* seedlings. *Protoplasma* 239: 39-48.