

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO EN LA SOLUCIÓN
NUTRITIVA Y DEL HORARIO DE COSECHA SOBRE EL CONTENIDO DE
NITRATO EN HOJAS DE DOS CULTIVARES DE ACELGA DEL TIPO BABY,
BAJO SISTEMA HIDROPÓNICO**

MARÍA ANTONIA CONTRERAS FUENTES

SANTIAGO – CHILE

2015

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO EN LA SOLUCIÓN
NUTRITIVA Y DEL HORARIO DE COSECHA SOBRE EL CONTENIDO DE
NITRATO EN HOJAS DE DOS CULTIVARES DE ACELGA DEL TIPO BABY,
BAJO SISTEMA HIDROPÓNICO**

**EFFECT OF NITROGEN CONCENTRATION ON THE NUTRIENT SOLUTION AND
HARVEST TIME ON NITRATE CONTENT IN LEAVES OF TWO BABY SWISS
CHARD CULTIVARS, UNDER HYDROPONIC SYSTEM**

MARÍA ANTONIA CONTRERAS FUENTES

SANTIAGO – CHILE

2015

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

EFFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO EN LA SOLUCIÓN NUTRITIVA Y DEL HORARIO DE COSECHA SOBRE EL CONTENIDO DE NITRATO EN HOJAS DE DOS CULTIVARES DE ACELGA DEL TIPO BABY, BAJO SISTEMA HIDROPÓNICO

Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniera Agrónoma.

MARÍA ANTONIA CONTRERAS FUENTES

PROFESOR GUÍA

CALIFICACIÓN

Sr. Víctor Escalona C.
Ingeniero Agrónomo, Dr.

7,0

PROFESORES EVALUADORES

Sr. Ricardo Pertuzé C.
Ingeniero Agrónomo, Ph. D.

6,1

Sr. Osvaldo Salazar G.
Ingeniero Agrónomo, M.S. Ph. D.

6,7

COLABORADORES

Sra. María Luisa Tapia F.
Ingeniero Agrónomo, Mg. Cs.

Srta. Andrea Baeza V.
Ingeniero Agrónomo.

Santiago, Chile
2015

AGRADECIMIENTOS

Quisiera dar las gracias a todas las personas que estuvieron presentes durante la realización de esta memoria de título, a quienes me ayudaron, aconsejaron y muchas veces me orientaron en los momentos de estrés y aflicción, no solamente para llevar a cabo este trabajo, sino que a lo largo de toda mi carrera.

A mis profesores y ayudantes, principalmente a la profesora María Luisa Tapia y a Andrea Baeza, quienes se tomaron el tiempo para explicarme con paciencia y dedicación todo lo necesario para realizar mis ensayos.

Al laboratorio del CEPOC, a su director y mi profesor guía Víctor Escalona y todos sus integrantes, quienes me entregaron todas las herramientas necesarias para la realización de este proyecto.

A mis queridos amigos, Camila Ribalta, Luis Ramírez, Karla Carreño, Francisca Palacios y Luis Rivera, quienes se mantuvieron a mi lado a lo largo de todo el proyecto, brindándome un apoyo incondicional para los días y noches de largas mediciones.

A Felipe Quezada por todo su apoyo y amor entregado durante todo este tiempo y por los consejos que me sirvieron de mucha ayuda para terminar este trabajo.

Y finalmente a mi familia por el apoyo incondicional y el esfuerzo que han tenido que hacer durante estos años para que yo pueda realizarme como profesional y como una persona íntegra y de valores.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Hipótesis.....	7
Objetivo general	7
Objetivos específicos.....	7
MATERIALES Y MÉTODO	8
Lugar de estudio.....	8
Materiales	8
Metodología	9
Tratamientos y diseño de experimentos.....	9
Procedimiento	10
Parámetros evaluados.....	13
Largo y ancho de hoja.....	13
Color.....	13
Masa seca	13
Determinación de la concentración de nitrato.....	13
Determinación de la actividad de la nitrato reductasa.....	14
Análisis estadístico.....	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
<u>Ensayo 1</u> : Cultivar SCR107	16
Color.....	16
Masa seca	19
Concentración de nitrato.....	20
Actividad de la nitrato reductasa.....	24
<u>Ensayo 2</u> : Cultivar Oriole.....	26
Color.....	26
Masa seca.....	28
Concentración de nitrato.....	28
Actividad de la nitrato reductasa.....	32
CONCLUSIONES	35

BIBLIOGRAFÍA.....	36
--------------------------	-----------

APÉNDICES.....	42
-----------------------	-----------

Apéndice I.....	42
-----------------	----

Apéndice II.....	43
------------------	----

Apéndice III.....	44
-------------------	----

Apéndice IV.....	46
------------------	----

Apéndice V.....	59
-----------------	----

RESUMEN

El desarrollo de las hortalizas tipo “baby” se ha incrementado debido a su rápido procesamiento y su atractivo como producto gourmet. A pesar de estos beneficios, las elevadas concentraciones de nitrato en sus tejidos generarían graves problemas a la salud de sus consumidores. Para disminuir estas concentraciones, la dosis de fertilización nitrogenada y la determinación del momento correcto de cosecha son fundamentales. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la concentración de nitrato en hojas de dos cultivares de acelga tipo “baby” modificando la concentración de nitrógeno (N) en la solución nutritiva y el horario de cosecha. Para esto, se montaron dos ensayos independientes, donde se midió la concentración de nitrato, la actividad de nitrato reductasa (NR), color y porcentaje de masa seca dos cultivares de acelga (*Beta vulgaris* L. var. cicla), cv. SCR107 (acelga de pecíolo y nervadura central roja, E1) y el cv. Oriole (acelga de pecíolo y nervadura central anaranjado, E2). Se realizó un diseño aleatorizado de parcelas divididas donde la parcela principal correspondió a la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva (100, 200, 300 y 400 mg N L⁻¹) y las subparcelas a las diferentes horas de cosecha (8:00, 12:00 y 21:00). En E1, la hora de cosecha fue un factor con efecto significativo sobre la concentración de nitrato, siendo mayor en el horario de las 8:00 que en el de las 12:00 y 21:00. Esto probablemente debido a que nitrato reductasa tuvo su mayor actividad durante este periodo. Por otro lado, en E2 el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva sí tuvo efecto significativo en la concentración de nitrato, además del horario de cosecha, donde las mayores concentraciones generaron una mayor concentración de nitrato en los tejidos. En ambos ensayos se obtuvieron mayores concentraciones de nitrato en el pecíolo y nervadura central que en la lámina, y estas aumentaron a medida que aumentó la edad de la planta.

Palabras claves: Acelga (*Beta vulgaris* L. var. cicla), nitrato, actividad de la nitrato reductasa, fertilización nitrogenada y hora de cosecha.

ABSTRACT

The development of baby leaf vegetables has increased due to its fast processing and its attractiveness as a gourmet product. Despite these benefits, high nitrate concentrations in vegetal tissues generate serious problems for the health of their consumers. To reduce these concentrations, the rate of nitrogen fertilization and determining the appropriated harvest time is critical. The objective of this study was to evaluate the nitrate concentration in leaves of two baby swiss chard (*Beta vulgaris* L. var *cicla*) cultivars by changing the concentration of nitrogen (N) in the nutrient solution and harvest time. In two independent assays, nitrate concentration, activity of nitrate reductase (NR), color and dry matter percentage were measured on SCR107 (red swiss chard, E1) and Oriole (orange swiss chard, E2) cultivars. The assays were randomized in a split plot design, where the main plot corresponded to the nitrogen concentration in the nutrient solution (100, 200, 300 and 400 mg N L⁻¹) and subplots to different harvest times (8:00, 12:00 and 21:00). In E1, the harvest time had significantly affected nitrate concentration, being higher 8:00 than 12:00 and 21:00. Probably because the nitrate reductase activity was higher at this period. On the other hand, in E2 the nitrogen concentration in the nutrient solution, combined to harvest time, had significant effect on nitrate concentration in vegetal tissues being higher. In both assays, a higher nitrate concentration in petiole and midrib tissues compared to the leaf blade, and increased in aged leaves.

Keywords: Swiss chard (*Beta vulgaris* L. var *cicla*), nitrate, nitrate reductase activity, nitrogen fertilization and harvest time.

INTRODUCCIÓN

El hábito de consumo de hortalizas en las personas ha ido aumentando en las últimas décadas, por lo que es imprescindible para la industria cumplir con las expectativas en términos de conveniencia, sabor y calidad de los productos (Floristán, 2009). Las principales características que buscan los consumidores son texturas suaves y frescas, por lo que las hortalizas de hojas del tipo “baby” son las más prometedoras en el desarrollo de la industria de cuarta gama.

Las hortalizas de hoja del tipo “baby” (“baby leaf”) son hojas tiernas que miden de 8 a 12 cm (González et al., 2004) y se obtienen a partir de manejos agronómicos especiales para controlar su crecimiento, como adelantar la cosecha o establecer un número alto de plantas por superficie (Encalada, 2000). Los beneficios de este tipo de hortalizas son: mayor eficiencia en relación al porcentaje de tejido comestible; rapidez y facilidad en el procesamiento; mínima oxidación durante el almacenaje; y una atractiva presentación debido a la estructura tridimensional que se generaría en el envase (Martínez-Sánchez et al., 2011). No obstante, el principal problema que presentan la mayoría de las hortalizas de hojas es su elevada acumulación de nitrato en sus tejidos (Carrasco, 1998), superando muchas veces los $2.500 \text{ mg NO}_3 \text{ kg}^{-1}$ masa fresca (Chan, 2011).

La acumulación de nitrato ocurre en la vacuola de la célula y se genera por un desbalance entre la absorción y la asimilación del nitrato (Granstedt y Huffaker, 1982; Du et al., 2007). Esta acumulación varía entre las distintas partes de la planta, presentando mayores concentraciones en tallos, pecíolos y nervaduras; y menor concentración en la lámina de la hoja (Santa María et al., 2001; Du et al., 2007). Además, la acumulación de NO_3^- en los vegetales está relacionada a las características genéticas propias de cada especie o cultivar y a la arquitectura de la planta, debido principalmente a la actividad de la nitrato reductasa; y a los manejos agronómicos realizados al cultivo (Lastra et al., 2009).

La nitrato reductasa, NR, EC 1.6.6.1, presente en tejidos no fotosintéticos y EC 1.6.6.2, presente en tejidos fotosintéticos, es la enzima responsable de catalizar la reducción del nitrato a nitrito y su actividad es el principal factor que regula la concentración de nitrato en los tejidos vegetales (Garg, 2013). Su actividad está regulada por diversos factores, entre los que se encuentran las concentraciones de nitrato endógeno, temperatura, radiación fotosintéticamente activa (PAR), concentraciones de esqueletos carbonados y de los metabolitos de nitrógeno, como el amonio y la glutamina, entre otros (Abdin et al., 1993; Crawford, 1995; López et al., 2002).

Por otra parte, entre los manejos agronómicos asociados a la acumulación de nitrato se encuentra la fertilización nitrogenada, donde en búsqueda de altos rendimientos se puede exceder las dosis adecuadas, provocando una elevada acumulación de este compuesto en los tejidos (Santamaria, 2006) y un exceso de residuos en el suelo generando lixiviación y contaminación (Mengel, 1992; Chen et al., 2004). El horario de cosecha es un factor fundamental a considerar dentro de los manejos a realizar, ya que la NR es una enzima que se estimula a mayores intensidades de radiación fotosintéticamente activa (PAR). Por esto, su actividad fluctúa a lo largo del día, generando distintas concentraciones de nitrato en los tejidos (Raigon et al., 2006).

Algunos estudios epidemiológicos proponen que los metabolitos del nitrato (NO_2^- , H_2NO_2 , NO^-) tienen actividad antimicrobiana, protegiendo al intestino humano de diversas infecciones (Duncan et al., 1995; Lundberg et al., 1994). Además, la forma reducida de esta molécula, el óxido nítrico (NO^-), es una de las moléculas más importantes para el funcionamiento fisiológico del cuerpo humano, ya que fortalece las barreras de defensa contra microorganismos patógenos (McKnight et al., 1999; Archer 2002) e inhibe la agregación plaquetaria promoviendo la vasodilatación. Por el contrario, la deficiencia de esta molécula puede generar arterioesclerosis, diabetes y enfermedades de coagulación (Coss et al., 2004). Sin embargo, el consumo de vegetales con exceso de nitrato puede provocar severos problemas a la salud (Mengel, 1992), generando problemas cancerígenos en zonas gastrointestinales (Bartsch et al., 1988; Slob et al., 1995; Taiz y Zeiger, 1998; Du et al., 2007), afectando el sistema inmune (Santamaria, 2006) y causando problemas respiratorios, como la enfermedad de metahemoglobinemia (Bartsch et al., 1988; Slob et al., 1995; Chan, 2011) más conocida como el síndrome del bebé azul. Es por esto que en el año 1995, la “European Union Scientific Committee for Food”, estableció un límite legal de consumo diario de 3,7 mg de nitrato por kilogramo de peso corporal (Lastra et al., 2009) y en el año 2011, la Unión Europea modificó el reglamento (CE) N° 1881/2006 respecto al concentración máxima de nitrato en las hortalizas de hoja (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tolerancia máxima de nitrato en hortalizas de hoja para el hemisferio norte (Diario oficial de la Unión Europea, 2011).

Hortalizas de hoja		Tolerancia máxima (mg NO_3 kg^{-1} MF)
1.1	Espinacas frescas (<i>Spinaciaoleracea</i>)	3.500
1.2	Espinacas en conserva, refrigeradas o congeladas	2.000

1.3	Lechugas frescas (<i>Lactuca sativa</i> L.) (lechugas de invernadero y cultivadas al aire libre) excepto las lechugas mencionadas en el punto 1.4	Recolectadas entre el 1 de octubre y el 31 de marzo:	
		Lechugas cultivadas en invernadero.	5.000
		Lechugas cultivadas al aire libre.	4.000
		Recolectadas entre el 1 de abril y el 30 de septiembre:	
		Lechugas cultivadas en invernadero.	4.000
		Lechugas cultivadas al aire libre.	3.000
1.4	Lechugas del tipo “Iceberg”	Lechugas cultivadas en invernadero.	2.500
		Lechugas cultivadas al aire libre.	2.000
1.5	Rúcula (<i>Eruca sativa</i> , <i>Diplotaxis</i> sp., <i>Brassicatenuifolia</i> , <i>Sisymbrium tenuifolium</i>)	Recolectadas entre el 1 de octubre y el 31 de marzo	7.000
		Recolectadas entre el 1 de abril y el 30 de septiembre	6.000

Se han realizado diversos estudios con el objetivo de reducir las concentraciones de nitrato en los tejidos. Carrasco y Stanley (1993), observaron diferencias significativas en las concentraciones de nitrato en hojas de lechuga cosechadas en diferentes momentos del día: amanecer, durante la tarde y en la noche, reportándose concentraciones de 4.826 y 3.996 mg NO₃ kg⁻¹ MF durante las primeras horas de la noche y en el amanecer, respectivamente. Por otra parte, se ha observado que al aumentar la fertilización nitrogenada, con nitrato y amonio, también lo hacen las concentraciones de nitrato en hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L. var *capitata* y *acephala*) en sistema de producción hidropónica (Lastra et al., 2009). Los resultados de estos ensayos proponen que la concentración de nitrato en los tejidos puede ser atribuible a la genética de la especie o cultivar, a las condiciones medioambientales en las que se desarrollen los cultivos y a los manejos agronómicos que se les realicen.

Por otro lado, el desarrollo de las hortalizas del tipo “baby” es reciente en Chile y se encuentra dirigido principalmente al área gourmet, siendo la lechuga la principal especie cultivada. Sin embargo, es necesario potenciar nuevas especies y cultivares, como las acelgas de tallos de colores, que además de ser atractivas, poseen un alto aporte nutricional al ser ricas en vitamina A, B y C, Calcio, Hierro y Fósforo. Estas hojas poseen una elevada

capacidad antioxidante y altas concentraciones de compuestos fenólicos, entre otros (Pyo et al., 2004).

Para la producción de acelgas del tipo “baby” es fundamental generar las condiciones adecuadas para el crecimiento y desarrollo del cultivo ya que esta especie pertenece a la familia *Chenopodiaceae*, la cual presenta mayor acumulación de nitrato en la parte aérea por lo que es imperioso el rigor en su producción, para no exceder los límites legales sobre la concentración de nitrato en sus tejidos y evitar daños en la salud de los consumidores (Marschner, 1995).

Hipótesis

La concentración de nitrato en hojas de acelgas del tipo “baby” aumenta a mayor concentración de nitrógeno de la solución nutritiva y en cosechas realizadas durante horas de menor radiación, además de variar según el cultivar.

Objetivo general

Evaluar la concentración de nitrato en hojas de dos cultivares de acelgas del tipo “baby”, cvs. SCR107 y Oriole, modificando la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y el horario en que se realiza la cosecha.

Objetivos específicos

1. Evaluar la actividad de nitrato reductasa en hojas de acelgas del tipo “baby”, en relación a los tratamientos con nitrógeno en la solución nutritiva y a los distintos horarios de cosechas.
2. Evaluar color y porcentaje de masa seca en dos cultivares de acelga del tipo “baby” cultivadas en diferentes concentraciones de nitrógeno en la solución nutritiva y cosechadas en diferentes momentos del día.

MATERIALES Y MÉTODO

Lugar del ensayo

El ensayo se realizó en un invernadero, ubicado en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, cuya localización geográfica es 33°40' de latitud sur y 70°38' de longitud oeste (Santibáñez y Uribe, 1990). Los análisis químicos se realizaron en los laboratorios del Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) de la misma Facultad. El ensayo fue financiado por el proyecto FONDECYT-CONICYT, Chile N° 1120274.

Materiales

Se utilizaron dos cultivares de acelga (*Beta vulgaris* L. var. cicla). En el primer ensayo se utilizó el cultivar SCR107, de hojas de color verde oscuro, con nervaduras y pecíolo de color rojo (Figura 1a). En el segundo ensayo se utilizó el cultivar Oriole, de hojas de color verde oscuro con nervaduras y pecíolo anaranjado (Figura 1b)

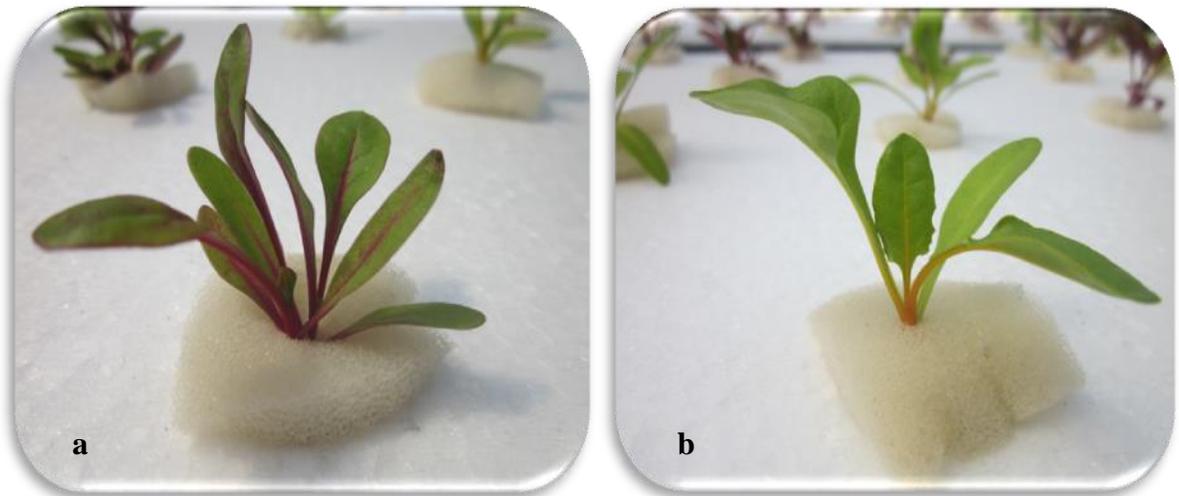


Figura 1. Cultivar SCR107, correspondiente al ensayo 1 (a). Cultivar Oriole, correspondiente al ensayo 2 (b).

Metodología

Tratamientos y diseño de experimentos

Se realizaron dos ensayos independientes en que cada uno correspondió a un cultivar de acelga. En el ensayo 1 se utilizó el cultivar SRC107; y en el ensayo 2, el cultivar Oriole. Los ensayos se realizaron simultáneamente en un sistema hidropónico de raíz flotante (Figura 2), entre mediados de invierno y mediados de primavera de 2013.

A cada ensayo se aplicó un diseño de parcelas divididas donde la parcela principal correspondió a la dosis de fertilización, diferenciadas en la concentración de nitrógeno de la solución nutritiva (Factor C), 100, 200, 300 y 400 mg N L⁻¹ (Apéndice I, cuadros 1 y 2) y cada subparcela correspondió a las diferentes horas del día cuando se realizó la cosecha (Factor H).

C: Concentración de nitrógeno en la solución nutritiva (4)

H: Hora de cosecha (3)

La primera cosecha fue a las 8:00, la segunda a las 12:00, y la última a las 21:00. Para cada tratamiento se utilizó una nomenclatura que determinó la concentración de nitrógeno aplicado en la solución nutritiva y la hora de la cosecha (Cuadro 2).



Figura 2. Sistema hidropónico de raíz flotante.

En cada ensayo se evaluaron 12 tratamientos con tres repeticiones, resultando en 36 unidades experimentales y cada unidad experimental correspondió a 9 plantas.

Cuadro 2. Concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y horario de cosecha.

Tratamiento	Concentración de nitrógeno en la solución nutritiva (C) (mg N L⁻¹)	Hora de cosecha (H) (h)
T100-8	100	8:00
T100-12	100	12:00
T100-21	100	21:00
T200-8	200	8:00
T200-12	200	12:00
T200-21	200	21:00
T300-8	300	8:00
T300-12	300	12:00
T300-21	300	21:00
T400-8	400	8:00
T400-12	400	12:00
T400-21	400	21:00

Procedimiento

Se realizó una prueba de germinación de semillas para ambos cultivares según la norma ISTA (1996) para determinar la cantidad necesaria de semillas para la realización de cada ensayo (Apéndice II, cuadros 1 y 2).

Previo a la siembra, las semillas se trataron durante 24 h en agua destilada a 25 °C en un baño de agua (GFLm.b.H. & Co., Alemania) para superar la dormancia de las semillas. Luego se realizó la siembra en bandejas alveoladas (12 mL) (Proteka, Chile) rellenas con una mezcla de sustratos inertes, Agrolan granulado® (Compañía Industrial El Volcán S.A., Chile) y Perlita expandida A6 (Harbolite Chile Ltda., Chile) prehidratados, en una proporción volumétrica de 2:1. Posteriormente, las bandejas fueron colocadas en una cámara de germinación (Daihan Labtechco. Ltda., Corea), a 20 °C hasta la emisión de la radícula. Luego, las bandejas fueron trasladadas al invernadero y se regaron diariamente con agua potable hasta el estado de cotiledones expandidos. Posteriormente, fueron regadas con una solución Hoagland II (Hoagland y Arnon, 1950) modificada hasta el estado de 2 hojas verdaderas (Apéndice I, Cuadro 1), estado definido para realizar el transplante y la aplicación de los tratamientos de nitrógeno.

Durante el trasplante, se sacó el plantín del alvéolo y se sumergió el cepellón en agua de manera de retirar el excedente de sustrato. Luego, se colocó una esponja de poliuretano expandido de baja densidad alrededor del cuello del plantín (Figura 3) y se ubicó en los agujeros de las planchas de poliestireno expandido de alta densidad. Los agujeros se distanciaron a 12 cm en una distribución de tresbolillo.



Figura 3. Plantín en cubo de poliuretano expandido de baja densidad.

Se colocaron 54 plantas por plancha de 105 x 56 cm y cada plancha se ubicó en una mesa de raíz flotante independiente para la aplicación de la solución nutritiva con distintas concentraciones de nitrógeno. Cada mesa se dividió en tres partes para el sorteo de los tres horarios de cosecha (Figura 4).

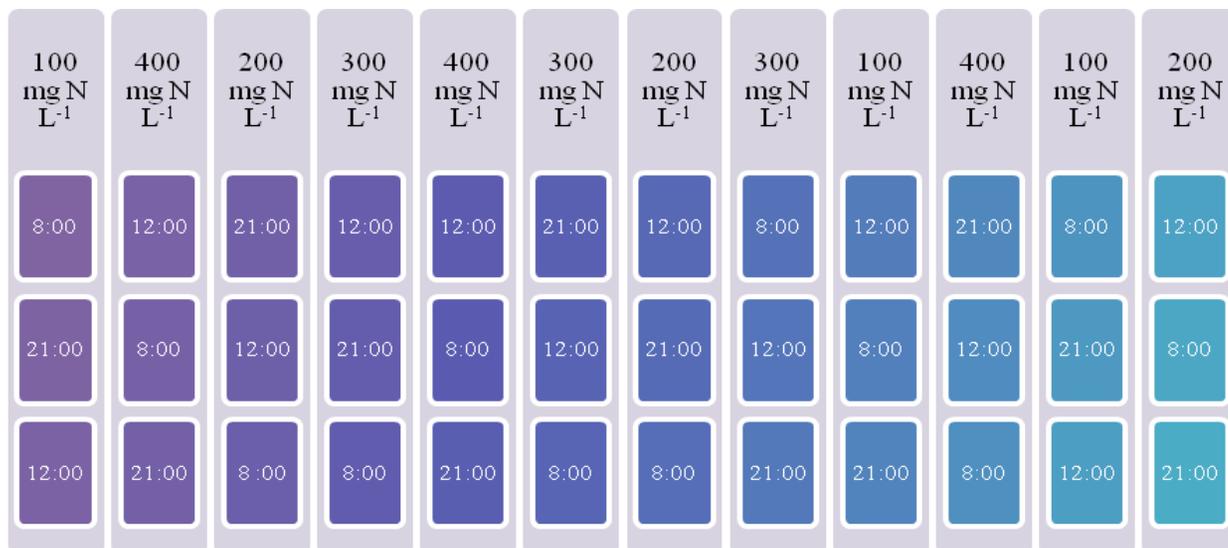


Figura 4. Diagrama del sistema hidropónico de raíz flotante con subdivisiones de las parcelas principales (columnas), correspondiente a las concentraciones de nitrógeno en la solución nutritiva: 100, 200, 300 y 400 mg N L⁻¹; y sus respectivas subparcelas, según la hora del día en que se realizó la cosecha: 8:00, 12:00 y 21:00 (filas).

Durante los ensayos se midió diariamente pH, conductividad eléctrica, temperatura y humedad relativa. El pH se registró con un medidor de pH portátil (PCE Inst. PH 22, España) y se ajustó con una solución ácida, preparada a partir de 38 mL de ácido nítrico y 12 mL de ácido fosfórico por litro de solución, cada vez que la solución nutritiva superó el rango ideal de pH ($5,8 \pm 0,2$). La conductividad eléctrica se midió con un conductímetro (Myron L Company, AG-5, Estados Unidos); y la temperatura y humedad relativa se registró con un data logger (Delta Trak®, 20207, Estados Unidos).

Las cosechas se realizaron tras 1030 días grados (cosecha 1), 1180 días grados acumulados (cosecha 2), 1400 días grados acumulados (Cosecha 3) y 1540 días grados acumulados (cosecha 4), las cuales se llevaron a cabo cuando el 75% de las plantas tuvieron hojas de un tamaño de 8 a 12 cm. Los resultados de cada cosecha se evaluaron de manera independiente. Luego de cada cosecha se seleccionaron cinco hojas al azar a las cuales se les midió inmediatamente color y masa fresca. El color se determinó con un colorímetro (Minolta, CR-300, Japón) tanto en la cara adaxial de la lámina como en la nervadura central y pecíolo. La masa fresca se determinó en la hoja, lámina y nervadura central y pecíolo con una balanza digital (Radwag AS 100/C/2, Polonia). Posteriormente se lavaron las muestras frescas con agua potable y luego en una solución de ácido clorhídrico 0,1 N y se enjuagaron en agua destilada. A continuación se hizo una selección de hojas para eliminar aquellas que no presentaron color en sus nervaduras centrales y pecíolos (Figura 5).



Figura 5. Hoja fuera de tipo (izquierda) y hoja normal (derecha) cv. SRC107 (a). Hoja fuera de tipo (izquierda) y hoja normal (derecha) cv. Oriole (b).

Finalmente, para la determinación de la concentración de nitrato las muestras se colocaron en una estufa de aire forzado a 70 °C hasta obtener una masa seca constante y para la determinación de la actividad de la nitrato reductasa las muestras fueron congeladas en un congelador a -80°C (Sanyoelectric Co., Ltd, MDF-U33V, Japón). A las muestras destinadas al secado se les separó la lámina de la nervadura central y pecíolo empleando una tijera, para

determinar las concentraciones de nitrato en ambos tejidos (Figura 6).

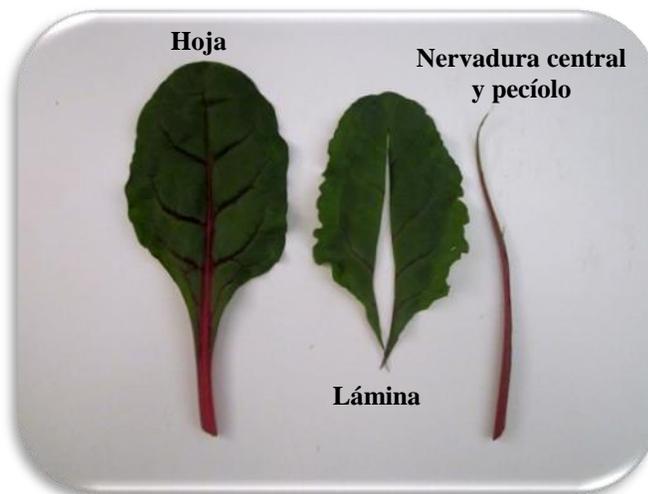


Figura 6. Separación de la hoja en lámina y nervadura central y pecíolo.

Parámetros evaluados

Largo de hoja. Se midió semanalmente, con pie de metro, desde la base del cuello hasta el extremo distal de las hojas completamente desarrolladas para determinar el momento de la cosecha.

Color. Se determinó luego de la cosecha en la parte distal de la cara adaxial de la lámina y en la nervadura central y pecíolo con un colorímetro (Minolta, CR-300, Japón). La determinación de color se basa en el sistema CIELab, que define cada color a partir de coordenadas cromáticas L, C y H, donde L corresponde a la luminosidad; C al croma o saturación y H al tono. Los parámetros C y H se determinaron a partir de a^* y b^* , parámetros de intensidad de color rojo-verde y amarillos-azul, respectivamente (Casassa y Sari, 2006).

Masa seca. La masa fresca se midió inmediatamente luego de la cosecha, con una balanza digital (Radwag AS 100/C/2, Polonia). Luego las hojas se secaron en una estufa (Daihan Labtech Co. Ltda., Corea) a 70°C con circulación de aire forzado hasta alcanzar masa constante y finalmente se determinó la masa seca, expresándose en porcentaje (%) de masa seca.

Determinación de la concentración de nitrato

Se determinó la concentración de nitrato en láminas y nervadura central y pecíolo, a partir del

método del electrodo de ión selectivo de nitrato propuesto por Sadzawka et al. (2007). A partir de una solución patrón de 2.000 mg N-NO₃ L⁻¹ se realizó una serie de soluciones estándares de 500, 750, 1.000, 1.250, 1.500, 1.750 y 2.000 mg N-NO₃ L⁻¹ para la realización de la curva de calibración. Para determinar las concentraciones de nitrato se realizaron extracciones en agua donde se transfirió 0,5 g de muestras secas molidas, a matraces Erlenmeyer con 25 mL de agua destilada. Las muestras se homogenizaron en matraces usando un agitador orbital (FINEPCR®, SH 300, Corea) a una velocidad de 4 g durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Posteriormente las muestras se filtraron con un papel (tamaño poro < 3µm) y se adicionó 0,5 mL de una solución de ajuste de fuerza iónica (Hanna, ISA HI 4013-00, Chile) para nitrato por cada 25 mL del filtrado. Luego se introdujo el electrodo selectivo (Hanna, HI 4013, Chile) sobre el filtrado de la muestra, y se esperó la estabilización de la lectura. La concentración de nitrato se expresó en mg N-NO₃ kg⁻¹MF.

Determinación de la actividad de la nitrato reductasa (ANR)

Se determinó con el método Snell y Snell (1949) basado en la cuantificación del nitrito formado en la reacción catalizada por la enzima.

Primero se realizó una curva de calibración a partir de soluciones estándares de 0,08, 0,48, 1,00, 1,48, 2,00, 2,48, 3,00, 3,48 y 4,00 mg N-NO₂ L⁻¹ mediante alícuotas de una solución patrón de 10 mg N-NO₂ L⁻¹. Se tomaron dos muestras de hoja de 0,5 g previamente congeladas y se cortaron en trozos de 1 cm². Los trozos se introdujeron en tubos de ensayos cubiertos con papel de aluminio para evitar la entrada de luz a las muestras. Las muestras fueron realizadas en paralelo para la cuantificación de un blanco de cada muestra. A una de las muestras se le adicionó 2 mL de una solución tampón de reacción sin nitrato, preparada a partir de KH₂PO₄/K₂HPO₄ 0,1 M y EDTA 1 mM, ajustado a pH 7,5; y a la otra muestra se le adicionó 2 mL de una solución tampón de reacción con nitrato, preparado a partir de KH₂PO₄/K₂HPO₄ 0,1 M, EDTA 1 mM y KNO₃ 0,1 M, ajustado a pH 7,5.

Posteriormente se introdujeron los tubos en un desecador conectado a una bomba de vacío (Arquimed, SU-660, Chile) durante 2 min con el fin del generar una condición de anoxia. Luego, en condición de anoxia, las muestras se mantuvieron a 28 °C por 3 h en una estufa (Zhichenginstruments, ZDP-2080, China). A continuación, los tubos de ensayo se dejaron en un baño de agua termo regulado a 100 °C durante 1 min. Una vez transcurrido el tiempo se sacaron los tubos y se adicionó 0,1 g de carbón activo dejándose actuar la reacción durante 10 min. Posteriormente se filtraron las muestras con un papel filtro (tamaño de poro < 3 µm). Luego, se tomaron alícuotas de 0,5 mL de las muestras a las cuales se les adicionó 0,1 mL de una solución

de sulfanilamida 1% (m/v) en HCl 3 M y se dejó actuar durante 5 a 8 min. Luego se añadió 1 mL de la solución N-(1-naftil) etilendiamidadiclorohidrato (NED) de 0,02 % (m/v) y se esperó durante 10 a 15 minutos hasta la generación de color.

Finalmente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Biochrom, UVM 340, Inglaterra) a una longitud de onda de 540 nm y 750 nm. Esta última medición de absorbancia se realizó para corregir pequeñas variaciones en la señal debido a factores externos, como presencia de turbidez o color en la disolución original de la muestra, ya que a esta longitud el compuesto coloreado de interés no presenta absorción de luz. La ANR se expresó en $\text{mg NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) donde a las variables que presentaron diferencias significativas se les aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey, con un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo 1: Cultivar SRC107

1. Color de lámina y nervadura central y pecíolo

La luminosidad de la lámina se mantuvo constante a medida que avanzan las cosechas variando en un rango entre los 39,1 a 47,8 (Apéndice IV, Cuadro 1). No hubo interacción entre los factores Concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y Hora de cosecha. Sin embargo, el factor que tuvo efecto sobre los resultados fue el Horario de cosecha, donde los mayores los valores en hojas cosechadas a las 8:00 y los que presentaron menor luminosidad fueron los cosechados a las 12:00 y 21:00 (Figura 7).

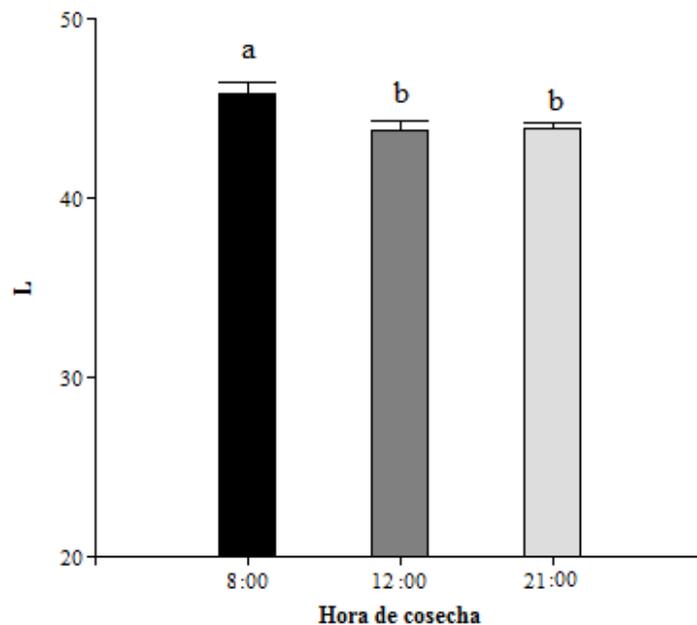


Figura 7. Luminosidad de la lámina de hojas de acelgas cv. SCR107 en función del horario de cosecha de la cosecha 1. Los valores son la media ($n=12$) \pm EE.

El croma de la lámina, al igual que en la luminosidad, no hubo interacción entre la concentración de N en la solución nutritiva y la Hora de cosecha, además, también presentó diferencias significativas entre los horarios de cosecha en las cosecha 1 y cosecha 3, obteniendo mayores unidades en los tratamientos cosechados a las 8:00 y menores en los cosechados a las 21:00 (Figura 8).

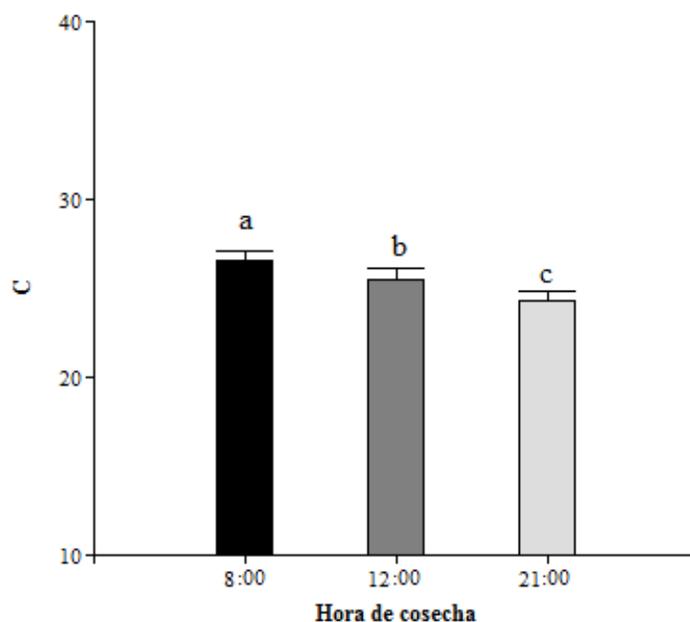


Figura 8. Croma de la lámina de hojas de acelgas cv. SCR107 en función del horario de cosecha de la cosecha 1. Los valores son la media (n=12) ± EE.

En lo que respecta el color de la nervadura central y pecíolo, no hubo interacción entre los factores. El croma presentó diferencias significativas en función del horario de cosecha en las cosechas 2 y 3, obteniendo valores más altos en las nervaduras y pecíolos de las hojas cosechadas a las 8:00 y valores más bajos en hojas cosechadas a las 21:00 (Figura 9).

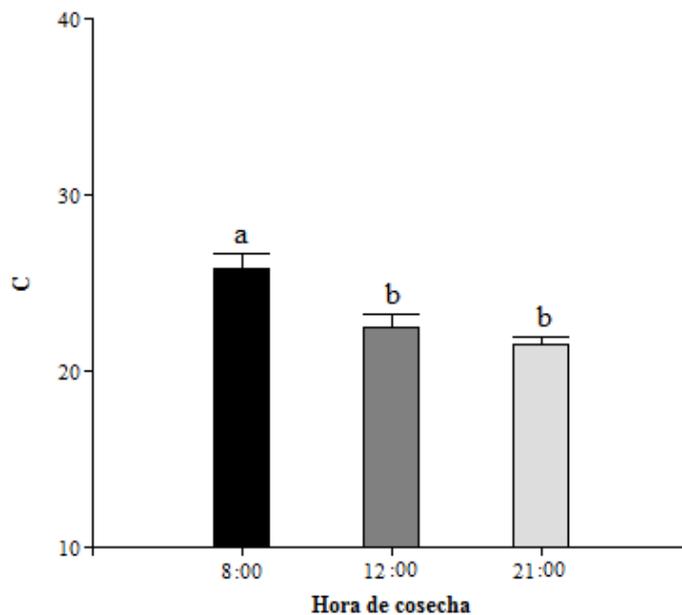


Figura 9. Croma en nervadura central y pecíolos de hojas de acelgas cv. SCR107 en función del horario de cosecha de la cosecha 2. Los valores son la media (n=12) ± EE.

El tono de la nervadura central y peciolo presentó diferencias significativas sólo en la tercera cosecha, donde el horario de las 8:00 presentó mayores valores y el de las 21:00 los menores (Figura 10).

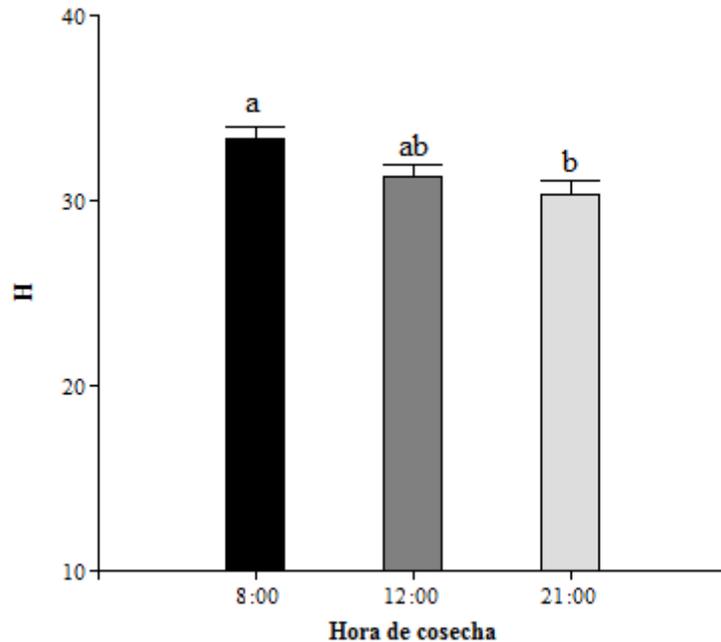


Figura 10. Tono en nervadura central y peciolo de hojas de acelgas cv. SCR107 en función del horario de cosecha de la cosecha 3. Los valores son la media ($n=12$) \pm EE.

Según Fallovo et al. (2009), la luminosidad, croma y tono, podrían ser influenciados por la concentración de nitrato en la solución nutritiva debido a que una elevada concentración de nitrógeno en la solución estimula una mayor síntesis de clorofila y otros pigmentos. No obstante, según los resultados obtenidos en este ensayo no se obtuvo relación con la concentración de nitrógeno en la solución, sino que con el horario de la cosecha. Estos resultados podrían explicarse porque en las horas de radiación menor (21:00) habría una baja absorción de nitrato por las raíces debido a la menor demanda de nutrientes; y una disminución en el metabolismo debido a la ausencia de actividad fotosintética e inactivación de las enzimas que dependen de la luz (Taiz y Zeiger, 1998). Esto se traduciría en una menor síntesis de clorofila y en consecuencia, una menor expresión de color. Por el contrario, las mayores intensidades de luz (8:00 y 12:00) promoverían la síntesis de carbohidratos lo que estimularía la asimilación de nitrógeno y la formación de aminoácidos, proteínas y diversos metabolitos del nitrógeno, entre ellos la clorofila (Najafpour, 2012).

2. Masa seca

Los factores no presentaron interacciones. Sin embargo hubo diferencias significativas en el porcentaje de masa seca de lámina, de nervadura central y pecíolo y de hoja en la primera y cuarta cosecha, donde el factor hora de cosecha presentó efecto significativo, siendo los mayores valores obtenidos en las hojas cosechadas a las 21:00 (Figura 11).

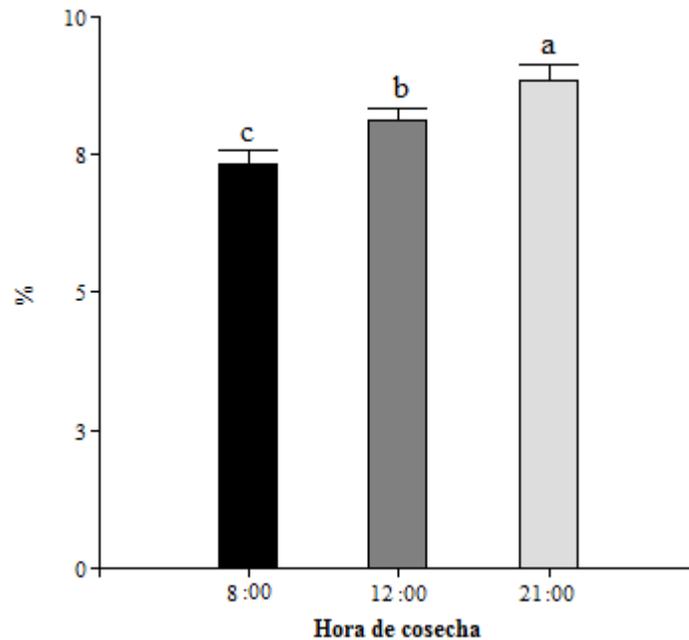


Figura 11. Porcentaje (%) de masa seca de hojas de acerolas cv. SCR107 en función del horario de cosecha de la cosecha 4. Los valores son la media ($n=5$) \pm ES.

La luz tiene efecto directo sobre el crecimiento de los diferentes órganos de la planta a través de la síntesis de carbohidratos y ácidos orgánicos producidos en la fotosíntesis, los cuales son utilizados como agentes osmóticos al ser almacenados en las vacuolas para mantener el turgor celular (Taiz y Zeiger, 1998). Según Anjana et al. (2006), los carbohidratos y el nitrato tiene un efecto complementario en la mantención del turgor, debido a que durante el día el nitrato acumulado en la vacuola es parcialmente reemplazado por los carbohidratos solubles y los ácidos orgánicos. Por el contrario, cuando la luz es limitante, la síntesis de éstos disminuye y sus roles como agentes osmóticos es reemplazado por el nitrato. Lo anterior tiene una estrecha relación entre masa seca y la concentración de nitrato. La célula al utilizar al nitrato como agente osmótico, la planta puede emplear los carbohidratos para crecimiento, lo que reduciría los esqueletos carbonados provocando una disminución de la masa seca (Anjana et al., 2006).

3. Concentración de nitrato

En las figuras 12a y 12b se presentan las concentraciones de nitrato en las láminas y nervaduras centrales y pecíolos, respectivamente. En ambas figuras se pudo observar un aumento de la concentración de nitrato en la última cosecha, 1540 días grados acumulados (Apéndice IV, cuadros 10 y 11).

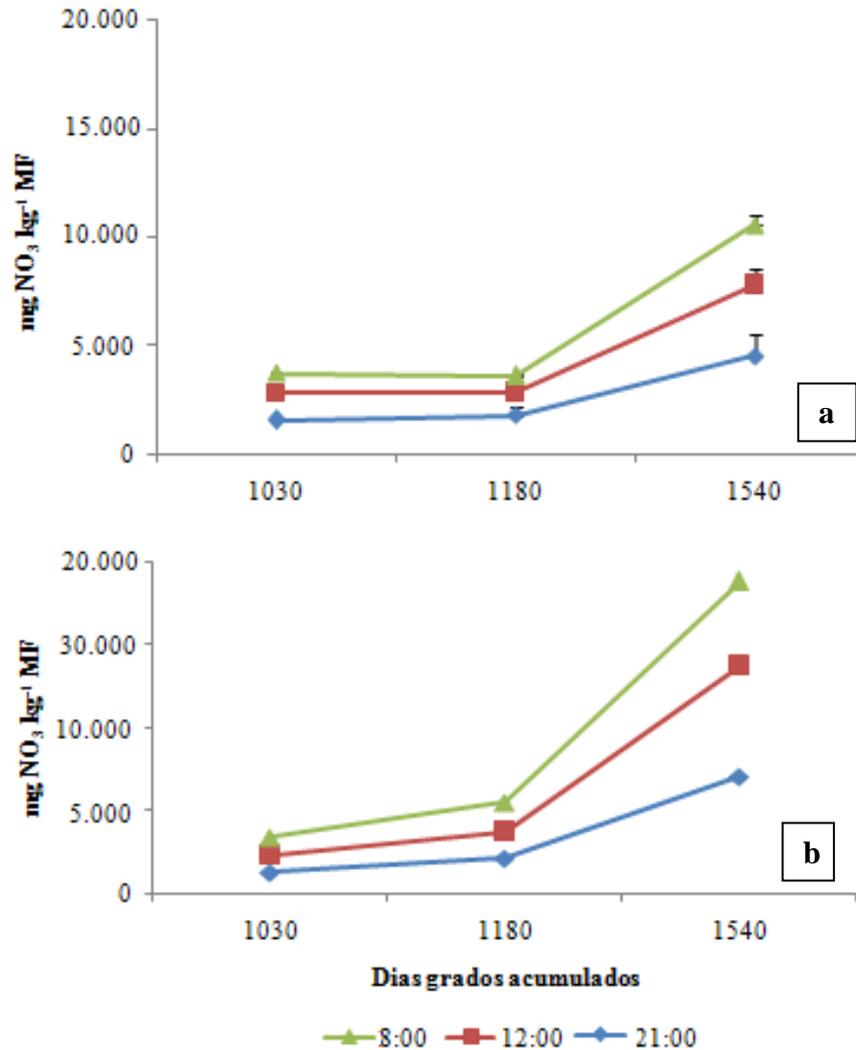


Figura 12. Concentración de nitrato (mg NO₃ kg⁻¹ MF) en lámina (a) y en nervadura central y pecíolo (b) de hojas de acelgas cv. SCR107 en función de la hora de cosecha a medida que transcurren las cosechas, expresadas en días grados acumulados. Los valores son la media (n=12) ± EE.

El aumento de nitrato hacia la última cosecha se debería a que los vegetales que no desarrollan órganos de almacenamiento continúan acumulando nitrato mientras aumenta la edad de la planta (Anjana et al., 2006).

En ensayos realizados por Anjana et al. (2007) se evaluó la concentración de nitrato en distintos genotipos de espinacas los cuales excedieron los límites aceptables establecidos por la Unión Europea ($3.500 \text{ mg NO}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ MF}$), cuando las plantas fueron cosechadas tras las 6 semanas después del trasplante. Lo anterior se debería a que a medida que aumentó la edad de la planta, la actividad de la nitrato reductasa disminuiría y el nitrógeno reduciría su movilidad dentro del floema y se acumularía (Marschner, 1995).

Los factores no presentaron interacciones. Sin embargo, en la lámina y en la nervadura central sí hubo diferencias significativas entre los distintos horarios de cosecha, donde la mayor acumulación de nitratos se presentó en hojas cosechadas a las 8:00 y las de menores a las 12:00 y 21:00 (Figura 13).

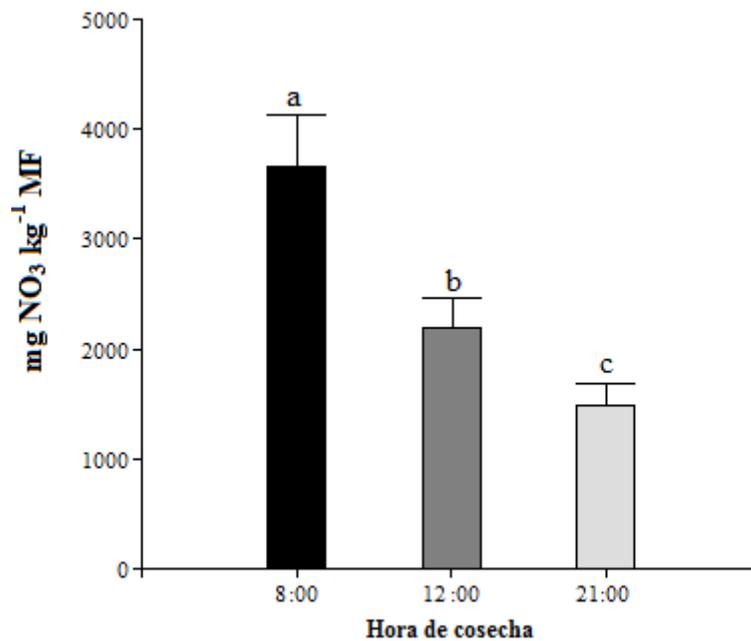


Figura 13. Concentración de nitrato ($\text{mg NO}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ MF}$) en lámina de hojas de acelgas cv. SCR107 de la cosecha 1. Los valores son la media ($n=12$) \pm EE.

Para determinar las diferencias del contenido de nitrato de la lámina y nervadura central y pecíolo se realizó una prueba de T-student (Apéndice IV, Cuadro 12) por cada tratamiento, Donde $t_0 > t_{0,95;2}$, lo que indica se rechaza la hipótesis de nula de igualdad de las concentraciones de nitrato entre ambos tejidos con un nivel de significancia del 5%.

Las nervaduras centrales y pecíolos mostraron una mayor acumulación de nitrato con 6.165 mg NO₃ kg⁻¹ MF respecto a las láminas que obtuvieron 4.011 mg NO₃ kg⁻¹ MF (Figura 14).

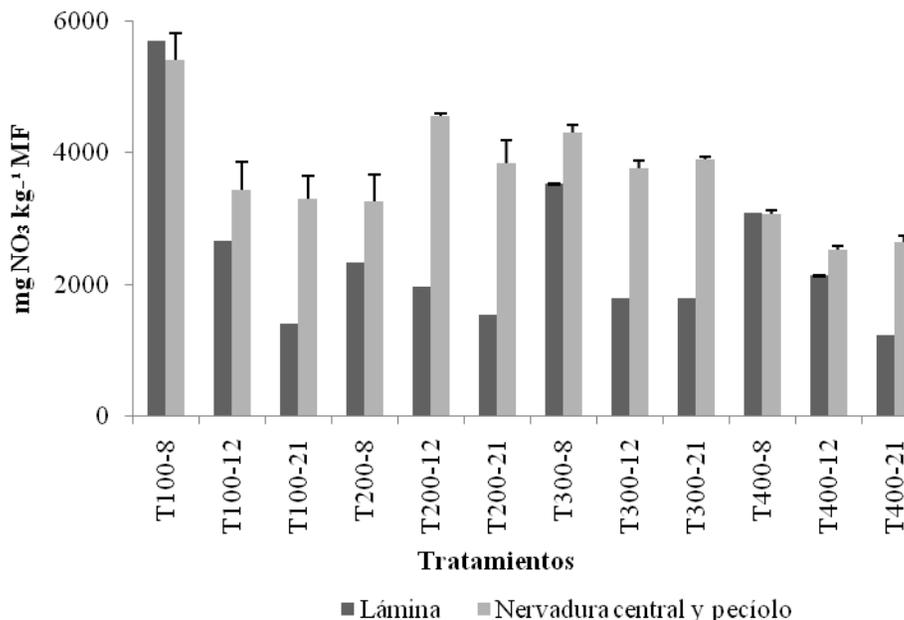


Figura 14. Concentración de nitrato (mg NO₃ kg⁻¹ MF) en lámina y en nervadura central y pecíolo de hojas de acelgas cv. SCR107 de la cosecha 1. Los valores son la media (n=3) ± EE.

Según Maynard y Barker (1979), existen mayores concentraciones de nitrato en los pecíolos y nervaduras centrales que en las láminas de las hojas debido a que la traslocación de esta molécula desde las raíces hacia la lámina se realiza a través de los haces vasculares, los cuales sirven como reservorio de nitrato; otra posible explicación sería que en el pecíolo y nervadura central existe una baja concentración de la enzima nitrato reductasa lo que favorecería una mayor acumulación de nitrato (Anjana et al., 2007). Por otro lado, las concentraciones de nitrato en las láminas fueron menores debido a que en este tejido es donde ocurre la mayor actividad fotosintética (Oaks, 1994; Lastra et al., 2009; Balotf y Kavooosi, 2011) con una rápida disponibilidad de agentes reductores del nitrato (NAD(P)H y Fd reducida), permitiendo una inmediata asimilación a aminoácidos y proteínas (Konstantopoulou et al., 2010).

En los ensayos realizados por Anjana et al. (2007), la concentración de nitrato en el pecíolo de espinacas fueron significativamente mayores que en la lámina con 6.269 mg NO₃ kg⁻¹ MF más que en la lámina. En ensayos realizados por Santamaría et al. (2001) y por Elia et

al. (2000) también se midieron las concentraciones de nitrato en láminas y pecíolos de lechuga, achicoria, perejil, espinacas y de rúcula, con tendencias similares.

Respecto a las diferencias en las concentraciones de nitrato en función del horario de cosecha se deberían principalmente a que la acumulación de esta molécula estaría regulada por diversos factores como las concentraciones de nitrato endógeno y las concentraciones de carbohidratos, entre otros (Taiz y Zeiger, 1998). Tanto el metabolismo del nitrógeno como del carbono son regulados por las enzimas, nitrato reductasa (NR) y sacarosa fosfato sintasa (SPS). La actividad de estas enzimas es altamente regulada por las intensidades de luz incidentes en la planta las cuales responden a un patrón fotoperiódico definido (Hunter y Ruffner, 1997); además, son reguladas por la concentración de los productos finales de la fotosíntesis, amonio y glutamina, los que ejercerían un control negativo en la expresión de genes de dichas enzimas, principalmente de la NR (Abdin et al., 1993).

La nitrato reductasa está sujeta a una modulación traslacional que involucra un proceso de fosforilación reversible, situación análoga a la modulación de la SPS, donde la luz activa a la proteína fosfatasa la que provocaría una desfosforilación de los residuos de serina en la región de los ejes de la nitrato reductasa promoviendo su unión al poder reductor (Taiz y Zeiger, 1998; Lillo, 2001; Garg, 2013). Por el contrario, en la oscuridad, la proteína kinasa genera una fosforilación de los residuos de serina inhibiendo la unión al poder reductor, lo que provocaría la inactivación de la enzima, por lo que el patrón estacional de la actividad de la nitrato reductasa es paralela a la síntesis y acumulación de sacarosa y almidón, respectivamente (Brotel y Kaiser, 1997; Kaiser et al., 1999; Stitt, 1999; Garg, 2013). La tendencia del ensayo coinciden con lo anterior debido a los valores obtenidos en las hojas cosechadas al mediodía, ya que en ese momento se presentó la máxima actividad fotosintética y en consecuencia, ocurriría una mayor síntesis de carbohidratos y actividad de la NR lo que se traduciría en una menor concentración de nitrato en la planta (Najafpour, 2012). No obstante, en los resultados obtenidos en las hojas cosechadas a las 21:00 no se observó lo descrito con anterioridad. Según Abdin et al. (1993), la luz no sería tan esencial en la expresión de NR como la disponibilidad de carbohidratos y el suministro de poderes reductores, siendo estos últimos generados tanto en la fotosíntesis como en la respiración, donde la respiración es la principal fuente de equivalentes reductores en oscuridad (Stitt, 1999). Esto concuerda con los ensayos realizados por Cheng et al. (1992) donde se demostró que la sacarosa podría reemplazar el efecto de la luz provocando un incremento en la expresión de la nitrato reductasa en plantas de *Arabidopsis* adaptadas a la oscuridad.

4. Actividad de la nitrato reductasa

En la Figura 15 se puede observar la actividad de la enzima nitrato reductasa a medida que transcurrieron las diferentes cosechas observándose una disminución de la actividad de la enzima desde valores de 0,0834 hasta 0,0077 mg NO₂ g⁻¹ h⁻¹ MF (Apéndice IV, Cuadro 13).

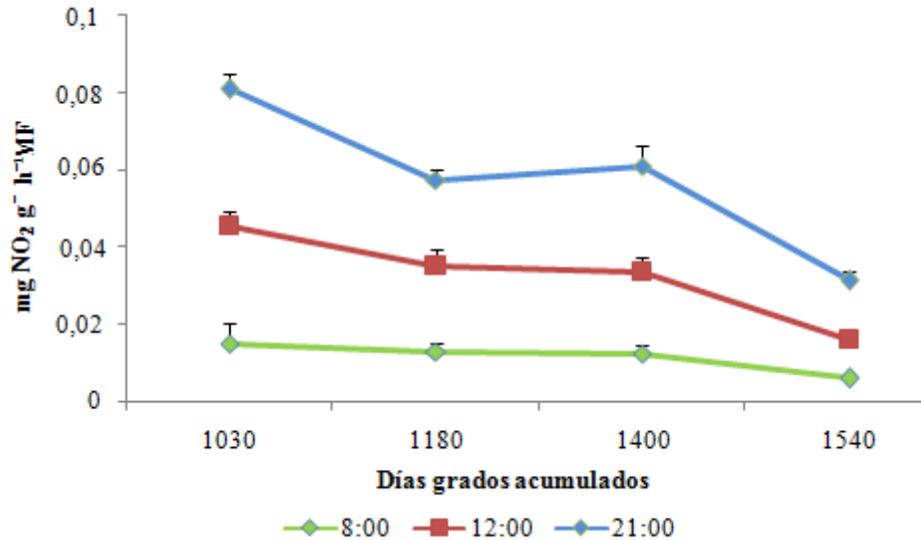


Figura 15. Actividad de la nitrato reductasa (mg NO₂ g⁻¹ h⁻¹ MF) en hojas de acelgas cv. SCR107, en función de la hora de cosecha a medida que transcurren las cosechas, expresadas como días grados acumulados. Los valores son la media (n=12) ± EE.

La disminución progresiva de la actividad de la nitrato reductasa coincidió con el aumento en la acumulación de nitratos a medida que transcurrieron las cosechas debido a que existe una relación negativa entre la concentración de nitrato y la actividad de la nitrato reductasa (Matt et al, 2001; Elwan y El-Hamed, 2011). Además, la absorción de nitrato está regulada por las concentraciones de NO₃ en la planta y la eficiencia en la tasa de absorción depende de un mecanismo de retroalimentación negativa del nitrato endógeno (Cardenas-Navarro et al., 1998; Anjana et al., 2006), por lo que a mayor acumulación de nitrato, menor sería la absorción de éste y la actividad de la nitrato reductasa.

La actividad de la nitrato reductasa presentó diferencias significativas en las cosechas 1, 3 y 4, donde el factor que tuvo efecto sobre estos resultados fue el horario de cosecha. Los mayores valores se obtuvieron de hojas cosechadas a las 12:00 y 21:00 (Figura 16).

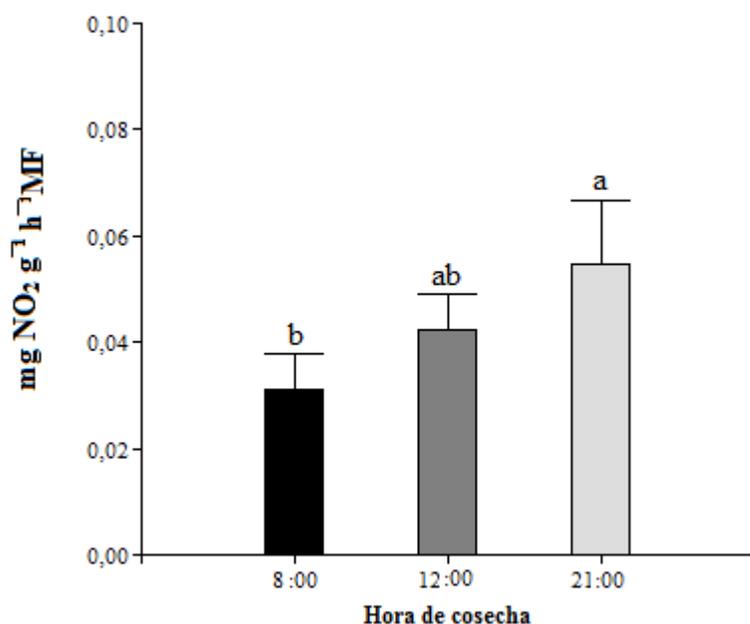


Figura 16. Actividad de la nitrato reductasa ($\text{mg NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ MF}$) en hojas de acelgas cv. SCR107 en función del horario de cosecha de la cosecha 1. Los valores son la media ($n=12$) \pm EE.

Los resultados obtenidos corroborarían los valores de concentración de nitrato, donde las menores acumulaciones se producirían en las cosechas realizadas a las 21:00, coincidiendo con una actividad mayor de la nitrato reductasa debido posiblemente a la disponibilidad de los equivalentes reductores y carbohidratos.

Ensayo 2: Cultivar Oriole

En los resultados obtenidos en el ensayo 2 no existieron interacciones entre los factores por lo que se analizaron los niveles dentro de los factores por separado.

1. Color de lámina y de nervadura central y pecíolo

La luminosidad de la lámina del cv. Oriole se mantuvo constante a medida que transcurrieron las cosechas variando en un rango entre los 42,5 a 48,4 unidades (Apéndice V, Cuadro 1). Además, el factor hora de cosecha también presentó diferencias significativas entre las cosechas 1, 2 y 3, donde las hojas con mayor luminosidad fueron las cosechadas a las 8:00 y 12:00 (Figura 17).

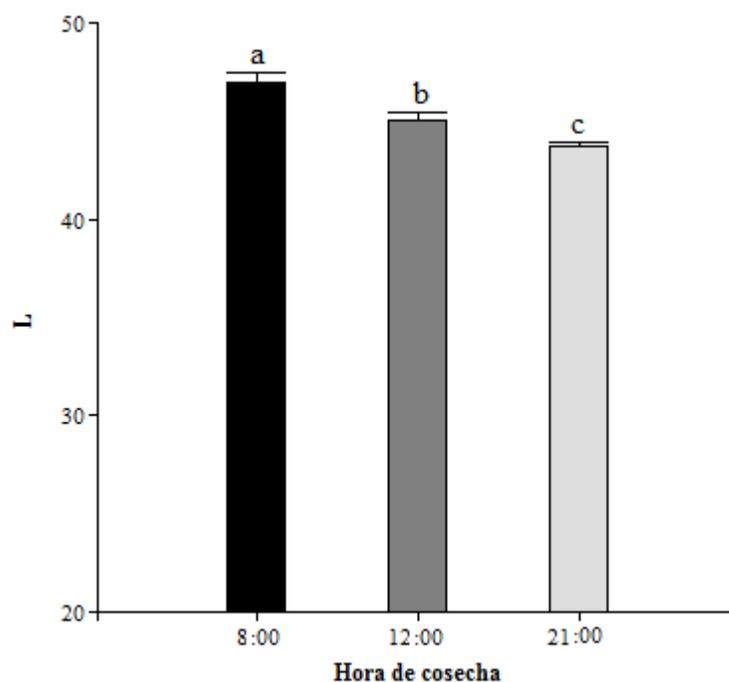


Figura 17. Luminosidad de la lámina de hojas de acelgas cv. Oriole en función del horario de cosecha de la cosecha 4. Los valores son la media ($n=12$) \pm EE.

El croma de la lámina también mostró diferencias significativas entre los horarios de cosecha, mostrando mayores valores cuando las cosechas fueron a las 8:00 y 12:00 (Figura 18).

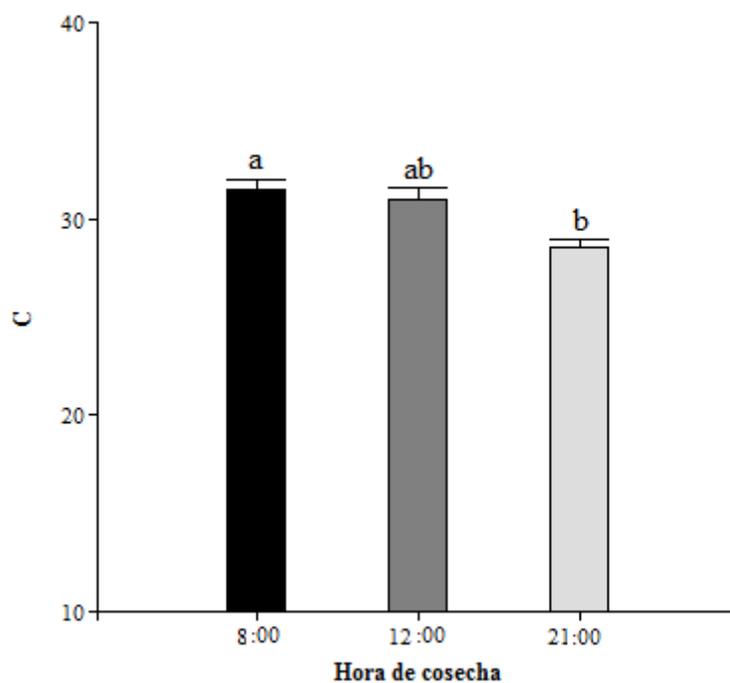


Figura 18. Croma de la lámina de hojas de acelgas cv. Oriole en función del horario de cosecha de la cosecha 4. Los valores son la media (n=12) ± EE.

Respecto al tono de la lámina sólo en la cuarta cosecha se presentaron diferencias significativas en función al horario de cosecha, donde los menores valores se presentaron en hojas cosechadas a las 8:00 y 12:00.

El factor hora de cosecha también presentó diferencias significativas en el color de la nervadura central y pecíolo. La luminosidad fue mayor en hojas cosechadas a la 21:00 y menor en las hojas cosechadas a las 12:00, sólo en la segunda y tercera cosecha. Respecto al croma de la nervadura central y pecíolo, los mayores valores se obtuvieron de las hojas cosechadas a las 21:00 y los menores valores a las 8:00; y viceversa para el tono.

Los valores de color de este ensayo fueron mayores en las hojas cosechadas a las 8:00 y a las 12:00 y los menores a las 21:00 (excepto en los valores de luminosidad y croma de la nervadura central), al igual que en el ensayo 1, y probablemente por las mismas razones de baja tasa de absorción de nitrato, situación que ocurriría a las 21:00, lo que se traduciría en una menor asimilación de nitrato y en consecuencia una menor síntesis de clorofila (Najafpour, 2012).

2. Masa seca

Hubo diferencias significativas entre el porcentaje de masa seca en la lámina, nervadura central y peciolo; y hoja completa en función del horario de cosecha en la segunda y cuarta cosecha (Apéndice V, cuadros 7, 8 y 9), donde las hojas cosechadas a las 21:00 presentaron un mayor porcentaje de masa seca (Figura 19).

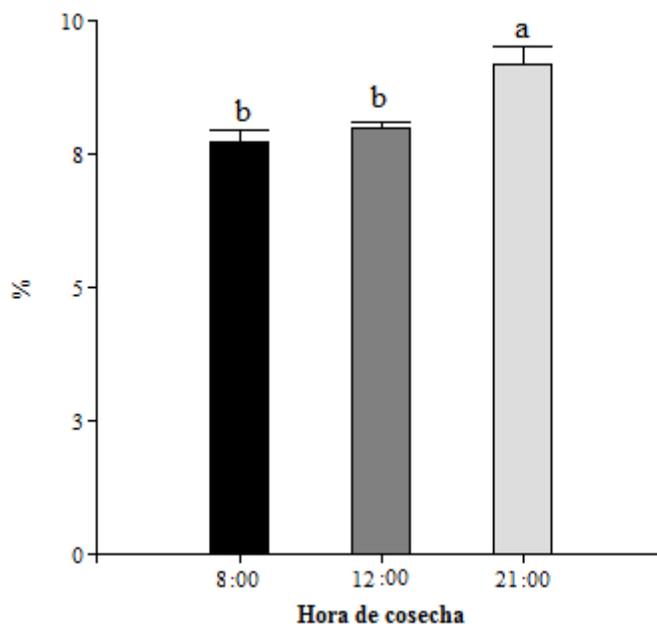


Figura 19. Porcentaje (%) de masa seca de hojas de acelgas cv. Oriole en función del horario de cosecha de la cosecha 4. Los valores son la media (n=12) \pm EE.

Esta situación también ocurrió en el ensayo 1 y se debería a una correlación negativa entre la masa seca y el contenido de nitrato presente en las hojas los cuales serían usados durante la noche como agentes osmóticos para mantener el turgor de la célula. Al ser usado el nitrato como agente osmótico permitiría la liberación de los carbohidratos de las vacuolas y la reducción de éstos, lo que provoca disminución de masa seca (Anjana et al., 2006).

3. Concentración de nitrato

En las figuras 20a y 20b se pueden observar la concentración de nitrato en las láminas y nervaduras centrales y pecíolos, respectivamente. Al igual que en el ensayo 1, se observó un aumento del contenido hacia la última cosecha, lo que se debería a la disminución de la actividad de la nitrato reductasa y a la disminución de la tasa de absorción por el aumento de la edad del cultivo.

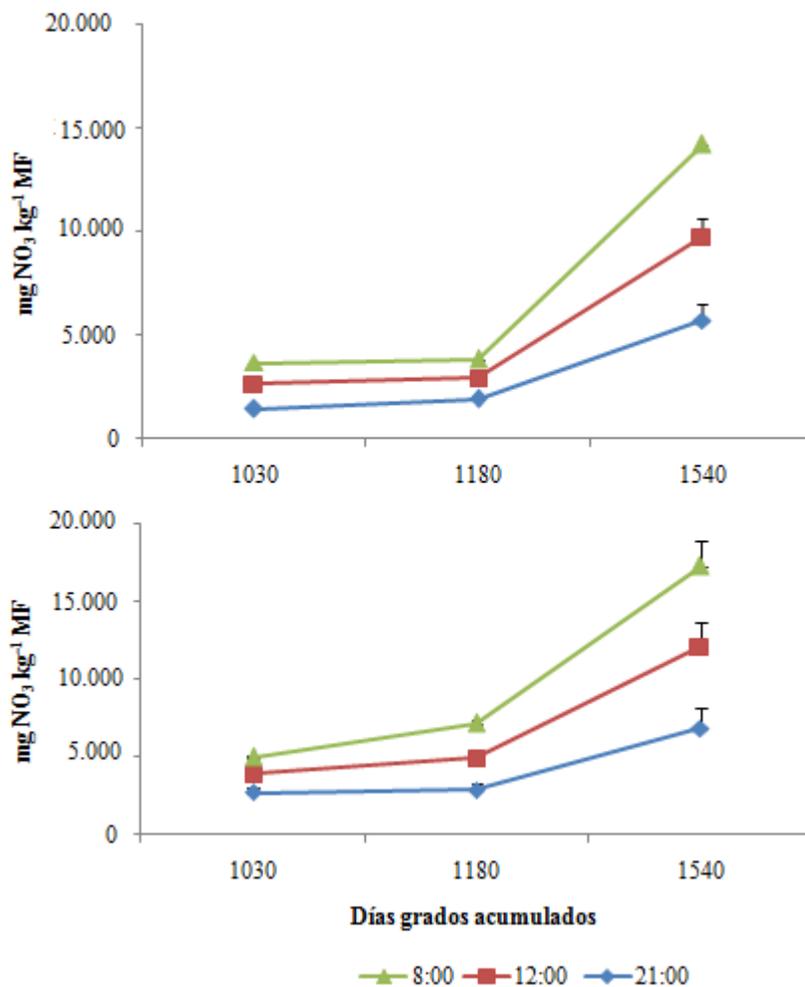


Figura 20. Concentración de nitrato ($\text{mg NO}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ MF}$) en la lámina (a) y en la nervadura central y pecíolo (b) de hojas de acelgas cv. Oriole, en función de la hora de cosecha a medida que transcurren las cosechas, expresadas en días grados acumulados. Los valores son la media ($n=12$) \pm ES.

En los resultados del cv. Oriole sí hubo diferencias significativas en función de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva, además del horario de cosecha sobre la concentración de nitrato (Apéndice V, cuadros 10 y 11), donde las mayores concentraciones de nitrato en la lámina se obtuvieron en las hojas con la más alta concentración de nitrógeno en la solución nutritiva, 300 mg N L^{-1} . Respecto a la nervadura central y pecíolo los mayores resultados se obtuvieron en hojas cultivadas en la solución nutritiva de $400 \text{ mg NO}_3 \text{ L}^{-1}$ (Figura 21).

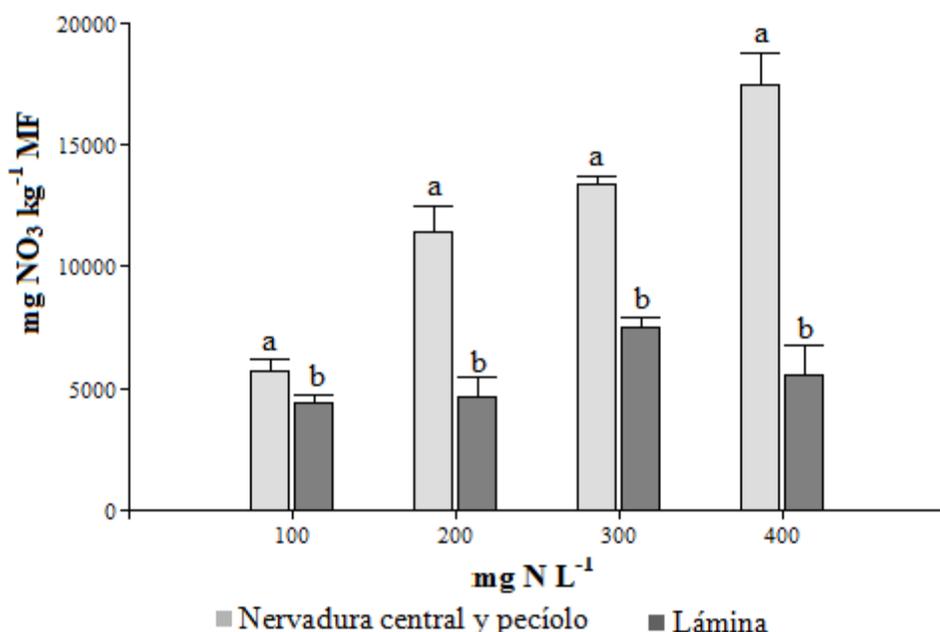


Figura 21. Concentración de nitrato ($\text{mg NO}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ MF}$) en la lámina y en la nervadura central y peciolo de hojas de acelgas cv. Oriole en función de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva de la cosecha 4. Los valores son la media ($n=9$) \pm EE.

La elevada concentración de nitrato estaría relacionada con la forma y cantidad del fertilizante aplicado en la solución nutritiva (Chen et al., 2004; Mantovani et al., 2005; Kostantopoulou et al., 2010). En ambos ensayos, las altas concentraciones de nitrógeno en la solución nutritiva (200, 300 y 400 $\text{mg NO}_3 \text{ L}^{-1}$) fueron fertilizados con una fuente de nitrógeno basado en $\text{NH}_4\text{-NO}_3$ (Apéndice I, Cuadro 2), lo que podría provocar altas concentraciones de amonio y glutamina. Según Stitt (1999) y Najafpour et al. (2012), estos metabolitos del nitrógeno presentarían una correlación negativa con las concentraciones de transcriptores de la nitrato reductasa (NR) y de la nitrito reductasa (NiR), lo que provocaría una disminución de la actividad de la nitrato reductasa y en consecuencia, una mayor concentración de nitrato.

Respecto a las diferencias significativas de las concentraciones de nitrato en función del horario de cosecha, las hojas cosechadas a las 8:00 y 21:00 obtuvieron los mayores y menores resultados en la lámina (Figura 22). Esto se debería a que la luz no sería esencial en la regulación de la actividad de la nitrato reductasa como lo serían las concentraciones de sacarosa y de los poderes reductores producidos en la respiración cuando la luz es limitante (Abdín et al., 1993).

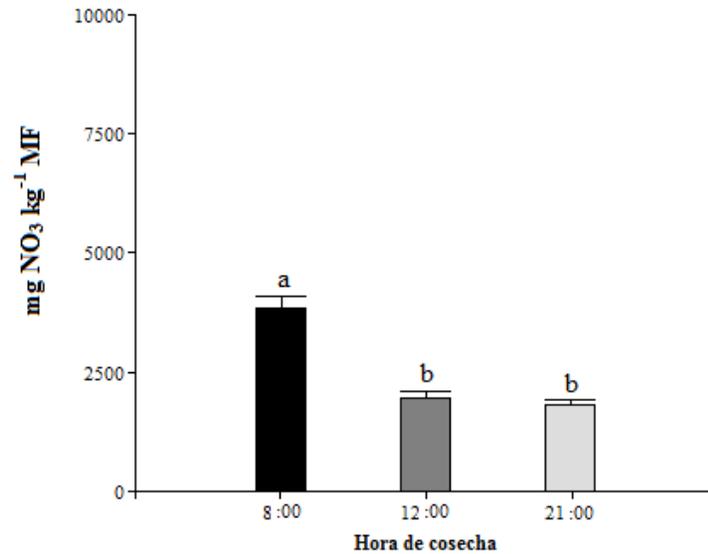


Figura 22. Concentración de nitrato ($\text{mg NO}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ MF}$) en la lámina de hojas de acelgas cv. Oriole en función del horario de cosecha de la cosecha 4. Los valores son la media ($n=12$) \pm EE.

En la figura 23 se puede observar que la concentración de nitrato en la nervadura central y pecíolo fue mayor que en la lámina, según la prueba de T-student (Apendice V, Cuadro 12). Esto se debería a que en la lámina es donde ocurriría la asimilación de nitrato, mientras que en la nervadura central y pecíolo ocurriría el transporte de éste (Oaks, 1994; Anjana et al., 2007; Lastra et al., 2009; Balotf y Kavooosi, 2011).

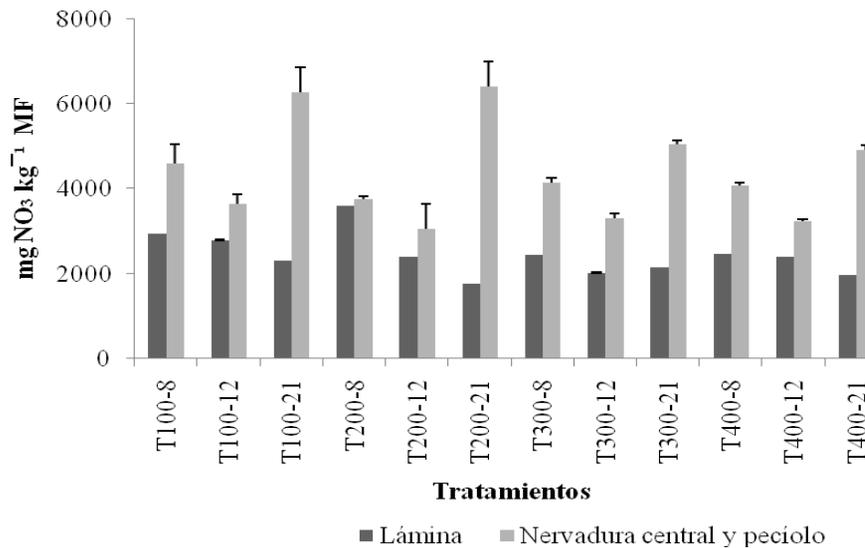


Figura 23. Concentración de nitrato ($\text{mg NO}_3 \text{ kg}^{-1} \text{ MF}$) en la lámina y en la nervadura central y pecíolo de hojas de acelgas cv. Oriole. Los valores son la media ($n=3$) \pm ES.

4. Actividad de la nitrato reductasa

En la figura 24 se puede observar que la actividad de la nitrato reductasa fue disminuyendo a medida que transcurren las diferentes cosechas, desde valores de 0,0904 hasta 0,0130 mg NO₂ g⁻¹ h⁻¹ MF (Apéndice V, Cuadro 13).

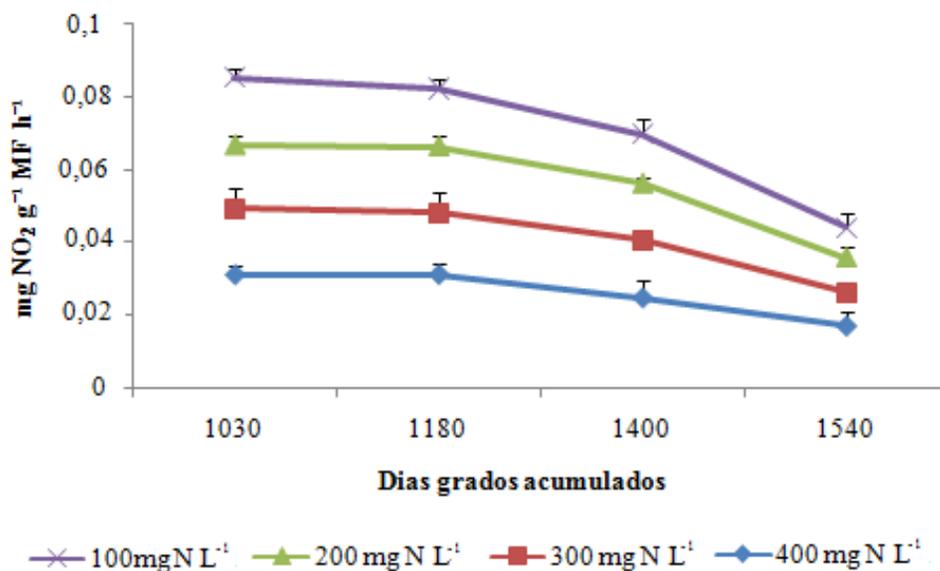


Figura 24. Actividad nitrato reductasa (mg NO₂ g⁻¹ h⁻¹ MF) en hojas de acelgas cv. Oriole, en función de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva, a medida que transcurren las cosechas, expresadas en días grados acumulados. Los valores son la media (n=9) ± EE.

Los mayores resultados se obtuvieron en las hojas cosechadas a las 21:00 y en las hojas cultivadas en la solución nutritiva de menor concentración de nitrógeno (100 mg N L⁻¹) como se observa en las figuras 25 y 26, respectivamente.

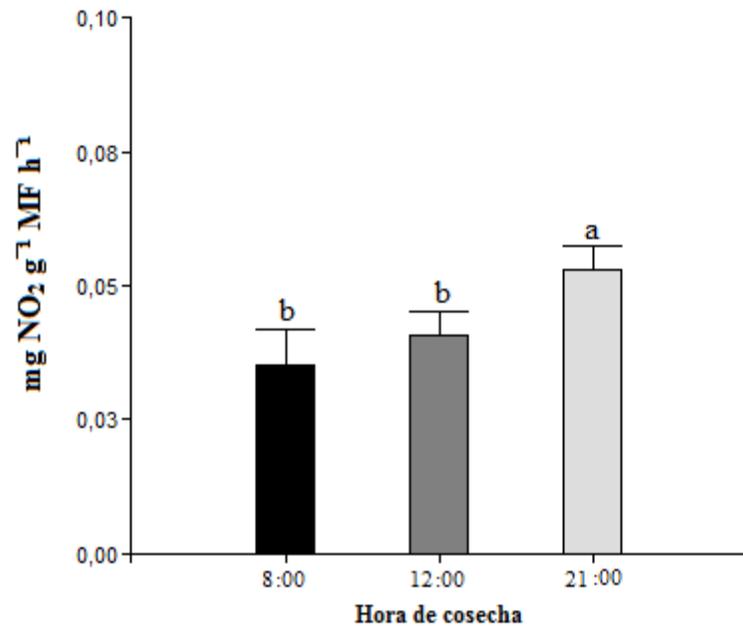


Figura 25. Actividad nitrato reductasa ($\text{mg NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ MF}$) en hojas de acelgas cv. Oriole en función del horario de cosecha de la cosecha 4. Los valores son la media ($n=12$) \pm EE.

La actividad de la nitrato reductasa fue mayor en el horario de cosecha de las 21:00 probablemente debido a las concentraciones de carbohidratos y/o por la disponibilidad de los poderes reductores producidos en la respiración (Abdin et al., 1993).

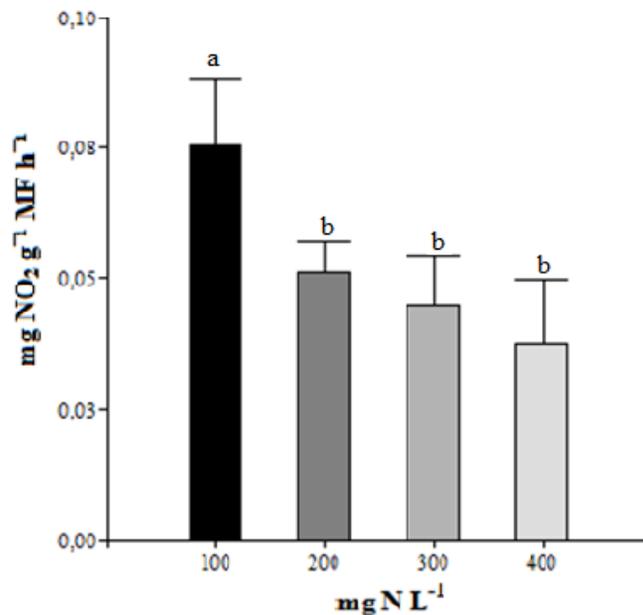


Figura 26. Actividad de la nitrato reductasa ($\text{mg NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ MF}$) en hojas de acelgas cv. Oriole en función de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva de la cosecha 4. Los valores son la media ($n=9$) \pm EE.

En los ensayos realizados por Chen et al. (2004) se evaluó la actividad de la NR en tres hortalizas de hoja (yuyo, col china y espinaca) en base a distintas concentraciones de nitrógeno en la solución nutritiva. Los resultados arrojaron que las bajas concentraciones tendrían un efecto positivo en la actividad de la enzima, sin embargo, las altas concentraciones generarían una disminución de la actividad. En los resultados obtenidos en éste ensayo se pudo observar que las altas concentraciones de nitrógeno en la solución nutritiva presentaron una menor actividad enzimática lo que generaría una alta concentración de nitrato.

Las altas concentraciones de nitrógeno podrían provocar la producción de acelgas del tipo “baby” con una alta concentración de nitrato en sus tejidos, incluso pudiendo superar los límites aceptables de la Unión Europea. Frente a esta situación el uso de sistemas hidropónicos ofrecería una ventaja sobre el manejo y control de las concentraciones adecuadas de nitrógeno en la solución nutritiva. Además, los manejos en la producción y preparación de hortalizas por parte de productores y consumidores son primordiales para la obtención y consumo de hortalizas con concentraciones adecuadas de nitrato en sus tejidos. Por ejemplo, la hora correcta de cosecha permitiría obtener productos con concentraciones de nitrato adecuados; también la remoción de nervaduras centrales y pecíolos disminuiría alrededor del 30 al 40 % del consumo de nitrato en lechugas y espinacas; o el preparar los alimentos en agua cocida permitiría disminuir alrededor del 50 % del consumo de nitrato (Chan, 2011).

CONCLUSIONES

Existe un efecto de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva sobre la concentración de nitrato y la actividad de la nitrato reductasa en hojas de acelgas del tipo “baby” cv. Oriole, donde las mayores concentraciones en la solución nutritiva mostraron un aumento de la concentración de nitrato y las menores concentraciones en la solución nutritiva mostraron una mayor actividad de la nitrato reductasa. Situación que no ocurre en el cv. SCR107.

La hora de cosecha tiene efecto sobre el contenido de nitrato y sobre la actividad de la nitrato reductasa en hojas de acelgas del tipo “baby” cvs. SCR107 y Oriole, donde el horario de las 21:00 mostró las menores concentraciones de nitrato y las mayores actividades de la nitrato reductasa.

La hora de cosecha influye sobre color y el porcentaje de masa seca en hojas de acelgas del tipo “baby” cvs. SCR107 y Oriole, donde los mayores valores de color se obtuvieron en hojas cosechadas a las 8:00 y de porcentaje de masa seca en las hojas cosechadas a las 21:00.

BIBLIOGRAFÍA

Abdin, M.Z., K.C. Lakkineni and P.A. Kumar. 1993. Molecular aspects of nitrate reductase regulation in higher plants. Proceedings of the Indian National Science Academy. 59: 219-226.

Anjana, S., S. Umar and M. Iqbal. 2006. Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process and human health implications. A review. Agronomy for Sustainable Development. 27: 45-57.

Anjana, S. U., M. Iqbal and Y. P. Abrol. 2007. Are nitrate concentrations in leafy vegetables within safe limits?. Current Science. 3: 355-361.

Archer, D. 2002. Evidence that ingested nitrate and nitrite are beneficial to health. Journal of Food Protection. 65: 872-875.

Balotf, S. and G. Kavooosi. 2011. Differential nitrate accumulation, nitrate reduction, nitrate reductase activity, protein production and carbohydrate biosynthesis in response to potassium and sodium nitrate. African Journal of Biotechnology. 78: 17973-17980.

Bartsch, H., H. Ohshima and B. Pignatelli. 1988. Inhibitors of endogenous nitrosation: mechanisms and implications in human cancer prevention. Mutation Research. 202: 307-324.

Brotel, A. and W. Kaiser. 1997. Nitrate reductase activity status in barley roots in relation to the energy and carbohydrate status. Planta. 201: 496-501.

Cardenas-Navarro, S., P. Adamowicz and P. Robin. 1999. Nitrate accumulation in plants: A role for water. Journal of Experimental Botany. 50:613-624.

Carrasco, G. 1998. Acumulación de nitratos en hortalizas de hoja en cultivo protegido y alternativas de control. Seminario internacional avances tecnológicos en producción forzada y cultivos hidropónicos. Universidad de Talca. Talca, Chile. 87-104.

Carrasco, G. and B. Stanley. 1993. Diurnal fluctuations in nitrate uptake and nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa* L.). Acta Horticulturae. 339:137-147.

Casassa, F. y S. Sari. 2006. Aplicación del sistema Cie-Lab a los vinos tintos. Correlación con algunos parámetros tradicionales. Revista de Enología N° III. Centros de estudios de enología. INTA. Mendoza. Argentina. 10 p.

Chan, T. 2011. Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia. Toxicology letters. 200: 107-108.

Chen, B. M., Z. W. Wang, S. X. Li, G. X. Wang, H. X. Song and X. N. Wang. 2004. Effect of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. Plant Science. 167 (3): 635-643.

Cheng, C. L., J. Dewdney, A. Kleinhofs, H. M. Goodman, G. N. Acedo, M. Cristinsin and M. A. Conkling. 1992. Sucrose mimics the light induction of Arabidopsis nitrate reductase transcription. Proceedings of the National Academy of Sciences. 89: 1861-1864

Chen, B.M., Z.H. Wang, S. X. Li, G. X. Wang, H. X. Song and X. N. Wang. 2004. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. Plant Science. 167: 635-643.

Coss, A., K.P. Cantor, J.S. Relf, C.F. Lynch and M.H. Ward. 2004. Pancreatic cancer and drinking water and dietary sources of nitrate and nitrite. American journal of Epidemiology. 159: 693-701.

Comisión Europea. 2011. Reglamento (UE) N° 1258/2011 de la comisión de 2 de diciembre de 2011 que modifica el Reglamento (CE) N° 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de nitratos en los productos alimenticios. Diario oficial de la Unión Europea. 320:15-17.

Crawford, N. M. 1995. Nitrate nutrient and signal for plant growth. Plant Cell. 7: 856-868.

Du, S., Y. Zhang and X. Lin. 2007. Accumulation of nitrate in vegetables and its possible implications to human health. Agricultural Sciences in China. 6 (10):1246-1255.

Duncan, C., H. Dougall, P. Johnston, S. Green, R. Brogan, C. Leifert, L. Smith, M. Golden and N. Benjamin. 1995. Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate. Nature Medicine. 1:546-551.

- Elia, A., G. Conversa, and M. Gonnella. 2000. Dosi di azoto, prodazine e accumulo di nitrati di attuga allevata in odrocoltura. Atti V Giornate Scientifiche SOI. Sirmione. 229-230.
- Elwan, M. W. M. and K. E. El-Hamed. 2011. Influence of nitrogen form, growing season and sulfur fertilization on yield and the content of nitrate and vitamin C of broccoli. *Scientia Horticulturae*. 127: 181-187.
- Encalada, M. 2000. Evaluación agronómica de cultivares de lechuga del tipo "baby" bajo sistema de cultivo hidropónico. Tesis Magister en Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 80p.
- Falovo, C., Y. Rouphael, E. Rea, A. Battistelli and G. Colla. 2009. *Journal of Agricultural Science*. 89: 1682-1689.
- Floristán, J.M. 2009. La evolución de las hortalizas en la IV Gama. *Acta Horticulturae*. 213: 22-25.
- Garg, S. 2013. Role and hormonal regulation of nitrate reductase activity in higher plants: A review. *Plant Sciences feed*. 3 (1): 13-20.
- González, A., M. A. Abellán, J. López y J. A. Fernández. 2004. Aprovechamiento de especies de hoja pequeña, *baby leaf*, para IV gama, en cultivo de invernadero. *Agrícola Vergel*. 272: 399-408.
- Granstedt, R. D and R.C. Huffaker. 1982. Identification of the leaf vacuole as major nitrate storage pool. *Plant Physiology*. 79: 410-413.
- Hoagland, D. and D. Arnon. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. University of California. Berkeley. USA. 32 p.
- Hunter, J. J. and H. P. Ruffner. 1997. Diurnal and seasonal changes in nitrate reductase activity and nitrogen content of grapevines: Effect of canopy management. *Vitis*. 36: 1-6.
- ISTA. 1996. International Rules for Seed Teszing. International Seed Testing Association. 335 p.

Kaiser, W. M., H. Weiner and H. C. Huber. 1999. Nitrate reductase in higher plants: A case study for transduction of environmental stimuli into control of catabolytic activity. *Plant Physiology*. 105: 385-390.

Konstantopoulou, E., G. Kapoti, G. Salachas, S. A. Petropoulos, I. C. Karapanos and H. C. Passam. 2010. Nutritional quality of greenhouse lettuce at harvest and after storage in relation to N application and cultivation season. *Scientia Horticulturae*. 125: 93.e1-93.e5.

Lastra, O., M.L. Tapia, B. Razeto and M. Rojas. 2009. Response of hydroponic lettuce cultivars to different treatments of nitrogen: growth and foliar nitrate content. *Idesia* 27: 83-89.

Lillo, A. K. 2001. Light regulation of nitrate reductase in higher plants: Which photoreceptors are involved? *Plant Biology*. 3(5): 455-465.

Lopes, P. F., M. C. Oliveira and P. Colepicolo. 2002. Characteriazacion and daily variation of nitrate reductase in *Gracilariatenuistipitata* (Rhodophyta). *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 295: 50-54.

Lundberg, J.O., E. Weitzberg, J.M. Lundberg and K. Alvin. 1994. Intra gastric nitric oxide production in humans: measurements in expelled air. *Gut*. 35:1543-1546.

Mantovani, J. R., M. E. Ferreira and M. C. P Da Cruz. 2005. Lettuce growth and nitrate accumulation in relation to nitrogen fertilization. *Horticultura Brasileira*. 23(3):758-762.

Matt, P., M. Geiger, P. Walch-Liu, C. Engels, A. Karpp and M. Stitt. 2001. The immediate Cuse of the diurnal changes of nitrogen metabolism in leaves of nitrate-replete tobacco: a major imbalance between the rate of nitrate reduction and the rates of nitrate uptake and ammonium metabolism during the first part of the light period. *Plant, Cell & Environment*. 24: 177-190.

Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic press, London. England. 224:312.

Martínez-Sánchez, A., J. A. Tudela, C. Luna, A. Allende and M.I. Gil. 2011. Low oxigen levels and high exposure affect quality of fresh-cut Romaine lettuce. *Postharvest Biology and Technology*. 59: 34-42.

Maynard, D.N. and A.V. Barker. 1979. Regulation of nitrate accumulation in vegetables. *Acta Horticulturae*. 93: 153-162.

Mengel, K. 1992. Nitrogen: Agricultural productivity and environmental problems. In *Nitrogen Metabolism of Plants*, eds K. Mengel and D. Pilbeam, Oxford Science Publications. 1-15.

McKnight, G., C. Duncan, L. Leifert and M. Golden. 1999. Dietary nitrate in man: friend or foe? *British Journal of Nutrition*. 81:349-358.

Najafpour, M. 2012. [en línea] Nitrate assimilation: The role of in vitro nitrate reductase assay as nutritional predictor. ISBN. Disponible en línea: <http://www.intechopen.com/books/applied-photosynthesis/nitrate-assimilation-the-role-of-in-vitro-nitrate-reductase-assay-as-nutritional-predictor> (Consulta: 12 de mayo de 2014).

Oaks, A. 1994. Primary nitrogen assimilation in higher plants and its regulation. *Canadian Journal of Botany*. 72: 739-750.

Pyo, Y.H., T.C. Lee, L. Logendra and R.T. Rosen. 2004. Antioxidant activity of phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *circulata*) extracts. *Food Chemistry*. 85:19-26.

Raigon, M.D. M.D. GarcíaMartínez, C. Guerrero y P. Esteve. 2006. Actividad de la nitrato reductasa y su relación con los factores productivos en lechuga. VII Congreso SEAE Zaragoza. 157: 1-11.

Sadzawka, A., R. Grez, M. A. Carrasco y M. L. Mora. 2004. Métodos de análisis de tejidos vegetales. Comisión de normalización y acreditación. Sociedad Chilena del Suelo. 53 p

Santamaria, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Science of Food and Agriculture*. 86: 10-17.

Santamaria, P., A. Elia and F. Serio. 2001. Ways of reducing rocket salad nitrate content. *Acta Horticulturae*. 548:529-537.

Santibáñez, F. y J.M. Uribe. 1990. Atlas Agroclimático de Chile: Regiones V y Metropolitana. Universidad de Chile, Fac. de Cs. Agrarias y Forestales, Lab. de Agroclimatología. Santiago, Chile. 66 p.

SCF (Scientific Committee on Food). 1995. Opinion on nitrate and nitrite (Annex 4 to Document III/5611/95). Ed by European Commission, Brussels. 20 p.

Slob, W., R. Van der Berg and M. Van Veen. 1995. A statistical exposure model applied to nitrate intake in the Dutch population. In: Health Aspects of Nitrates and Its Metabolites. Council of Europe Press, Strasbourg. France. 75-82.

Snell, F.D. and C.T. Snell. 1949. Colorimetric methods of analysis. 3^o ed. Vol II. D. Van Nostrand. New York. USA. 804-805.

Stitt, M. 1999. Nitrate regulation of metabolism and growth. *Current Opinion in Plant Biology*. 2: 178-186.

Taiz, L., and E. Zeiger. 1998. *Plant Physiology*. 2nd Ed.; Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA, USA. 405 p.

APÉNDICE I

Cuadro 1. Concentración base de elementos (mg L^{-1}) utilizados para la solución nutritiva. Modificado de Hoagland y Arnon (1950).

Fuente	Elemento	Concentración (mg L^{-1})
KNO ₃	K	83,80
	N	30,00
Ca(NO ₃) ₂	Ca	100,25
	N	70,00
K ₂ HPO ₄	K	134,70
	P	53,40
MgCl ₂ x 6H ₂ O	Mg	48,60
	S	64,20
H ₃ BO ₃	B	0,50
MnCl ₂ x 2H ₂ O	Mn	0,50
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	Zn	0,05
CuSO ₄ x 5H ₂ O	Cu	0,02
(NH ₄) ₄ Mo ₇ O ₂₄ x 4H ₂ O	Mo	0,01
Fe EDTA	Fe	5,00

Cuadro 2. Concentración de nitrógeno (mg N L^{-1}) para cada solución.

Forma	Solución 1 (T 100)	Solución 2 (T 200)	Solución 3 (T 300)	Solución 4 (T 400)
NO ₃	100,0	150,0	200,0	250,0
NH ₄	0,0	50,0	100,0	150,0
Total	100,0	200,0	300,0	400,0

APÉNDICE II

Cuadro 1. Resultados de la prueba de germinación de semillas del cv. SCR107.

Nº de conteos	Fecha	R1	R2	R3	Media
1er Conteo	4 días	35%	35%	25%	31,7%
2do Conteo	14 días	55%	50%	55%	53,3%

Cuadro 2. Resultados de la prueba de germinación de semillas del cv. Oriole.

Nº de conteos	Fecha	R1	R2	R3	Media
1er Conteo	4 días	25%	30%	30%	28,3%
2do Conteo	14 días	65%	40%	40%	48,3%

APÉNDICE III

Figura 1. Temperatura media (°C), temperatura umbral (°C) y humedad relativa media (%) del invernadero.

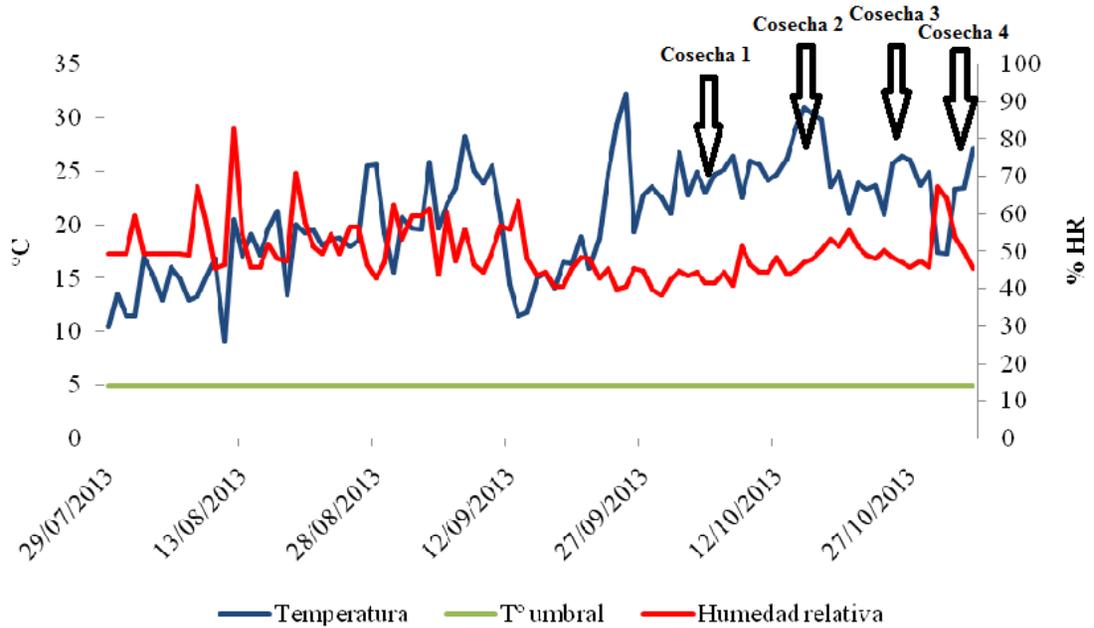
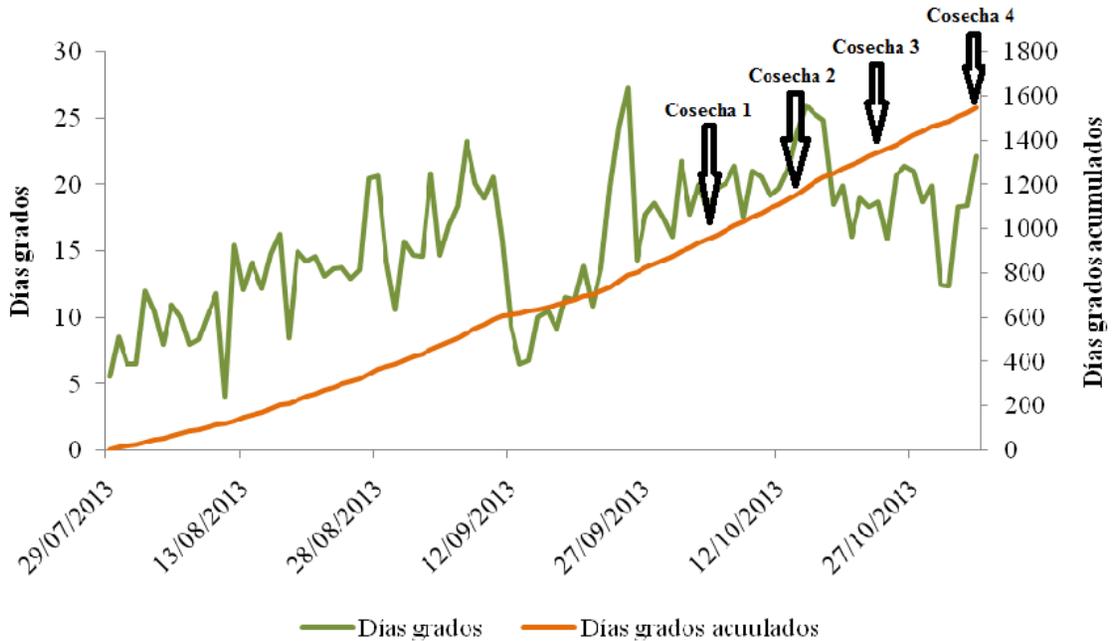


Figura 2. Días grados y acumulación de días grados desde la siembra.



Cuadro 1. Radiación fotosintéticamente activa, PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

	Hora	Sobre el cultivo	Exterior del invernadero
Día soleado	8:00	570	950
	12:00	770	1700
	21:00	0	0
Día nublado	8:00	260	700
	12:00	480	1460
	21:00	0	0

APÉNDICE IV

Cuadro 1. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la luminosidad de la lámina (L) de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Luminosidad de la lámina (L)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	44,08	a ¹	A ²	43,23	a	A	47,82	a	A	44,32	a	A
T100-12	42,68	b	A	42,86	a	A	45,18	a	A	44,43	a	A
T100-21	42,79	b	A	44,14	a	A	43,96	a	A	44,01	a	A
T200-8	44,88	a	A	43,89	a	A	46,62	a	A	44,63	a	A
T200-12	41,72	b	A	40,84	a	A	45,28	a	A	44,51	a	A
T200-21	42,16	b	A	43,31	a	A	43,57	a	A	44,06	a	A
T300-8	44,35	a	A	43,68	a	A	45,54	a	A	44,34	a	A
T300-12	41,75	b	A	41,04	a	A	43,72	a	A	44,25	a	A
T300-21	41,62	b	A	42,66	a	A	44,06	a	A	43,39	a	A
T400-8	44,11	a	A	41,32	a	A	43,36	a	A	45,74	a	A
T400-12	41,49	b	A	39,09	a	A	44,89	a	A	43,03	a	A
T400-21	42,37	b	A	41,37	a	A	43,78	a	A	42,66	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			NS			NS			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 2. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el croma de la lámina (C) de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Croma de la lámina (C)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	44,08	a ¹	A ²	44,23	a	A	47,82	a	A	44,32	a	A
T100-12	42,68	b	A	41,86	a	A	45,18	b	A	44,43	a	A
T100-21	43,79	c	A	44,14	a	A	43,96	c	A	44,01	a	A
T200-8	44,88	a	A	43,89	a	A	46,62	a	A	44,63	a	A
T200-12	43,72	b	A	40,84	a	A	45,28	b	A	44,51	a	A
T200-21	41,16	c	A	43,31	a	A	43,57	c	A	44,06	a	A
T300-8	44,35	a	A	43,68	a	A	45,54	a	A	44,34	a	A
T300-12	43,75	b	A	41,04	a	A	43,72	b	A	44,25	a	A
T300-21	41,62	c	A	42,66	a	A	41,06	c	A	43,39	a	A
T400-8	44,11	a	A	41,32	a	A	45,36	a	A	45,74	a	A
T400-12	43,49	b	A	39,09	a	A	43,89	b	A	43,03	a	A
T400-21	41,37	c	A	42,37	a	A	41,78	c	A	42,66	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			NS			*			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 3. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el tono de la lámina (H) de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Tono de la lámina (H)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	123,11	a ¹	A ²	125,46	a	A	127,36	a	A	123,94	a	A
T100-12	120,85	a	A	125,58	a	A	123,72	a	A	124,67	a	A
T100-21	123,19	a	A	124,04	a	A	123,34	a	A	124,77	a	A
T200-8	123,75	a	A	125,56	a	A	127,74	a	A	124,82	a	A
T200-12	123,18	a	A	125,72	a	A	123,71	a	A	124,72	a	A
T200-21	123,07	a	A	125,56	a	A	124,32	a	A	125,11	a	A
T300-8	123,47	a	A	125,53	a	A	124,45	a	A	125,14	a	A
T300-12	123,41	a	A	125,26	a	A	125,50	a	A	125,07	a	A
T300-21	122,75	a	A	125,50	a	A	126,11	a	A	125,76	a	A
T400-8	123,21	a	A	125,99	a	A	129,57	a	A	124,72	a	A
T400-12	123,02	a	A	126,66	a	A	124,83	a	A	124,85	a	A
T400-21	122,32	a	A	123,88	a	A	122,80	a	A	125,60	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	NS			NS			NS			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *.No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 4. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la luminosidad de la nervadura central y pecíolo (L) de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Luminosidad de la nervadura central y pecíolo (L)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	32,71	a ¹	A ²	35,24	a	A	34,88	a	A	35,49	a	A
T100-12	32,83	a	A	34,30	a	A	34,67	a	A	40,24	a	A
T100-21	31,29	a	A	36,21	a	A	35,01	a	A	36,91	a	A
T200-8	31,94	a	A	32,38	a	A	35,54	a	A	37,89	a	A
T200-12	31,44	a	A	34,65	a	A	35,46	a	A	38,55	a	A
T200-21	33,02	a	A	34,11	a	A	34,97	a	A	39,63	a	A
T300-8	32,7	a	A	37,27	a	A	34,82	a	A	38,50	a	A
T300-12	33,54	a	A	35,66	a	A	37,23	a	A	40,59	a	A
T300-21	30,98	a	A	35,99	a	A	35,58	a	A	36,00	a	A
T400-8	32,89	a	A	30,92	a	A	35,73	a	A	39,80	a	A
T400-12	30,46	a	A	36,03	a	A	34,58	a	A	39,22	a	A
T400-21	31,56	a	A	36,30	a	A	34,21	a	A	35,95	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	NS			NS			NS			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 5. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el croma de la nervadura central y pecíolo (C) de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Croma de la nervadura central y pecíolo (C)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	22,47	a ¹	A ²	27,53	a	A	29,06	a	A	30,34	a	A
T100-12	24,51	a	A	25,00	b	A	26,11	b	A	30,43	a	A
T100-21	21,98	a	A	23,35	b	A	27,88	b	A	28,35	a	A
T200-8	26,79	a	A	27,94	a	A	31,53	a	A	32,95	a	A
T200-12	21,28	a	A	25,47	b	A	30,39	b	A	32,39	a	A
T200-21	22,56	a	A	25,81	b	A	30,15	b	A	29,47	a	A
T300-8	28,50	a	A	27,24	a	A	31,83	a	A	30,04	a	A
T300-12	22,50	a	A	24,13	b	A	29,25	b	A	28,29	a	A
T300-21	22,04	a	A	25,81	b	A	28,23	b	A	30,45	a	A
T400-8	25,27	a	A	26,73	a	A	30,60	a	A	30,45	a	A
T400-12	21,08	a	A	23,60	b	A	28,02	b	A	29,79	a	A
T400-21	19,71	a	A	24,95	b	A	27,85	b	A	29,61	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	NS			*			*			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 6. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el tono de la nervadura central y pecíolo (H) de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Tono de la nervadura central y pecíolo (H)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	34,10	a ¹	A ²	35,58	a	A	31,96	a	A	32,32	a	A
T100-12	33,94	a	A	37,44	a	A	31,15	ab	A	32,77	a	A
T100-21	34,72	a	A	36,11	a	A	30,81	b	A	34,14	a	A
T200-8	33,35	a	A	32,98	a	A	33,57	a	A	31,59	a	A
T200-12	34,41	a	A	31,21	a	A	29,53	ab	A	32,37	a	A
T200-21	42,89	a	A	30,34	a	A	28,39	b	A	34,70	a	A
T300-8	32,04	a	A	33,56	a	A	35,92	a	A	32,64	a	A
T300-12	36,87	a	A	38,53	a	A	32,44	ab	A	36,80	a	A
T300-21	33,53	a	A	34,48	a	A	31,71	b	A	32,18	a	A
T400-8	34,01	a	A	32,27	a	A	32,77	a	A	37,36	a	A
T400-12	36,38	a	A	34,38	a	A	31,23	ab	A	36,23	a	A
T400-21	32,58	a	A	33,60	a	A	30,19	b	A	32,60	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	NS			NS			*			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 7. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el porcentaje de masa seca (%) de la lámina de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Porcentaje de masa seca de lámina (%)								
	1030 DG			1180 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 4		
T100-8	6,21	ab ¹	A ²	8,33	a	A	8,03	c	A
T100-12	4,39	b	A	9,06	a	A	8,48	b	A
T100-21	13,17	a	A	9,62	a	A	8,63	a	A
T200-8	6,81	ab	A	13,37	a	A	8,06	c	A
T200-12	4,06	b	A	8,70	a	A	8,27	b	A
T200-21	9,84	a	A	9,39	a	A	9,09	a	A
T300-8	8,13	ab	A	12,54	a	A	7,19	c	A
T300-12	7,17	b	A	9,75	a	A	7,83	b	A
T300-21	14,58	a	A	9,86	a	A	8,74	a	A
T400-8	5,33	ab	A	9,27	a	A	7,40	c	A
T400-12	5,33	b	A	12,98	a	A	8,94	b	A
T400-21	9,00	a	A	17,28	a	A	9,86	a	A
Nivel de significancia									
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			NS			*		
C x H	NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 8. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el porcentaje de masa seca (%) de nervadura central y pecíolo de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Porcentaje de masa seca de nervadura central y pecíolo (%)								
	1030 DG			1180 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 4		
T100-8	2,80	a ¹	A ²	6,25	a	A	7,90	a	A
T100-12	3,14	a	A	7,27	a	A	7,04	a	A
T100-21	8,55	b	A	7,08	a	A	21,00	b	A
T200-8	5,66	a	A	6,70	a	A	6,69	a	A
T200-12	4,48	a	A	7,03	a	A	7,26	a	A
T200-21	11,61	b	A	6,41	a	A	14,09	b	A
T300-8	4,26	a	A	5,95	a	A	6,92	a	A
T300-12	4,55	a	A	6,06	a	A	7,11	a	A
T300-21	13,05	b	A	6,47	a	A	9,46	b	A
T400-8	4,66	a	A	5,50	a	A	9,30	a	A
T400-12	5,78	a	A	7,17	a	A	8,04	a	A
T400-21	7,98	b	A	10,40	a	A	15,02	b	A
Nivel de significancia									
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			NS			*		
C x H	NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 9. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el porcentaje de masa seca (%) de hoja de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Porcentaje de masa seca de hoja (%)							
	1030 DG			1180 DG			1540 DG	
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 4	
T100-8	5,19	a ¹	A ²	9,46	a	A	7,63	a A
T100-12	1,31	a	A	8,83	a	A	8,41	b A
T100-21	11,80	a	A	9,15	a	A	8,85	c A
T200-8	6,48	a	A	14,76	a	A	7,80	a A
T200-12	4,14	a	A	8,36	a	A	8,05	b A
T200-21	10,31	a	A	9,17	a	A	8,71	c A
T300-8	5,72	a	A	12,84	a	A	6,95	a A
T300-12	6,41	a	A	9,80	a	A	7,50	b A
T300-21	26,39	a	A	9,40	a	A	8,38	c A
T400-8	5,14	a	A	9,61	a	A	6,99	a A
T400-12	5,99	a	A	12,34	a	A	8,64	b A
T400-21	8,70	a	A	15,82	a	A	9,97	c A
Nivel de significancia								
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS	
Hora de cosecha (H)	NS			NS			*	
C x H	NS			NS			NS	

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 10. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la concentración de nitrato ($\text{mg NO}_3 \text{kg}^{-1} \text{MF}$) en la lámina de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Contenido de nitrato en lámina ($\text{mg NO}_3 \text{kg}^{-1} \text{MF}$)								
	1030 DG			1180 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 4		
T100-8	3.574	a ¹	A ²	5.700	a	A	5.771	a	A
T100-12	2.345	b	A	2.657	b	A	4.788	b	A
T100-21	1.646	c	A	1.402	c	A	4.825	b	A
T200-8	3.057	a	A	2.331	a	A	6.429	a	A
T200-12	2.176	b	A	1.969	b	A	4.143	b	A
T200-21	1.647	c	A	1.547	c	A	3.587	b	A
T300-8	3.315	a	A	3.526	a	A	12.038	a	A
T300-12	2.352	b	A	1.797	b	A	9.459	b	A
T300-21	2.396	c	A	1.788	c	A	7.269	b	A
T400-8	2.847	a	A	3.091	a	A	12.291	a	A
T400-12	2.760	b	A	2.132	b	A	7.539	b	A
T400-21	2.002	c	A	1.232	c	A	6.463	b	A
Nivel de significancia									
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			*			*		
C x H	NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

NS, *.No Significativo o significativo para $p < 0,05$, respectivamente.

Cuadro 11. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la concentración de nitrato ($\text{mg NO}_3 \text{kg}^{-1} \text{MF}$) en la nervadura central y pecíolo de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Contenido de nitrato en la nervadura central y pecíolo ($\text{mg NO}_3 \text{kg}^{-1} \text{MF}$)								
	1030 DG			1180 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 4		
T100-8	2.885	a ¹	A ²	5.415	a	A	10.205	a	A
T100-12	2.606	b	A	3.434	b	A	6.565	b	A
T100-21	1.887	b	A	3.296	b	A	7.068	b	A
T200-8	2.646	a	A	4.260	a	A	13.949	a	A
T200-12	1.770	b	A	3.556	b	A	11.985	b	A
T200-21	2.110	b	A	3.850	b	A	7.787	b	A
T300-8	2.602	a	A	4.305	a	A	16.214	a	A
T300-12	2.153	b	A	3.775	b	A	15.371	b	A
T300-21	2.309	b	A	3.894	b	A	12.044	b	A
T400-8	2.184	a	A	3.065	a	A	16.185	a	A
T400-12	2.075	b	A	2.527	b	A	19.621	b	A
T400-21	2.008	b	A	2.651	b	A	13.560	b	A
Nivel de significancia									
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			*			*		
C x H	NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

NS, *.No Significativo o significativo para $p < 0,05$, respectivamente.

Cuadro 12. Prueba de T-student sobre el contenido de nitrato en lámina y nervadura central y pecíolo con un $t_{0,95;2}=2,920$ de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	1030 DG		1180 DG		1540 DG	
	Cosecha 1		Cosecha 2		Cosecha 4	
	t_0 lámina	t_0 nervadura central y peciolo	t_0 lámina	t_0 nervadura central y peciolo	t_0 lámina	t_0 nervadura central y peciolo
T100-8	15,80	7,09	4,90	8,88	6,56	2,99
T200-8	11,79	5,96	5,08	4,22	4,58	7,19
T300-8	11,03	5,40	2,17	4,40	16,21	2,76
T400-8	11,14	6,41	4,74	3,80	16,43	7,99
T100-12	12,35	15,01	7,01*	8,06*	34,14	2,91
T200-12	18,45	7,35	2,85	2,68	14,71	3,53
T300-12	9,97	18,26	19,92	8,54	11,97	6,48
T400-12	8,47	21,41	2,99*	6,78*	12,85	4,35
T100-21	7,19	11,38	6,44	5,04	13,23	3,64
T200-21	12,81	16,44	8,77	22,87	19,24	3,31
T300-21	18,03*	16,37*	8,4*	16,42*	13,00	7,17
T400-21	23,50	16,82	8,81	9,16	5,43	16,85

* t_0 de tabla con 1 grado de libertad (n-1) $t_{0,95;1}= 6,314$

Cuadro 13. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la actividad de la nitrato reductasa ($\text{mg NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$) en hojas de acelga del tipo “baby” cv. SCR107.

Tratamientos	Actividad de la nitrato reductasa ($\text{mg NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	0,0232	b ¹	A ²	0,0165	a	A	0,0271	b	A	0,0144	b	A
T100-12	0,0679	ab	A	0,0651	a	A	0,0350	ab	A	0,0169	ab	A
T100-21	0,0834	a	A	0,0544	a	A	0,0477	a	A	0,0429	a	A
T200-8	0,0075	b	A	0,0307	a	A	0,0210	b	A	0,0111	b	A
T200-12	0,0763	ab	A	0,0414	a	A	0,0462	ab	A	0,0261	ab	A
T200-21	0,0645	a	A	0,0306	a	A	0,0635	a	A	0,0268	a	A
T300-8	0,0452	b	A	0,0285	a	A	0,0332	b	A	0,0077	b	A
T300-12	0,0463	ab	A	0,0371	a	A	0,0569	ab	A	0,0229	ab	A
T300-21	0,0534	a	A	0,0482	a	A	0,0744	a	A	0,0243	a	A
T400-8	0,0433	b	A	0,0286	a	A	0,0190	b	A	0,0144	b	A
T400-12	0,0528	ab	A	0,0320	a	A	0,0304	ab	A	0,0150	ab	A
T400-21	0,0806	a	A	0,0437	a	A	0,0321	a	A	0,0272	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			NS			*			*		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

NS, *. No Significativo o significativo para $p < 0,05$, respectivamente.

APÉNDICE V

Cuadro 1. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la luminosidad de la lámina (L) de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Luminosidad de la lámina (L)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	48,22	a ¹	A ²	47,05	a	A	48,09	a	A	43,86	a	A
T100-12	46,50	ab	A	46,00	ab	A	46,01	b	A	47,28	a	A
T100-21	46,34	b	A	45,17	b	A	43,56	c	A	45,37	a	A
T200-8	46,60	a	A	47,99	a	A	48,36	a	A	47,63	a	A
T200-12	46,52	ab	A	44,47	ab	A	45,12	b	A	45,93	a	A
T200-21	46,13	b	A	42,90	b	A	44,45	c	A	46,81	a	A
T300-8	46,72	a	A	45,82	a	A	46,10	a	A	47,18	a	A
T300-12	46,52	ab	A	43,47	ab	A	44,42	b	A	46,18	a	A
T300-21	46,46	b	A	44,75	b	A	43,52	c	A	44,10	a	A
T400-8	46,84	a	A	46,42	a	A	45,50	a	A	46,65	a	A
T400-12	45,52	ab	A	44,81	ab	A	44,46	b	A	43,70	a	A
T400-21	43,68	b	A	43,82	b	A	43,37	c	A	44,02	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			*			*			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 2. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el croma de la lámina (C) de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Croma de la lámina (C)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	29,66	a ¹	A ²	31,16	a	A	32,69	a	A	29,96	a	A
T100-12	28,90	ab	A	29,98	a	A	32,00	a	A	31,39	a	A
T100-21	28,53	b	A	28,15	a	A	28,28	b	A	29,26	b	A
T200-8	29,53	a	A	30,65	a	A	32,44	a	A	30,99	a	A
T200-12	27,67	ab	A	26,10	a	A	29,61	a	A	30,09	a	A
T200-21	26,25	b	A	29,54	a	A	29,04	b	A	29,95	b	A
T300-8	27,70	a	A	30,49	a	A	30,96	a	A	30,32	a	A
T300-12	28,55	ab	A	27,26	a	A	32,13	a	A	29,78	a	A
T300-21	27,75	b	A	28,17	a	A	28,42	b	A	26,65	b	A
T400-8	27,85	a	A	27,12	a	A	30,04	a	A	30,78	a	A
T400-12	25,87	ab	A	27,54	a	A	30,22	a	A	28,98	a	A
T400-21	25,79	b	A	29,30	a	A	28,44	b	A	28,12	b	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			NS			*			*		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value< 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value< 0,05).

NS, *.No Significativo o significativo para p< 0,05, respectivamente.

Cuadro 3. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el tono de la lámina (H) de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Tono de la lámina (H)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	125,06	a ¹	A ²	125,22	b	A	123,68	a	A	124,92	b	A
T100-12	123,65	a	A	125,05	a	A	122,98	a	A	124,64	b	A
T100-21	123,61	a	A	125,79	b	A	124,84	a	A	125,22	a	A
T200-8	123,66	a	A	123,68	b	A	123,59	a	A	124,50	b	A
T200-12	123,96	a	A	124,66	a	A	123,92	a	A	124,02	b	A
T200-21	124,66	a	A	125,30	b	A	123,80	a	A	125,41	a	A
T300-8	124,89	a	A	124,74	b	A	123,49	a	A	125,28	b	A
T300-12	123,81	a	A	125,27	a	A	123,90	a	A	125,04	b	A
T300-21	124,13	a	A	125,68	b	A	123,71	a	A	126,64	a	A
T400-8	124,66	a	A	124,80	b	A	124,26	a	A	124,53	b	A
T400-12	123,98	a	A	125,49	a	A	123,95	a	A	124,77	b	A
T400-21	124,93	a	A	124,85	b	A	124,14	a	A	125,61	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	NS			*			NS			*		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 4. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la luminosidad de la nervadura central y pecíolo (L) de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Luminosidad de la nervadura central y pecíolo (L)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	55,14	a ¹	A ²	53,89	ab	A	55,55	c	A	59,40	a	A
T100-12	47,58	a	A	51,70	b	A	57,05	b	A	59,02	a	A
T100-21	49,77	a	A	56,87	a	A	58,80	a	A	60,81	a	A
T200-8	55,15	a	A	53,55	ab	A	53,96	c	A	59,81	a	A
T200-12	49,77	a	A	53,61	b	A	57,63	b	A	61,78	a	A
T200-21	47,68	a	A	57,14	a	A	60,35	a	A	61,23	a	A
T300-8	51,46	a	A	54,95	ab	A	55,32	c	A	59,25	a	A
T300-12	52,12	a	A	51,72	b	A	55,98	b	A	59,20	a	A
T300-21	47,99	a	A	56,29	a	A	58,72	a	A	60,59	a	A
T400-8	53,79	a	A	51,56	ab	A	53,42	c	A	57,65	a	A
T400-12	50,21	a	A	52,65	b	A	57,89	b	A	58,69	a	A
T400-21	50,92	a	A	54,29	a	A	57,46	a	A	60,27	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	NS			*			*			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 5. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el croma de la nervadura central y pecíolo (C) de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Croma de la nervadura central y pecíolo (C)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	42,11	a ¹	A ²	45,71	b	A	51,85	b	A	55,26	a	A
T100-12	45,22	a	A	44,18	b	A	52,56	a	A	54,38	a	A
T100-21	44,92	a	A	49,15	a	A	53,53	a	A	54,24	a	A
T200-8	44,23	a	A	40,53	b	A	48,79	b	A	56,51	a	A
T200-12	45,18	a	A	44,64	b	A	56,34	a	A	58,51	a	A
T200-21	44,20	a	A	53,11	a	A	55,08	a	A	56,21	a	A
T300-8	47,81	a	A	41,60	b	A	50,65	b	A	55,49	a	A
T300-12	47,66	a	A	48,04	b	A	53,45	a	A	55,05	a	A
T300-21	43,69	a	A	50,84	a	A	56,02	a	A	56,77	a	A
T400-8	48,45	a	A	48,63	b	A	50,25	b	A	51,84	a	A
T400-12	47,25	a	A	44,14	b	A	55,51	a	A	55,64	a	A
T400-21	48,20	a	A	53,81	a	A	55,48	a	A	56,26	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	NS			*			*			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value< 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value< 0,05).

NS, *.No Significativo o significativo para p< 0,05, respectivamente.

Cuadro 6. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el tono de la nervadura central y pecíolo (H) de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Tono de la nervadura central y pecíolo (H)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	96,14	a ¹	A ²	96,74	a	A	94,08	a	A	96,13	a	A
T100-12	99,33	a	A	96,23	a	A	93,65	ab	A	96,26	a	A
T100-21	100,87	a	A	101,96	a	A	93,42	b	A	94,47	a	A
T200-8	97,30	a	A	96,12	a	A	94,07	a	A	93,63	a	A
T200-12	98,62	a	A	95,00	a	A	92,79	ab	A	95,13	a	A
T200-21	97,93	a	A	98,55	a	A	93,23	b	A	95,56	a	A
T300-8	98,75	a	A	95,24	a	A	93,16	a	A	95,87	a	A
T300-12	99,40	a	A	96,07	a	A	92,46	ab	A	97,81	a	A
T300-21	99,74	a	A	94,38	a	A	91,60	b	A	97,00	a	A
T400-8	100,00	a	A	95,24	a	A	94,32	a	A	98,46	a	A
T400-12	98,69	a	A	98,05	a	A	93,53	ab	A	93,93	a	A
T400-21	96,71	a	A	94,31	a	A	92,45	b	A	95,97	a	A
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	NS			NS			*			NS		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 7. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el porcentaje de masa seca (%) de la lámina de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Porcentaje de masa seca de lámina (%)					
	1030 DG		1180 DG		1540 DG	
	Cosecha 1		Cosecha 2		Cosecha 4	
T100-8	4,50	a ¹ A ²	7,65	a A	7,11	a A
T100-12	6,45	a A	9,32	a A	7,49	b A
T100-21	9,37	a A	9,71	a A	9,30	c A
T200-8	4,17	a A	9,11	a A	7,65	a A
T200-12	6,12	a A	9,21	a A	8,59	b A
T200-21	9,17	a A	9,80	a A	8,78	c A
T300-8	9,34	a A	8,84	a A	7,11	a A
T300-12	4,81	a A	9,47	a A	8,16	b A
T300-21	8,72	a A	8,66	a A	8,58	c A
T400-8	4,96	a A	8,29	a A	7,62	a A
T400-12	6,28	a A	8,99	a A	8,39	b A
T400-21	4,15	a A	9,40	a A	9,87	c A
Nivel de significancia						
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS		NS		NS	
Hora de cosecha (H)	NS		NS		*	
C x H	NS		NS		NS	

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 8. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el porcentaje de masa seca (%) de nervadura central y pecíolo de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Porcentaje de masa seca de nervadura central y pecíolo (%)								
	1030 DG			1180 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 4		
T100-8	2,69	a ¹	A ²	6,69	b	A	5,94	a	A
T100-12	4,40	a	A	11,52	ab	A	6,32	a	A
T100-21	9,17	a	A	15,04	a	A	7,11	b	A
T200-8	3,02	a	A	7,76	b	A	6,61	a	A
T200-12	16,00	a	A	9,76	ab	A	7,12	a	A
T200-21	6,47	a	A	15,33	a	A	7,16	b	A
T300-8	4,09	a	A	7,92	b	A	5,74	a	A
T300-12	2,40	a	A	8,56	ab	A	5,69	a	A
T300-21	17,37	a	A	9,63	a	A	11,52	b	A
T400-8	3,21	a	A	7,14	b	A	5,81	a	A
T400-12	2,91	a	A	8,88	ab	A	5,68	a	A
T400-21	11,42	a	A	9,12	a	A	11,25	b	A
Nivel de significancia									
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	NS			*			*		
C x H	NS			NS			NS		

¹ Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

² Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 9. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre el porcentaje de masa seca (%) de hoja de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Porcentaje de masa seca de hoja (%)								
	1030 DG			1180 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 4		
T100-8	4,11	b ¹	A ²	8,75	a	A	6,87	b	A
T100-12	5,46	b	A	9,55	a	A	7,92	b	A
T100-21	9,20	a	A	9,41	a	A	8,97	a	A
T200-8	3,91	b	A	10,09	a	A	7,44	b	A
T200-12	4,29	b	A	9,26	a	A	8,37	b	A
T200-21	8,96	a	A	9,50	a	A	8,52	a	A
T300-8	7,96	b	A	9,90	a	A	6,87	b	A
T300-12	4,15	b	A	9,01	a	A	7,69	b	A
T300-21	10,45	a	A	8,43	a	A	9,15	a	A
T400-8	4,34	b	A	9,12	a	A	7,24	b	A
T400-12	6,74	b	A	8,71	a	A	7,93	b	A
T400-21	13,49	a	A	8,97	a	A	10,07	a	A
Nivel de significancia									
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			NS			NS		
Hora de cosecha (H)	*			NS			*		
C x H	NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey (p-value < 0,05).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey (p-value < 0,05).

NS, *. No Significativo o significativo para p < 0,05, respectivamente.

Cuadro 10. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la concentración de nitrato ($\text{mg NO}_3 \text{kg}^{-1} \text{MF}$) en la lámina de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Contenido de nitrato en lámina ($\text{mg NO}_3 \text{kg}^{-1} \text{MF}$)								
	1030 DG			1180 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 4		
T100-8	2.945	a ¹	A ²	3.386	a	A	8.971	a	A
T100-12	2.796	b	A	1.468	b	A	4.760	b	A
T100-21	2.305	c	A	1.863	b	A	6.522	b	A
T200-8	3.593	a	A	3.307	a	A	7.787	a	A
T200-12	2.408	b	A	1.652	b	A	6.297	b	A
T200-21	1.770	c	A	1.524	b	A	6.985	b	A
T300-8	2.446	a	A	3.546	a	B	12.721	a	B
T300-12	2.027	b	A	2.433	b	B	9.670	b	B
T300-21	2.164	c	A	1.955	b	B	10.044	b	B
T400-8	2.459	a	A	5.072	a	A	16.296	a	A
T400-12	2.404	b	A	2.392	b	A	11.264	b	A
T400-21	1.967	c	A	1.906	b	A	12.044	b	A
Nivel de significancia									
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			*			*		
Hora de cosecha (H)	*			*			*		
C x H	NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

NS, *.No Significativo o significativo para $p < 0,05$, respectivamente.

Cuadro 11. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la concentración de nitrato ($\text{mg NO}_3 \text{kg}^{-1} \text{MF}$) en la nervadura central y pecíolo de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Contenido de nitrato en la nervadura central y pecíolo ($\text{mg NO}_3 \text{kg}^{-1} \text{MF}$)								
	1030 DG			1180 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 4		
T100-8	4.709	a ¹	A ²	5.606	a ¹	A	7.049	a ¹	A
T100-12	1.888	b	A	3.645	b	A	4.364	b	A
T100-21	2.238	b	A	4.278	b	A	5.770	b	A
T200-8	5.737	a	A	5.770	a	A	13.436	a	A
T200-12	2.083	b	A	3.064	b	A	7.691	b	A
T200-21	3.617	b	A	4.411	b	A	7.238	b	A
T300-8	5.978	a	A	5.153	a	A	13.816	a	A
T300-12	3.775	b	A	3.316	b	A	13.544	b	A
T300-21	1.059	b	A	3.056	b	A	12.731	b	A
T400-8	5.527	a	A	6.975	a	B	20.752	a	B
T400-12	1.721	b	A	6.243	b	B	16.232	b	B
T400-21	1.644	b	A	6.023	b	B	15.541	b	B
Nivel de significancia									
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	NS			*			*		
Hora de cosecha (H)	*			*			*		
C x H	NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

NS, *.No Significativo o significativo para $p < 0,05$, respectivamente.

Cuadro 12. Prueba de T-student sobre el contenido de nitrato en lámina y nervadura central y pecíolo con un $t_{0,95;2}=2,920$ de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	1030 DG		1180 DG		1540 DG	
	Cosecha 1		Cosecha 2		Cosecha 4	
	t_0 lámina	t_0 nervadura central y peciolo	t_0 lámina	t_0 nervadura central y peciolo	t_0 lámina	t_0 nervadura central y peciolo
T100-8	5,26	5,46	6,87	9,97	10,46	5,56
T200-8	10,13	5,10	17,71	21,95	15,71	7,96
T300-8	6,14	11,07	8,02	15,84	6,60	9,35
T400-8	9,29*	11,17*	6,05	8,23	19,29	12,57*
T100-12	7,63	8,95	10,41	14,04	12,81	4,24
T200-12	5,37	4,95	3,85	2,11	24,20	3,02
T300-12	12,58	2,65	11,84	6,61	16,21	5,92
T400-12	5,57	16,37	8,54	11,85	15,67	13,39
T100-21	9,19	5,68	9,89	7,34	12,30	13,73
T200-21	4,19	13,47	13,75	11,33	16,08	4,01
T300-21	17,98	13,36	9,01*	7,71*	16,10	4,22
T400-21	10,54	18,73	27,53	21,59	16,05	6,89

* $t_{0,95;1}= 6,314$ t de tabla con 1 grado de libertad (n-1)

Cuadro 13. Efecto de la interacción de la concentración de nitrógeno en la solución nutritiva y de la hora de cosecha sobre la actividad de la nitrato reductasa ($\text{mg NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$) en hojas de acelga del tipo “baby” cv. Oriole.

Tratamientos	Actividad de la nitrato reductasa ($\text{mg NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ MF h}^{-1}$)											
	1030 DG			1180 DG			1400 DG			1540 DG		
	Cosecha 1			Cosecha 2			Cosecha 3			Cosecha 4		
T100-8	0,0713	b ¹	A ²	0,0684	b	A	0,0444	b	A	0,0263	b	A
T100-12	0,0715	b	A	0,0725	b	A	0,0586	b	A	0,0454	b	A
T100-21	0,0904	a	A	0,0925	a	A	0,0828	a	A	0,0563	a	A
T200-8	0,0500	b	B	0,0193	b	B	0,0279	b	B	0,0130	b	B
T200-12	0,0182	b	B	0,0425	b	B	0,0427	b	B	0,0206	b	B
T200-21	0,0675	a	B	0,0660	a	B	0,0471	a	B	0,0348	a	B
T300-8	0,0441	b	B	0,0391	b	B	0,0311	b	B	0,0138	b	B
T300-12	0,0336	b	B	0,0383	b	B	0,0456	b	B	0,0181	b	B
T300-21	0,0541	a	B	0,0598	a	B	0,0412	a	B	0,0398	a	B
T400-8	0,0302	b	B	0,0295	b	B	0,0254	b	B	0,0131	b	B
T400-12	0,0430	b	B	0,0331	b	B	0,0275	b	B	0,0169	b	B
T400-21	0,0641	a	B	0,0543	a	B	0,0478	a	B	0,0334	a	B
Nivel de significancia												
Concentración de N en la solución nutritiva (C)	*			*			*			*		
Hora de cosecha (H)	*			*			*			*		
C x H	NS			NS			NS			NS		

1 Letras minúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor hora de cosecha según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

2 Letras mayúsculas distintas en sentido vertical dentro de cada cosecha indican diferencias significativas para el factor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva según test de Tukey ($p\text{-value} < 0,05$).

NS, *. No Significativo o significativo para $p < 0,05$, respectivamente.