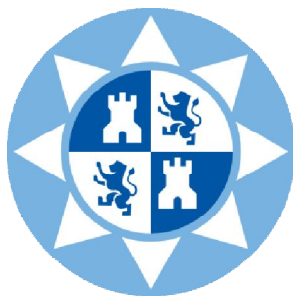
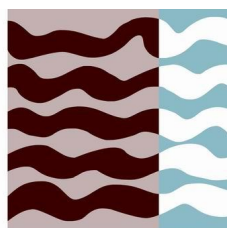


UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA



ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



ETSIA
Cartagena

PROYECTO FIN DE CARRERA

**EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE AIREACIÓN EN LA
SOLUCIÓN NUTRITIVA EN DOS VARIEDADES DE COLLEJA
(*Silene vulgaris*) CULTIVADAS EN BANDEJAS FLOTANTES**

AUTOR

Cristina Ortega Calzada

DIRECTORES

Encarnación Conesa Gallego
Juan Antonio Fernández Hernández

Cartagena, Septiembre 2013



<u>ÍNDICE</u>	<u>Página</u>
<u>1. RESUMEN</u>	5
<u>2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE <i>Silene vulgaris</i></u>	6
2.1. Historia/ Origen/ Hábitat/ Distribución	6
2.2. Descripción botánica.....	7
2.3. Caracterización fenotípica y fenológica	8
2.4. Reproducción	9
2.5. Usos y propiedades	9
2.5.1 Usos	9
2.5.1.1 <i>Uso como planta comestible</i>	10
2.5.1.2 <i>Uso como planta medicinal</i>	11
2.5.1.3 <i>Uso como fitorremediación</i>	11
2.5.1.4 <i>Otros usos de Silene vulgaris</i>	12
2.5.2 Propiedades	12
<u>3. CULTIVO HIDROPÓNICO</u>	12
3.1 ¿Qué es?.....	12
3.2 Cultivo en bandejas flotantes (Floating System)	13
3.3 Aireación en cultivo en bandejas flotantes	15
3.4 Ventajas e inconvenientes de la hidroponía	17
3.4.1 Ventajas	17
3.4.2 Inconvenientes.....	18
<u>4. COMPUESTOS QUÍMICOS EN LAS PLANTAS</u>	19



4.1 Nitrógeno	19
4.1.1 Peligro de los nitratos en el hombre	20
4.3 Oxalatos	21
4.3 Fenoles	25
4.4 Capacidad Antioxidante	25
5. OBJETIVOS	27
6. MATERIAL Y MÉTODOS	28
6.1 MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES	28
6.1.1 Preparación de las instalaciones	28
6.1.2 Siembra y conducción del cultivo	29
6.1.3 Composición de la solución nutritiva y el diseño experimental .	30
6.2 Muestreo y toma de datos	33
6.3 Determinación de nitratos y oxalatos	34
6.4 Determinación del contenido de fenoles y capacidad antioxidante	36
6.4.1 Fenoles	36
6.4.2 Capacidad antioxidante	38
7. RESULTADOS	43
7.1 Resultados primera siembra	43
7.1.1 Parte aérea	43
7.1.2 Parte radical	49



7.1.3 Contenidos en nitratos, oxalatos, fenoles totales y capacidad antioxidante en las hojas de colleja	50
7.2 Resultados segunda siembra	50
7.2.1 Parte aérea	50
7.2.2 Parte radical	56
7.2.3 Contenidos en nitratos, oxalatos, fenoles totales y capacidad antioxidante en las hojas de colleja	57
8.DISCUSIÓN	59
8.1 Parámetros aéreos	59
8.2 Parámetros radiculares	60
8.3 Contenido en nitratos, oxalatos, fenoles totales y antioxidantes	61
8.3.1 Nitratos	61
8.3.2 Oxalatos	62
8.3.3 Fenoles	62
8.3.4 Capacidad antioxidante	62
9. CONCLUSIONES	63
10. BIBLIOGRAFÍA	65



1. RESUMEN

La colleja es un cultivo tradicional, poco extendido en la actualidad, pero que puede servir de alternativa a los principales cultivos foliáceos. El cultivo en bandejas flotantes resulta una técnica sencilla e interesante para la producción de hortalizas de hoja de pequeño tamaño tipo "baby leaf", ofreciendo una buena posibilidad en el manejo y control de la solución nutritiva, por lo que puede ser usada para producir verduras con bajos contenidos en nitratos y oxalatos.

El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de diferentes tipos de aireación en la solución nutritiva en la calidad y producción de colleja (*Silene vulgaris*) tipo "baby leaf" en bandejas flotantes (floating system), a través de la determinación de concentraciones de nitratos, oxalatos y variables de crecimiento vegetativo.

En este trabajo se realizaron dos ensayos en fechas distintas, en el primer ensayo se utilizó una variedad de colleja la accesión 324 proveniente del banco de germoplasma de la UPCT. La siembra del primer ensayo se realizó el 24 de Octubre de 2008, en bandejas tipo styrofloat, con una duración de cultivo de 34 días. En la siembra del segundo ensayo se utilizaron dos variedades de colleja, la accesión 324 y la accesión 323. La siembra, del segundo ensayo se realizó el 10 de Diciembre de 2008, en bandejas tipo styrofloat, con una duración de cultivo de 53 días. En ambas plantaciones se ensayaron cuatro tipos de aireación en las soluciones nutritivas, control (sin aireación), baja, media y alta aireación.

Los resultados demuestran que en el primer ensayo la aireación mejora el crecimiento de la planta y aumenta las concentraciones de nitratos, oxalatos, fenoles y capacidad antioxidante, un tratamiento sin aireación, a diferencia del segundo ensayo, donde ambas variedades se vieron beneficiadas por un tratamiento con alta aireación.



2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE *Silene vulgaris*

2.1 Historia/ Origen/ Hábitat/ Distribución

La colleja (*Silene vulgaris* (Moench) Garcke) es una especie nativa de origen euro-asiático (Wall y Morrison, 1990). La especie *S. vulgaris* comprende varias subespecies: Subsp. *vulgaris*, Subsp. *conmutata* (Guss), Subsp. *glareosa* (Jordan) y Subsp. *próstata* (Gaudin). La subespecie *S. vulgaris* está presente en todo el continente Europeo, excepto en algunas islas del Norte (Chater y Walters, 1964).

Mientras que en el Norte y Centro de Europa se encuentra exclusivamente en hábitats alterados (bordes de caminos, márgenes de cultivos), en el Sur de Europa y la región Mediterránea las Subsp. *conmutata* y Subsp. *prostata*, aparecen principalmente en hábitat montañosos naturales o seminaturales (Jalas y Souminen, 1986). Probablemente estas poblaciones más septentrionales se hayan extendido siguiendo la expansión de la agricultura (Runyeon y Prentice, 1997).

También, otros estudios indican que *S. vulgaris* está presente en toda Europa, Norte de África y Centro y Oeste de Asia, hallando su ambiente óptimo en los países de clima mediterráneos. Se encuentra además, como planta invasora, en otras regiones del globo, como ocurre en Norteamérica (Shetler y Skog, 1978).

Las collejas (nombre común de esta especie), viven en pastizales algo embravecidos, cunetas, inmediaciones de cortijos y ermitas rurales, y en general terrenos algo compactados y no sometidos a laboreos anuales; no es raro verlas al pie de encinas u otros grandes árboles, donde la presencia de plantas espinosas cercanas, como las esparragueras, ayudan a protegerlas del diente del ganado. Tampoco faltan junto a los muros de las huertas, e incluso en alguna calle del casco urbano. Escasean en los hábitats más evolucionados como jarales, manchas y encinares. Prefieren los suelos arenosos, donde sus raíces crecen con menos impedimentos, aunque aparecen también en los derivados de pizarras y otras rocas compactas. Esta especie está



presente en una variedad de hábitats alterados, incluyendo minas de zinc y plomo abandonadas.

2.2 Descripción botánica

El nombre científico de la colleja es *Silene vulgaris* (Moench) Garcke. Esta planta pertenece a la familia *Caryophyllaceae*, al género *Silene* y a la subespecie *vulgaris* (figura1)

Clasificación Científica	
Nombre científico	<i>Silene vulgaris</i> (Moench) Garcke
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Caryophyllales</i>
Familia	<i>Caryophyllaceae</i>
Subfamilia	<i>Caryophylloideae</i>
Género	<i>Silene</i>
Especie	<i>S.vulgaris</i>
Subespecie	<i>vulgaris</i>

Figura 1. Clasificación científica de *Silene vulgaris* (Moench) Garcke

Esta planta es una especie muy polifórmica, con una gran variedad tanto inter como intrapoblacional, por lo que se han descrito multitud de subespecies y de tipos



biológicos. Por eso a veces se habla, desde el punto de vista taxonómico, del complejo o grupo *Silene vulgaris* (Wall y Morrison, 1990). Esta gran variabilidad ha sido descrita tanto en estudios llevados a cabo mediante la observación fenotípica de caracteres morfológicos (Willians, 1908; Mariden-Jones y Turril, 1957; Aeschiman y Boucket, 1980), como en estudios isoenzimáticos (Prentice y Giles, 1993; Ruyeon y Prentice, 1997) y en evaluaciones agronómicas (Wall y Morrison, 1990). Todo ello pone de manifiesto el potencial de los recursos genéticos de esta especie silvestre.

2.3 Caracterización fenotípica y fenológica

La colleja (*Silene vulgaris*) es una especie perenne de 35-80 cm, glabra, normalmente lampiña y de base leñosa. Contiene tallos erectos y ramificados y posee hojas coriáceas, opuestas, lanceoladas, las inferiores pecioladas y las medias sésiles, lineares u ovadas, las superiores abrazadoras. Sus flores son hermafroditas con cinco pétalos blancos muy lobulados, muy inflados de tal forma que después sirven de cubierta al fruto. Tiene un cáliz glabro con los sépalos soldados y con 20 nervios y dientes triangulares. Gineceo con tres estilos e inflorescencias con muchas flores agrupadas en dicasio y con bractéolas escariosas. Su fruto es una cápsula con seis dientes erectos o erecto patentes (Jolls y Chenier, 1989).

S. vulgaris es una planta vivaz, cuyas partes aéreas se angostan a finales del verano o con la llegada del frío, aunque en años benévolos pueden permanecer sobre el suelo rosetones de hojas, rebrotando la cepa con la llegada de las temperaturas primaverales más cálidas. En otras zonas de España, cerca del litoral, tienden a poseer hojas durante todo el año.

Esta planta sobrevive y se expande gracias a un denso sistema de estolones o tallos subterráneos que crecen cada año, dando lugar a colonias densas de rosetas de



hojas, de las que a mediados de la primavera emergen tallos portadores de flores con pétalos blancos, parcialmente envueltos por un cáliz en forma de saco. A partir de cada flor se forma el fruto (cápsula), que aloja numerosas semillas oscuras y arriñonadas. Las semillas están cubiertas de pequeños tubérculos, que facilitan su dispersión.



Fig.2 Planta *Silene vulgaris*



Fig.3 Flor de *Silene vulgaris*

2.4 Reproducción

La propagación y reproducción de *Silene vulgaris* ocurre de dos formas distintas, forma sexual (a través de semillas) y forma asexual (a través de la división de rizomas o yemas vegetativas).

Dentro de poblaciones es posible encontrar tres tipos de individuos: plantas femeninas con únicamente flores pistiladas y antenas rudimentarias, plantas hermafroditas con flores perfectas y plantas con ambos tipos de flores (gynodiecia), variando en el grado de la función femenina, aunque no se ha observado cambios de sexo (Jolls y Chenier, 1989).

2.5 Usos y propiedades

2.5.1 USOS



2.5.1.1 Uso como planta comestible

El número de especies vegetales con alta importancia alimentaria para la población humana o para otro uso es respectivamente bajo. Aunque el número de especies que puede ser utilizado es efectivamente alto, en los últimos años ha ido decreciendo el número de las que se usan de forma significativa (Hammer, 1986). El número exacto de especies vegetales usado por la humanidad es verdaderamente difícil de establecer debido principalmente a la escasa o nula información que existe acerca de tales plantas (Pignatti, 1982).

De todas las plantas silvestres alimentarias, uno de los grupos más importantes es el de las verduras silvestres y entre ellas podríamos destacar algunas cuyo uso tradicional se encuentra más extendido geográficamente, al tiempo que se mantiene relativamente vigente en la actualidad, como es el caso de la colleja, la cual es recolectada y usada tradicionalmente en prácticamente todos los lugares en los que habita e incluso en algunos lugares llega a producirse la comercialización de material procedente de recolección silvestre, a unos precios elevados pues se trata de una producción escasa (Alarcón et al., 2004).

La colleja es una de las plantas comestibles autóctonas por excelencia en toda la región Mediterránea, pudiendo consumirse las hojas y los tallos tiernos, incluso en crudo. Es una verdura muy fina, hasta el punto de que ni siquiera suele ser necesario eliminar el agua de cocción para consumirlas. El hervido previo es recomendable para reblandecer los tejidos de la hoja, aunque no necesario. Puede emplearse en guisos, pero la tradición se inclina más por su consumo en tortilla, bastando sofreír previamente las hojas, con o sin cocción preliminar. Su empleo como verdura tradicional se ha ido abandonando con el tiempo, probablemente por lo laborioso de su preparación, ya que las hojas deben separarse de los tallos una a una.

Se utilizan los brotes más tiernos, que son muy apreciados. Se suele preparar hervida, y se añade a tortillas, arroces...



2.5.1.2 Uso como planta medicinal

La parte utilizada son las hojas tiernas y sirven como tónico digestivo que aumenta el apetito y facilita la digestión. También se puede utilizar como depurativo de la sangre. Se toma después del vómito con el fin de relajar el estómago después del reflejo emético.

2.5.1.3 Uso como fitorremediación

S. vulgaris ha desarrollado poblaciones (ecotipos) con una fuerte tolerancia a metales pesados en sitios con altas concentraciones de éstos en el suelo (Ernst, 1974; Schat et al., 1996). Los mecanismos implicados en la alta tolerancia a metales pesados son en gran parte explicados por factores genéticos (Schat y Vooijs, 1997).

La tolerancia a altos niveles de Cu en *S. vulgaris* se ha sugerido que es causada por un mecanismo de segregación paterna, resultado de los cruces entre poblaciones de plantas sensitivas a Cu y poblaciones de plantas tolerantes a dicho metal. Este mecanismo de segregación puede ser controlado por dos genes tolerantes y algunos modificadores hipostáticos (Schat y Ten Boockum, 1992; Schat et al., 1993; 1996), aunque la naturaleza y fisiología de estos genes no han sido identificadas plenamente todavía.

Por otra parte, se ha demostrado que las raíces de plantas tolerantes acumulan más Zn que las de aquellas plantas sensibles (Mathys, 1975; Harmens et al., 1993).

La fitorremediación es la descontaminación de los suelos, la depuración de las aguas residuales o la limpieza del aire interior, usando plantas vasculares, algas (fitorremediación) u hongos (micorremediación).

En diversos estudios se ha comprobado la efectividad de *S. vulgaris* como planta fitorremediadora de metales pesados en el suelo: Zn y Cd (Verkleij y Prast, 1989); Cd (Chardonnens et al., 1998); Zn (Harmens et al., 1993); Zn y Cd (Ernst y



Nelissen, 2000). En otros estudios también se ha constatado la utilidad de *S. vulgaris* en la fitorremediación de metales pesados (Chaney et al., 1997).

2.5.1.4 Otros usos de *Silene vulgaris*

La planta se ha empleado como emoliente y uso en baños o como fumigante. El jugo de las plantas es usado en tratamientos de oftalmología (Chopra et al., 1986).

Las raíces de la planta son usadas como un jabón sustituto para el lavado de ropa (Uphof, 1959; Usher, 1974). El jabón es obtenido por inmersión de las raíces en agua caliente.

2.5.2 PROPIEDADES

Destaca por ser beneficiosa para el sistema cardiaco. Es rica en antioxidantes, y cuenta con propiedades anticancerígenas debido a su alto contenido de flavonoides, ácidos grasos, omega-3, carotenos y polifenoles.

3. CULTIVO HIDROPÓNICO

3.1 ¿Qué es?

Etimológicamente el concepto hidroponía deriva del griego y significa literalmente trabajo o cultivo (ponos) en agua (hydros).

El cultivo hidropónico en su concepción más amplia, engloba a todo sistema de cultivo en el que las plantas completan su ciclo vegetativo sin la necesidad de emplear el suelo, suministrando la nutrición hídrica y la totalidad o parte de la nutrición mineral mediante una solución en la que van disueltos los diferentes nutrientes esenciales para su desarrollo.



El concepto es equivalente al de “cultivos sin suelo”, y supone el conjunto de cultivo en sustrato (orgánico o inorgánico), más el cultivo en agua. (Alarcón, 2006).

Este cultivo sin suelo permite optimizar la producción y el crecimiento ya que controla ciertos factores decisivos (solución nutritiva, contenido en humedad, temperatura, etc.), para un desarrollo óptimo de la planta. Algunos métodos emplean sustratos orgánicos (turbas) o inorgánicos (vermiculita, arena, grava, lana de roca, etc.), permitiendo el anclaje de las raíces, a diferencia de los que no prevén un soporte para tal fin (Castagnino et al., 2005).

3.2 Cultivo en bandejas flotantes (Floating System)

Técnica en la cual las bandejas que contienen las plantas flotan de forma continua en una cama de agua o solución nutritiva con una altura entre 5 y 10 cm.

Este método, de cultivo en bandejas flotantes, consiste en camas relativamente profundas, niveladas con respecto al suelo, con una base de plástico impermeable que cubre toda la parte superior de la cama y en donde se vierte cierta cantidad de solución nutritiva constituida por agua y fertilizantes.

En dicha cama se dejan flotando los soportes flotantes con el sustrato, que normalmente son de poliestireno de alta densidad.

En el “Floating system” el tipo de bandeja muy utilizado es el “styrofloat”, donde los comunes alvéolos han sido sustituidos por fisuras tronco-cónicas de muy poco volumen, que limitan al máximo la utilización del sustrato, únicamente necesario para soportar la semilla (Niñirola, 2008).



Fig.4 Bandeja sin sustrato



Fig.5 Bandeja con sustrato

Siendo así, el empleo de semillas para el inicio del cultivo presenta ventajas sobre el método tradicional: optimización de la germinación, menor empleo de mano de obra, posibilidades de anticipar la entrada al mercado en casi un mes, mejor control de malas hierbas y una mayor calidad del producto final (Ramponi, 2000).

El sistema de riego es un factor fundamental a tener en cuenta, una vez que va a influir sobre el desarrollo del cultivo., y se recircula el agua en torno a 2 ó 3 litros por minuto cada 24 horas

Este cultivo constituye una técnica económica y rápida de producción en hidroponía, alternativa al monocultivo sobre terreno desinfectado, fundamentalmente ante la prohibición de uso del bromuro de metilo (Sportelli, 2003).

Respetando los sistemas tradicionales de cultivo, aquellos cultivos sin suelo y en particular los de bandejas flotantes, ofrecen interesantes perspectivas y garantizan mayores posibilidades de reducir el contenido de nitratos (Sportelli, 2003) al remplazar, en los últimos días del ciclo de producción, la solución nutritiva utilizada por agua. De esta manera, se evitan los riesgos de metahemoglobiemia causados por los cultivos de invernadero que acumulan en exceso nitratos, que una vez consumidos, en la boca se transforman en nitritos cuyo consumo puede resultar tóxico para la salud humana (Castagnino et al., 2005).



Además, la difusión de enfermedades fúngicas de las hojas son prácticamente nulas por la falta de humedad de las hojas y el producto terminado (hortalizas de hojas) resulta limpio y listo para el embolsado y la venta

En la actualidad el uso de este sistema va desde la producción de plántulas para su posterior trasplante hasta la producción de hortalizas de gran tamaño.

3.3 Aireación en cultivo en bandejas flotantes:

La aireación de la solución nutritiva en cultivos en "Floating System" es indispensable para la producción de cultivos de hoja. La concentración de oxígeno en la solución nutritiva disminuye al aumentar la temperatura. Por este motivo, durante los periodos más cálidos, a fin de evitar la asfixia radical, es conveniente emplear oxigenadores (Castagnino, et al., 2005).

Todo esto hace que un aspecto fundamental en este tipo de cultivo sea la aireación, responsable de la oxigenación de la solución nutritiva indispensable en la producción de cultivos de hoja.

Zheng et al. (2007), indican que un ambiente radical bien oxigenado es esencial para la salud del sistema radical (absorción de nutrientes, crecimiento y mantenimiento de raíces) y la prevención de enfermedades radicales.

En el proceso de la optimización de la producción de los cultivos es necesario realizar evaluación de diversos factores que puedan afectar la producción y calidad. Este importante aspecto de los cultivos sin suelo se resuelve mediante varios métodos. Tal vez el más usado, es el burbujeo de aire continuo con un compresor. Su facilidad de construcción así como su flexibilidad para el uso en unidades caseras lo hace muy recomendable, también se utiliza con fines comerciales (Resh, 2001).

En general por debajo de los 3-4 mg/l de oxígeno disuelto en la solución se produce una disminución en el crecimiento radical, apareciendo un empardecimiento



de este, tal vez sea el síntoma más precoz y fácilmente destacable de los primeros problemas al respecto.

Uno de los principales problemas de este sistema de cultivo es el estancamiento de la solución nutritiva en las camas de cultivo, esto suele dar lugar a dos situaciones no deseadas: aparición de algas en suspensión en la solución nutritiva y la pérdida de rendimiento que se ve reflejada en forma de carencias en nutrientes, peso seco...

Una consecuencia secundaria, al disminuir el oxígeno, es la aparición de poblaciones de microorganismos no deseados en el medio, la importancia de este factor se ve al observar la estrecha correlación exponencial entre la concentración de oxígeno en la solución nutritiva y los pesos secos de la raíz y vástago. En el caso de ser un sistema recirculante es posible aumentar la oxigenación de la solución nutritiva provocando un salto del drenaje (50 cm aprox.) en el tanque de recogida.

Como en otros sistemas hidropónicos, en un sistema de flotación, las plantas, pueden sufrir hipoxia porque las raíces gradualmente consumen el oxígeno disuelto en la solución de nutrientes. El fenómeno de la hipoxia es particularmente agudo en los períodos de calor, cuando el agua aumenta de temperatura, debido a que el nivel de saturación de oxígeno del agua disminuye y aumenta la tasa de respiración de las raíces (Morard y Silvestre et al., 1996). Por lo tanto, una concentración adecuada de oxígeno en el ambiente de la raíz es necesario para garantizar la funcionalidad de las raíces, ya que la falta de oxígeno reduce la absorción de agua y minerales por la planta, que puede limitar el crecimiento y, en consecuencia, el rendimiento del cultivo (Tesi et al., 2003).

Para evitar cualquier repercusión negativa en el rendimiento, los agricultores deben airear la solución nutritiva para enriquecerla con oxígeno.



Figura 6. Cama con estancamiento de la solución nutritiva

3.4 Ventajas e inconvenientes de la hidroponía

El cultivo sin suelo presenta una serie de características que lo diferencian, y en algunos aspectos lo “aventajan”, sobre el cultivo sin suelo:

3.4.1 Ventajas

- Balance ideal de aire, agua y nutrientes
- Humedad uniforme
- Excelente drenaje
- Permite una mayor densidad de población
- Se puede corregir fácil y rápidamente la deficiencia o el exceso de un nutriente
- Perfecto control de pH
- No depende tanto de los fenómenos meteorológicos
- Más altos rendimiento por unidad de superficie
- Mayor calidad del producto
- Mayor precocidad en los cultivos
- Posibilidad de cultivar repetidamente la misma especie de planta



- Posibilidad de varias cosechas al año
- Uniformidad en los cultivos
- Se requiere mucho menor cantidad de espacio para producir el mismo rendimiento del suelo
- Gran ahorro en el consumo de agua
- Reducción de los costes de producción
- Proporciona excelentes condiciones para semillero
- Se puede utilizar agua con alto contenido de sales
- Mayor limpieza e higiene
- Posibilidad de enriquecer los productos alimenticios con sustancias como vitaminas o minerales
- Se reduce en gran medida la contaminación del medio ambiente y de los riesgos de erosión
- Casi no hay gasto en maquinaria agrícola ya que no se requiere de tractor, arado u otros implementos semejantes
- La recuperación de lo invertido es rápida

3.4.2 Inconvenientes

- Requiere para su manejo a escala comercial, de conocimiento técnico combinado con la comprensión de los principios de filosofía vegetal y de química orgánica.
- En el ámbito comercial el gasto inicial es relativamente alto
- Se requiere cuidado con los detalles
- Se necesita conocer y manejar la especie que se cultive en el sistema
- Requiere de un abastecimiento continuo de agua
- No existe una difusión amplia de lo que es la Hidroponía



4. COMPUESTOS QUÍMICOS EN LAS PLANTAS:

4.1 Nitrógeno

El nitrógeno es uno de los elementos más importantes en la nutrición de las plantas dado que participa en la formación de diversos compuestos orgánicos como aminoácidos, proteínas y ácido nucleico. La nutrición de N desempeña un papel significativo en la producción y calidad de la cosecha (Sisson et al., 1991; Gastal y Lemaire, 2002; Wang et al., 2002).

Es uno de los cuatro elementos fundamentales en la construcción de las proteínas, y por lo tanto participa en la constitución de prácticamente todos los organismos. Los vegetales lo absorben preferentemente como nitrato (NO_3^-) y como amonio (NH_4^+). Además, su deficiencia es la más fácil de diagnosticar y por lo general, las plantas revelan una respuesta relativamente rápida a las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados.

La cantidad de nitrógeno a aportar dependerá de la situación o estado de nuestro cultivo: características del suelo, clima, estado fenológico, técnicas agronómicas empleadas (marco de plantación, riego).

El nitrógeno en el suelo se presenta en las siguientes formas: Nitrógeno orgánico soluble, Nitrógeno nítrico (NO_3^-), Nitrógeno como nitrito (NO_2^-) y Nitrógeno asociado a las partículas del suelo como ion amonio intercambiable y Nitrógeno orgánico.

Por lo general, en los suelos que no están anegados, el Nitrógeno del suelo (retenido como proteína de la materia vegetal) y el Nitrógeno de los fertilizantes se transforman microbiológicamente en NH_4^+ (amonio) mediante el proceso de amonificación. El ión amonio se oxida por la acción de dos grupos de bacterias (Nitrosomonas y Nitrobacteria) convirtiéndose en nitrato (NO_3^-) con un producto intermedio nitrito (NO_2^-) inestable en un proceso llamado nitrificación. La urea se hidroliza fácilmente en amonio. En terrenos húmedos o anegados, con condiciones



anaeróbicas se produce la desnitrificación, donde el nitrato (NO_3^-) se reduce a varias formas gaseosas NO , N_2O , N_2 etc. (Muñoz, 2005).

Año tras año, los agricultores han aumentado la aplicación de fertilizantes de N a sus tierras (Wang et al., 2000), sin considerar el grave problema de acumulación de compuestos nitrogenados que implica a largo plazo. Una fuente adecuada de N puede promover el crecimiento vegetal y aumentar la producción vegetal (Collins y McCoy, 1997), pero un exceso de esta fertilización nitrogenada, provoca una inevitable acumulación de estos compuestos en la planta, lo que significara la acumulación en los futuros alimentos que provengan de esa planta o cultivo. Dichos compuestos acumulados pueden ser nocivos para nuestra salud y medio ambiente.

4.1.1 Peligro de los nitratos en el hombre

La presencia de nitratos en las hortalizas es una amenaza grave para la salud del hombre debido a que aproximadamente el 5% de todo el nitrato ingerido es convertido a nitritos por las bacterias de la saliva y en el tracto gastrointestinal, pudiendo formarse nitrosaminas y nitrosamidas, sustancias que han demostrado tener efectos cancerígenos (Santamaría, 2006). Además de en el organismo, ésta transformación también puede producirse en los alimentos durante el procesado y almacenamiento. Los nitratos en sangre oxidan el hierro de la hemoglobina produciendo metahemoglobina, incapaz de transformar el oxígeno, muy frecuente en bebés. Por esta razón, se han impuesto diversas restricciones al consumo de nitratos.

El contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios está regulado en la UE por Reglamento 1258/2011. Este reglamento incluye solo la regulación de lechugas, rúcola y espinaca, mientras que para los demás productos vegetales existen límites nacionales (Santamaría et al., 2002). El contenido máximo debe establecerse a un nivel estricto que pueda conseguirse razonablemente si se aplican buenas prácticas agrícolas. Entre las hortalizas aprovechadas por sus



hojas, la rúcula, lechuga, berros y canónigos están clasificadas como de alto contenido de nitratos (Santamaría, 2006).

Según Paschold (1989), el contenido de nitratos en la planta viene determinado por un conjunto de factores ambientales (luz, temperatura, entre otros), nutricionales (nitrógeno, fósforo, potasio, entre otros) y propios del cultivo (genotipo, órgano vegetativo, edad, entre otros) que interactúan entre sí.

La acumulación de nitratos en vegetales es más alta con bajas condiciones de intensidad luminosa (Steingröver et al., 1986a; 1986b; Blom-Zandsta, 1989), y generalmente cuando se aumenta la temperatura a nivel radical la absorción de nitratos por la planta también aumenta (Behr y Wiebe, 1992; Lainé et al., 1993).

El nivel de nitratos en la planta depende de las diferencias entre la absorción de nutrientes y su asimilación. De esta manera, todos los procesos que pueden afectar a la absorción, a la asimilación y a la translocación en la planta pueden modificar los niveles de nitratos en la misma.

4.2 Oxalatos

Los oxalatos están presentes en muchas familias de plantas, pudiendo ser encontrados en una vasta gama de productos hortícolas, frutas, frutos de cáscara y plantas silvestres comestibles. El oxalato no tiene ninguna utilización metabólica en el organismo ya que, desde que es absorbido, será transportado a los riñones para ser excretado en la orina como un producto de desecho. La cantidad de oxalato excretada en la orina es un factor de peligro importante en el desarrollo de los cristales de oxalato cálcico, el componente más común de las piedras del riñón. Los oxalatos también disminuyen la absorción intestinal de calcio y magnesio (Libert y Franceschi, 1987).

Se ha podido reducir el contenido de oxalatos en ciertas especies realizando las aportaciones del N en forma amoniacal, se ha incrementado por el contrario, el



contenido de ácidos grasos, concretamente el ácido α -linoleico (Palasniswamy et al., 2002). Compuesto que el organismo humano no puede sintetizar y que por lo tanto tiene que obtenerse a través de la dieta.

Los oxalatos disminuyen la disponibilidad de una serie de oligoelementos, debido a la formación de complejos insolubles (Heaney et al., 1988; Bohn et al., 2004). Pueden ser encontrados como formas solubles e insolubles en plantas. Las sales solubles se forman cuando el oxalato se liga con el potasio, sodio y magnesio (el oxalato de magnesio es menos soluble que las sales de sodio y potasio), mientras que las sales insolubles son producidas cuando el oxalato se liga con el calcio y el hierro. Por último, el oxalato también puede ser encontrado libre como ácido oxálico.

El contenido de oxalatos en las plantas depende, entre otros factores, de la especie y del cultivar, de los fertilizantes (sobre todo aquellos nitrícos), y de fases del crecimiento vegetal (Kabaskalis et al., 1995; Makus y Hettiarachchy, 1999; Takebe y Yoneyama, 1997).

La acumulación de oxalatos en plantas afecta la calidad nutricional de los alimentos negativamente ya que estos cristales pueden incrementar el riesgo de formación de cálculos renales y también disminuye la biodisponibilidad del calcio para el organismo. (Contreras-Padilla, et al. 2010)

Algunas especies de plantas pueden acumular altos niveles de oxalato en sus tejidos, ya sea en forma de complejos insolubles de oxalato de hierro o calcio o en forma de sales de oxalato de sodio y de potasio soluble. El oxalato se puede enlazar al calcio en el tracto digestivo de animales, formando cristales solubles y reduciendo la absorción de calcio. Alternativamente, las sales solubles de oxalato pueden entrar en el torrente sanguíneo y combinarse allí con el calcio, conduciendo potencialmente a la insuficiencia renal si se ingieren en grandes cantidades. Algunas de estas plantas pueden presentar un posible peligro para el ganado. (John Brennan, 2011).

Cuando son consumidos estos oxalatos se pueden unir al calcio y otros minerales. La media del contenido de oxalato en las hortalizas comúnmente



consumidas en Nueva Zelanda muestra que cocidos se reduce el contenido de oxalatos, por pérdidas de lixiviación en el agua en que estos habían sido cocinados.

El ácido oxálico forma sales solubles en agua con los iones de Na^+ , K^+ y NH_4^+ , también se liga con Ca^{2+} , Fe^{2+} y Mg^{2+} volviendo estos minerales indisponibles. Los oxalatos pueden ser encontrados en cantidades relativamente pequeñas en muchas plantas. Los alimentos ricos en oxalatos son generalmente componentes de menor importancia en dietas humanas pero por veces son importantes en dietas estacionales en ciertas zonas del mundo. Plantas como espinaca y remolacha son bien conocidas porque contienen mayores concentraciones de oxalatos que otras plantas.

La técnica cromatográfica gaseosa (Ohkawa, 1985) y de métodos HPLC (Holloway et al., 1989) realizan determinaciones exactas y fiables del ácido oxálico en plantas. El ácido oxálico tiene un contenido variable dentro de algunas especies, algunos cultivos de espinaca (Universal, Inverno Giant) contienen de 400 a 600 mg/100g de peso fresco, mientras otros llegan a alcanzar valores de 700 a 900 mg/100g de peso fresco (Gontzea y Sutzescu, 1968). El ácido oxálico se acumula en las plantas en especial durante el tiempo seco (Bressani, 1993).

La distribución del oxalato dentro de las plantas es también desigual. En general, el contenido de oxalato es más alto en las hojas intermedias y en las semillas, y más bajo en el tallo (Osweiler et al., 1985; Lilbert y Franceschi, 1987). Los informes demuestran que el pecíolo de algunas plantas como el amaranto (Bressani, 1993), espinaca y remolacha (Fassett, 1973; Concon, 1988) contienen niveles significativos más bajos de oxalatos que las hojas.

En vegetales de transformación, el blanqueo, congelación, o conservas, pueden contribuir para cambios en el valor nutricional, incluyendo el nivel de compuestos indeseables (Bednar et al., 1995). El tratamiento con el uso de agua (lavado, blanqueo) normalmente reduce el contenido de nitratos y nitritos y oxalatos.

El oxalato soluble es altamente oxidante, corrosivo y posee una gran actividad quelatante, por lo cual puede ser muy tóxico. En humanos el oxalato es ingerido con



muchos alimentos comunes (por ejemplo el nopal, el chocolate, la espinaca, el frijol, etc.) como ácido oxálico u oxalato de calcio, adicionalmente es producido internamente como producto de desecho del metabolismo. La homeostasis del oxalato es mantenida por la degradación del oxalato por la acción de enzimas endógenas como la oxalato oxidasa y principalmente por la acción bacteriana. Las bacterias responsables de la degradación residen en el tracto gastrointestinal y pertenecen principalmente al especie *Oxalobacter formigenes* (22). Cuando se excede la capacidad de degradación del oxalato de las bacterias o enzimas endógenas, ya sea por un exceso en el consumo de alimentos ricos en oxalato o por desordenes metabólicos, es excretado en la orina. La consecuencia más adversa de un alto contenido de oxalato en la orina es la formación de cálculos renales (Nefrolitiasis) padecimiento que afecta a cerca del 10 al 12 % por ciento de personas en México. Adicionalmente el oxalato puede tener implicaciones económicas. Hay una gran cantidad de plantas silvestres acumuladoras de oxalato que crecen en los pastizales, éstas pueden ser consumidas por el ganado ocasionándole la muerte por acumulación de oxalato de calcio en el rumen, arterias y riñones. Entre 1940 y 1970 la planta del género Halogeton produjo graves pérdidas en la ganadería norteamericana, debido a que el ganado moría por su consumo Los cuadros agudos de envenenamiento por oxalatos solubles son ordinariamente producidos por vegetales en vigoroso desarrollo, los cuales suelen presentar concentraciones de estas sales del orden de 5% o mayores en materia seca (MS). Se ha atribuido a la dominancia de plantas oxalidáceas en rápido crecimiento primaveral cuadros de intoxicación masiva en ovinos, con alta mortalidad, ocurridas en praderas del secano costero de la VII Región (Crempien, 1985). Por otra parte, niveles tan bajos como 0,5% MS de oxalatos solubles pueden causar intoxicación crónica. (Jáuregui-Zúñiga D. , Moreno A. , 2004), La biomineralización en plantas 18-23.

Los alimentos con un contenido muy elevado de oxalatos, se deben de comer con prudencia , puesto que cuando se comen cantidades elevadas, pueden perjudicar el organismo, siendo causante de la formación de piedras en los riñones, causadas por oxalatos de calcio (CaC_2O_4).



4.3 Fenoles

En este grupo se incluyen los monofenoles, polifenoles, flavonoides y taninos. Casi todas las frutas y vegetales frescos, así como los granos de cereales, contienen cantidades apreciables de fenoles naturales. Los tres grupos más importantes de fenólicos dietéticos son los flavonoides, ácidos fenólicos y los polifenoles. Los flavonoides son el grupo más grande de fenoles vegetales y el más estudiado. Los ácidos fenólicos forman un grupo diverso que incluyen los derivados del ácido hidroxibenzoico y del ácido hidroxicinámico. Los polímeros fenólicos (polifenoles), comúnmente conocidos como taninos, son compuestos de alto peso molecular que se clasifican en: taninos hidrolizables y taninos condensados.

Los flavonoides son el grupo simple de fenólicos más grande en los alimentos vegetales; son compuestos de bajo peso molecular que generalmente existen enlazados a moléculas de azúcares.

Los flavonoides están agrupados en antocianinas y antoxantinas. Las antocianinas son moléculas de pigmentos rojos, azules y púrpuras. Las antoxantinas, que incluyen flavonoles, flavonas, flavanoles, e isoflavonas, son moléculas incoloras o de colores que oscilan desde el blanco hasta el amarillo. (Dreosti, 1996).

Los polifenoles tienen acción antioxidante, pueden reducir la peroxidación de los lípidos. El consumo frecuente de frutas y vegetales frescos se asocia con una menor incidencia de cáncer en humanos y en carcinogénesis experimental. Los polifenoles se hallan preferentemente en las capas más superficiales de verduras, frutas, cereales y otras semillas, para proteger de la oxidación los tejidos de las capas inferiores. Son también anticoagulantes, antimicrobianos, inmunoestimulantes y reguladores de la presión arterial y de la glucemia. (Barnes, et al 1996).

4.4 Capacidad Antioxidante



Entre los alimentos que forman parte de nuestra dieta habitual, se encuentran las hortalizas y verduras, vegetales de enorme interés por su composición y riqueza en micronutrientes y fibra. Entre los vegetales que consumimos cada día, y que no se caracterizan, en general, por el aporte energético, las hortalizas son un grupo de enorme interés y nadie duda de los resultados beneficiosos de su ingesta; su riqueza en vitaminas, elementos minerales y fibra hace que su consumo sea imprescindible para conseguir una alimentación sana y equilibrada.

El desarrollo de muchas enfermedades crónicas y degenerativas, como el cáncer, la enfermedad coronaria, el Alzheimer y el Parkinson, entre otras, podría estar causado, en parte, por el estrés oxidativo. Las especies reactivas del oxígeno, los radicales libres, pueden dañar a las proteínas, las grasas y el material genético. A pesar de que el cuerpo humano ha desarrollado sistemas específicos para eliminar estas sustancias peligrosas, estos no son eficaces al cien por cien.

La alimentación rica en hortalizas y frutas se considera como una gran ayuda en la lucha contra los radicales libres, ya que algunos de sus nutrientes y fitoquímicos se han revelado como potentes antioxidantes. El US Department of Agriculture ha publicado en los últimos años diferentes bases de datos de especial interés acerca de varios antioxidantes, como son la vitamina C, la vitamina E, el selenio y algunos carotenoides, flavonoides y antocianinas.



5. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar los efectos de diferentes niveles de aireación en la solución nutritiva (Control, Bajo, Medio y Alto) sobre el crecimiento y calidad de la Colleja (*Silene vulgaris*), cultivadas en bandejas flotantes, a través de la determinación de concentraciones de nitratos, oxalatos, y variables de crecimiento vegetativo: altura de las plantas, número de hojas por planta, rendimiento (densidad de plantas/m²), área foliar, clorofila (SPAD), peso seco y longitud, volumen y número de bifurcaciones de las raíces.



6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES

Se realizaron dos experimentos idénticos y consecutivos en la Estación Experimental Agroalimentaria Tomás Ferro (ESEA) de la UPCT ubicado en la Palma (Cartagena). En el primero se realizó la siembra el 24 de Octubre de 2008 con una variedad de colleja, la accesión 324. Se realizaron tres muestreos de las plantas enteras, a los 25, 32, y 34 días (este último se corresponde con la recolección del cultivo).

En el segundo la siembra se realizó el 10 de Diciembre de 2008, con dos variedades de colleja, accesión 324 y 323. La duración del cultivo del segundo experimento duró 55 días. En ambos experimentos se utilizaron accesiones de colleja provenientes del banco de germoplasma de la UPCT.

En este punto se procederá a la descripción de la metodología general utilizada en el presente experimento refiriéndose simultáneamente el material utilizado.

6.1.1 Preparación de las instalaciones

Antes de iniciar la experiencia se procedió al acondicionamiento de las instalaciones: limpieza y preparación de los materiales a utilizar en la misma.

En primer lugar se realizó la limpieza y desinfección de los materiales fundamentales, tales como, las bandejas flotantes (tipo styrofloat), los bidones que irán a contener la solución nutritiva y finalmente, las mesas de cultivo.

Luego se comprobaron todos los dispositivos de bombeo, así como los datalogger utilizados para el registro de datos ambientales. Para el bombeo de aire empleamos un sistema de ventilación formado por una estructura de PVC con salidas de aire, y datalogger CR1000 (Campbell Scientific), con las sondas que miden la temperatura del aire, la temperatura del agua, CE, humedad relativa, la radiación solar



y el oxígeno disuelto en agua. También se utilizan pequeñas sondas Escort Junior para la medida de la temperatura de agua.

En la base de cada mesa de cultivo se dispuso un entramado de tuberías conectado a una bomba de aire, para proporcionar aireación a la solución nutritiva. Para conseguir los tratamientos de aireación ensayados:

- 1.-sin aireación (SA) = control,
- 2.-baja aireación utilizando tuberías perforadas con 6 agujeros/m²
- 3.- media aireación utilizando tuberías perforadas 18 agujeros/m²
- 3.-alta aireación utilizando tuberías perforadas con 36 agujeros/m²

La solución nutritiva estuvo compuesta por agua fresca (pH de 7.8 y CE de 1.1 dS/m) desde la colocación de las bandejas en las mesas de cultivo hasta los 7 días después de la siembra. Se ajustó el pH de la solución nutritiva a 5,6 mediante un pHmetro modelo 507 (CRISON) y con una disolución (1/10) de ácido sulfúrico.

6.1.2 Siembra y conducción del cultivo

Después, de terminada la limpieza y desinfección de los materiales a usar en la experiencia, efectuamos la siembra. La siembra de *Silene vulgaris* se realizó a mano, estimando el número de 20 semillas por fisura. Los materiales utilizados para la siembra fueron las bandejas styrofloat, turba y vermiculita. Utilizamos 15 bandejas por tratamiento.

Las bandejas styrofloat son bandejas de poliestireno expandido producidas por Europak s.p.a., que poseen unas fisuras de 17,1x2,5 cm de forma troncocónica con unas dimensiones de 96x60x3,5 cm y el número de fisuras por bandeja es de 34x3 filas, que se adaptan a las mesas de flotación dividiéndolas en dos para dar lugar a dos bandejas de 60x41 cm y un trozo sobrante.



A su vez, el sustrato utilizado es una mezcla equilibrada de turba negra y rubia de la marca Floragard designada Sustrato comercial tipo S, que se introduce en las fisuras de forma manual presionando y se distribuye bien por toda la superficie. Seguidamente se utilizan unos utensilios redondos y planos para comprimir la turba.

Después de efectuada la siembra, se humedece y las bandejas se introducen en una cámara climática (SANYO-Fitotron) con condiciones ambientales controladas (temperatura constante a 21°C, una humedad de 90% y oscuridad durante 3 días) para facilitar la germinación. Posteriormente, las bandejas se transportan a un invernadero de policarbonato, donde serán colocadas en las mesas de flotación de dimensiones 2,7x1,25x0,2 m que contienen agua y se dejan en esas condiciones aproximadamente 7 días hasta que las plantas tengan un ligero desarrollo.



Fig.7 Cámara de germinación



Fig.8 Bandejas sobre mesa de cultivo

6.1.3 Composición de la solución nutritiva y el diseño experimental

Con el desarrollo de la raíz se aplica la solución nutritiva, que está formada por fertilizantes comerciales, anteriormente estudiados y calculados y que se pesan y añaden al agua en el mismo invernadero. Se utilizó una solución que contenía 12 mmol/L de N, con el siguiente ratio de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$: 60:40. En esta solución también se



añadió una mezcla comercial de microelementos a una concentración de 0,02 g/l y un quelato de hierro a una concentración de 0,02 g/l.

Elementos nutritiva		
	g/200L	g/L
Nitrato Magnesio [$Mg(NO_3)_2$]	76	0.38
Nitrato Calcio [$Ca(NO_3)_2$]	82	0.41
Sulfato Amónico [$(NH_4)_2SO_4$]	32	0.16
Sulfato Potasico [K_2SO_4]	108	0.54
Fosfato Monoamónico [$NH_4H_2PO_4$]	46	0.23
Micronutrientes	4	0.02
Sulfato Magnesico	4	0.02

Figura 9. Composición de la solución nutritiva

Cuando añadimos la solución nutritiva es necesario medir la salinidad a través de un conductímetro modelo 524 y el pH a través un peachimetro modelo 507 ambos de la marca (CRISON). El pH se corrige con ácido sulfúrico, que se va añadiendo a la solución nutritiva a la vez que se remueve con una bomba y se mide el pH para ajustarlo al deseado.

Una vez que la solución nutritiva responde a las necesidades del cultivo se juntan los sistemas de bombeo de aire, para la oxigenación de la solución y se cubren los espacios en los que la dilución recibe la luz con trozos sobrantes de bandejas para limitar el desarrollo de algas.



Fig.10. Adición de la solución nutritiva



Fig.11. Medición del pH de la solución

Para llevar a cabo los ensayos se ocuparon 12 mesas de cultivo, de dimensiones 3 x 1,5 x 0,15 m, que contenían tres bandejas de 60 x 41 cm en la primera siembra, que cubrían el área total de la mesa, con tres repeticiones por tratamiento distribuidas al azar, ubicadas en el interior de un invernadero de policarbonato. Para la segunda siembra 8 mesas de cultivo y tres bandejas por mesa, distribuidas también al azar.



Figura.12 Mesas cultivo hidropónico



6.2 MUESTREO Y TOMA DE DATOS

Una vez que las plantas de colleja tuvieron dos hojas verdaderas se realizó el primer muestreo. El muestreo se llevó a cabo sacando la planta entera de las filas seleccionadas al azar de cada bandeja, los saques se hacen con cuchillos y las repeticiones se separan en bolsas o cartuchos de papel secante, bien rotulados y diferenciados.

Las muestras se llevan al el laboratorio donde se efectúa la toma de los diferentes datos:

- el peso fresco (la medida se toma con una balanza con precisión de miligramos).
- la altura de la planta (la medida se toma desde el pecíolo hasta la hoja más alta de cada planta con una regla con precisión de cm)



Figura13.Medición altura colleja

- número de plantas por fisura (se realiza el conteo por repetición)
- número de hojas (se cuentan la cantidad de hojas mayores de 1 cm por planta)
- área foliar (medida tomada con un medidor de área foliar modelo LI-3100C "LICOR", hoja por hoja de cada repetición)



Figura14. Medidor de raíces

- o clorofila (SPAD) (se toman tres hojas al azar por muestras y el aparato realiza la media, el aparato utilizado es SPAD-505 “Konica-Minolta”)



Figura15. Medidor clorofila (SPAD)

- o peso seco tanto de parte aérea como de raíces (tras la toma de los demás datos las muestras se introducen en una estufa a 60°C hasta peso constante y tras estos se efectúan un nuevo pesado).
- o La longitud total, el diámetro, el volumen, y el número de puntas de las raíces se mide con el scanner EPSON-Expression 836XL, (programa Winrhizo). Cuando tenemos todos estos datos los procesamos en una hoja de cálculo del programa Microsoft Excel.

6.3 DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y OXALATOS

Además del primer muestreo realizado para las medidas anteriores, se recolectó material vegetal para un posterior análisis del contenido en nitratos, oxalatos en las hojas de las plantas.



Para el análisis de los nitratos y oxalatos se recogieron 100 g de material vegetal por cada tratamiento, que se colocó en una estufa a 60°C hasta que estuvo totalmente seco. Una vez que el material estuvo seco, se procedió a su trituración (el aparato utilizado fue una trituradora Moulinex) hasta que las hojas quedaron en polvo.

La extracción de los nitratos y oxalatos se realizó a partir de 0,2 g de hojas secas en polvo, tres repeticiones por cada tratamiento, bien rotuladas y diferenciadas. Posteriormente, se añadió 50 ml de agua destilada, siendo después agitadas por un agitador (Orbital Shaker – Modelo 481) durante 45 minutos, a una temperatura de 50°C y a 117 rpm. A continuación, los extractos fueron filtrados utilizando embudos y filtros DP 145 110, (Figura 24), y llevados para analizar a un Cromatógrafo Iónico, (Metron HM columna 838-861) en el laboratorio SAIT de la Universidad Politécnica de Cartagena.

El sistema cromatográfico consistió en un módulo de separación Waters 2695 (Waters Corp.), una columna Teknokroma C-18 (Teknokroma SL) y la detección se logró a 260 nm con un detector UV-Vis 2687 (Waters Corp.).

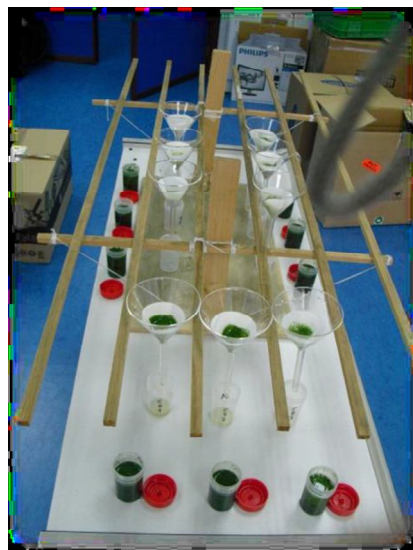


Figura 16. Filtrado de muestras



6.4 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

6.4.1 Fenoles

El contenido de fenoles totales fue determinado con el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu y expresado como equivalente de ácido clorogénico por kg de peso fresco. Previamente, debemos hallar la recta de calibrado o recta patrón con Ac. Clorogénico. Esta recta la conseguimos con las siguientes concentraciones 0, 50, 100, 250, 500 y 750 microM, de una concentración madre de 1 mM.

Para conseguir la solución madre calculamos la cantidad de Ac. Clorogénico para un volumen determinado, por ejemplo de 10 ml. ($M = n^{\circ}\text{moles}/V$; $n^{\circ}\text{moles} = m/PM$).

Concentraciones (microM)	Concentración disolución madre (ml)	Metanol (ml)	Volumen final (ml)
0	0	2	2
50	0.1	1.9	2
100	0.2	1.8	2
250	0.5	1.5	2
500	1	1	2
750	1.5	0.5	2

Figura 17. Concentraciones disolución madre

Una vez que tenemos los Eppendorf de 2 ml con sus correspondientes concentraciones seguiremos la siguiente metodología:



- 100 microlitros de la concentración de la recta patrón
- 150 microlitros de Folin (diluido 1:1 con agua MiliQ)
- 1000 microlitros de mezcla (0,4% de NaOH y 2% de Na₂CO₃)

Antes de preparar esta mezcla, tener en cuenta que el primer ingrediente que se debe diluir en los 100 ml de agua miliQ es la Sosa, ya que estas son placas y es difícil de conseguir el peso exacto. Después se calculó la cantidad de agua y la de carbonato de sódico. Se mantuvo esta disolución a oscuras durante una hora antes de utilizarlo.

Los componentes de la disolución final se introducen en Eppendorf de 2 ml. Importante agitar los Eppendorf y dejarlos reposar durante una hora en un lugar oscuro. Tras una hora se pasó este extracto a una cubeta desechable para medirlas en el espectrofotómetro.

La lectura en espectrofotómetro se realiza apuntado una absorbancia de 750 nm.

Una vez obtenida la absorbancia de todas la concentraciones, procedemos a la realización de una recta de calibrado en excel. Una vez obtenida la recta, pasaremos a obtener la absorbancia de las muestras, siguiendo el mismo método anteriormente utilizado.

- 100 microlitros de muestra
- 150 microlitros de Folin (1:1 con agua MiliQ). Disolución en Falcon de 50 ml
- 1000 microlitros de mezcla (0,4% de NaOH y 2% de Na₂CO₃). Falcon de 50ml

Estas soluciones se llevan del mismo modo al espectrofotómetro apuntando la misma absorbancia (750nm). Destacar la toma de 3 medidas por muestra en el espectrofotómetro, para mejorar el resultado final y corregir el error de precisión que pueda tener el aparato y la utilización de pipetas de precisión durante todo el proceso de preparación.



Estos datos se llevan a Excel donde tenemos la recta de calibrado y la ecuación correspondiente a esta. En esta fórmula tenemos dos variable X e Y, correspondiente a concentración y absorbancia. Se aplicó la fórmula, introduciendo los datos de absorbancia obtenidos y se halló por lo tanto la concentración de fenoles de cada una de las muestras.

$$y = 0,0225x + 5E-05$$
$$R^2 = 0,9991$$

Donde Y es la concentración de la cubeta, y X corresponde a la absorbancia medida en el espectrofotómetro.



Figura 18. Espectrofotómetro

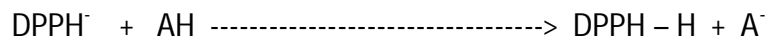
6.4.2 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante fue evaluada en términos de la desaparición del radical DPPH a 515nm y expresada como equivalente de ácido ascórbico por kg de peso fresco. La actividad antioxidante total se puede calcular mediante dos métodos: DPPH y FRAP. En nuestro caso se obtendrá la capacidad antioxidante de las muestras de *Silene Vulgaris* mediante el método del DPPH.



Este método, desarrollado por BRAND-WILLAM (Cuvelier et al., 1995), se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515nm del radical DPPH[•], por antioxidantes.

EL compuesto químico, DPPH, es un radical libre 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma CAT No.43180) dispuesto comercialmente el cual solo necesita disolverse en metanol. El fundamento de la reacción consiste en añadir un radical libre como el DPPH a las muestras objeto de estudio que son las que portan los compuestos antirradicales (compuestos antioxidantes). Esta reacción se leerá en el espectrofotómetro a 515 nm.



o Precauciones:

- El DPPH es un radical muy cancerígeno, por lo que se deben usar siempre guantes de látex, no tocarlo con las manos.

- El DPPH pierde su efectividad con el tiempo, cerrar bien el bote, poner cinta alrededor y mantener en el frigorífico.

o Método:

Dada las precauciones mencionadas anteriormente se procederá a la realización de una solución stock o madre, de la que obtendremos otra solución diariamente. Esta última será la que utilizaremos a la hora de realizar la medición final.

➤ Preparación de la solución stock: Se pesan 24 mg de DPPH y se diluyen en 100 mL de MeOH (metanol). Se Protege el frasco de la luz con papel plata para protegerlo de la luz. Agitar durante 30 min con un imán.



Esta disolución deber ser preparada 2 horas antes de la medición. Con posterioridad se guardará durante 5 días en el frigorífico a 4 °C.

➤ Preparación de la solución diaria: Se toman 10 mL de la solución stock y se añaden 40 mL de MeOH. Se lee su absorbancia en el espectrofotómetro a 515 nm. La lectura deber ser 1,1. Se hace esta medición 3 veces. Si la lectura de absorbancia es mayor a 1,2 se diluye la concentración con MeOH, así como si es inferior a 1,1 se concentrara la disolución añadiendo DPPH proveniente de la solución stock que está más concentrado.

Previamente a la medición, se hará el autocero en el espectrofotómetro con MeOH.

- Lectura de la capacidad antioxidante de las muestras o patrón.

En una cubeta, se añaden 150 µl de muestra o patrón y 850 µl disolución diaria de DPPH. Esperar durante unos 40 min en la oscuridad a temperatura ambiente. Después, leer en el espectrofotómetro a 515. El tiempo de espera de cada muestra antes de la medición dependerá del tipo de muestra, previamente debe hacerse una curva en la que se refleje la estabilidad de absorbancia con respecto al tiempo. Tanto para patrón como para muestras se realizan tres lecturas por muestra.

-El blanco será 1000 µl de agua MiliQ.

-Las lecturas deben estar en el rango de 1,1 a 0,7-0,6.

-Si la muestra es próxima a 1,1 indica que la muestra tiene un bajo poder antioxidante, y para un mejor resultado debería concentrarse más la muestra y volver a medir.

-Si las lecturas son inferiores a 0,7-0,6, indican que la muestra tiene un alto contenido de actividad antioxidante y deben ser diluidas hasta que su lectura entre en dicho rango.

- Elaboración de un patrón.



Se obtiene la recta patrón con Acido Ascórbico (AA) a diferentes concentraciones.

Se pesan 25 mg de AA y se diluyen en 25 mL de agua MeOH. Esto equivale a una concentración de 5,67 mM o 1000 mg/L.

Los patrones de AA no deben estar elaborados más de 1 hora, ya que pierden muy rápidamente su potencial antioxidante, y darían un resultado erróneo.

Se cogen unos tubos de al menos 10 mL de capacidad, se rotulan, y se añaden:

5 mL (5.7 mM o 1000mg/L) + 5 mL MeOH -----→ (500 mg/L)

5 mL (500 mg/L) + 5 mL MeOH -----→ (250 mg/L)

5 mL (250 mg/L) + 5 mL MeOH -----→ (125 mg/L)

4 mL (125 mg/L) + 2 mL MeOH -----→ (84.5 mg/L)

4 mL (84, 5 mg/L) + 2 mL MeOH -----→ (56 mg/L)

4.5 mL (56 mg/L) + 1.5 mL MeOH -----→ (42 mg/L)

5.3 mL (42 mg/L) + 0.7 mL MeOH -----→ (37.2 mg/L)

4.85 mL (37.2 mg/L) + 1.15 mL MeOH -----→ (30 mg/L)

4.93 mL (30 mg/L) + 1.07 mL MeOH -----→ (24.67 mg/L)

4.86 mL (24.67 mg/L) + 1.14 mL MeOH -----→ (20 mg/L)

4.75 mL (20 mg/L) + 1.25 mL MeOH -----→ (15.85 mg/L)



El valor de la capacidad antioxidante de la muestra, será el resultado de la diferencia de la absorbancia inicial (1,1) y la absorbancia final o absorbancia leída por muestra. El resultado será la absorbancia real que posee la muestra.



7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 RESULTADOS PRIMERA SIMEBRA

En la primera siembra utilizamos una sola variedad de *Silene Vulgaris* marcada con la accesión 324, y cogimos tres muestras en diferentes fechas de su desarrollo, para ver como afectaba los diferentes tipos de oxigenación a su evolución.

7.1.1 Parte aérea:

Las características agronómicas de la colleja en el momento de recolección con los distintos tipos de oxigenación, se muestran en la figura 19. Podemos afirmar que el número de plantas por fisura para las diferentes oxigenaciones, no presenta diferencias significativas, siendo el valor mas elevado 19,44 (control) y el más bajo 15,77 (medio). La altura de las plantas presenta diferencias significativas si comparamos el tratamiento control con el bajo y el medio. El número de hojas no presenta diferencias significativas. Con respecto a los valores de clorofila (SPAD), al área foliar, peso fresco y peso seco, podemos afirmar que no existen diferencias significativas entre ninguno de los cuatro tipos de oxigenación.

tratamiento	Nºplantas	Altura (cm)	Número de hojas	clorofila (spad)	Área foliar(cm ²)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)
control	19,44a	7,31a	4,54a	33,61a	110,21a	9,1a	0,44a
bajo	16,78a	7,57b	4,66a	31,86a	90,31a	7,8a	0,358a
medio	15,77a	6,31b	4,46a	37,2a	74,46a	6,15a	0,34a
alto	16,88a	7,004ab	4,54a	32,64a	97,95a	8,55a	0,393a
p-value	0,4526	0,0304	0,695	0,6492	0,7041	0,5987	0,7618

Figura 19. Parámetro agronómicos de *Silene Vulgaris*.



En la Figura 20 se muestra la evolución de la altura de la colleja. En el primer y segundo muestreo podemos verificar que no hay diferencias significativas entre los cuatro tratamientos. En cambio, al final del cultivo (tercer muestreo) podemos afirmar que hay diferencias significativas en el tratamiento control y baja oxigenación, dónde la planta alcanza mayor altura, con un nivel de oxigenación medio, donde observamos el valor más bajo de altura con respecto los otros tres tratamientos.

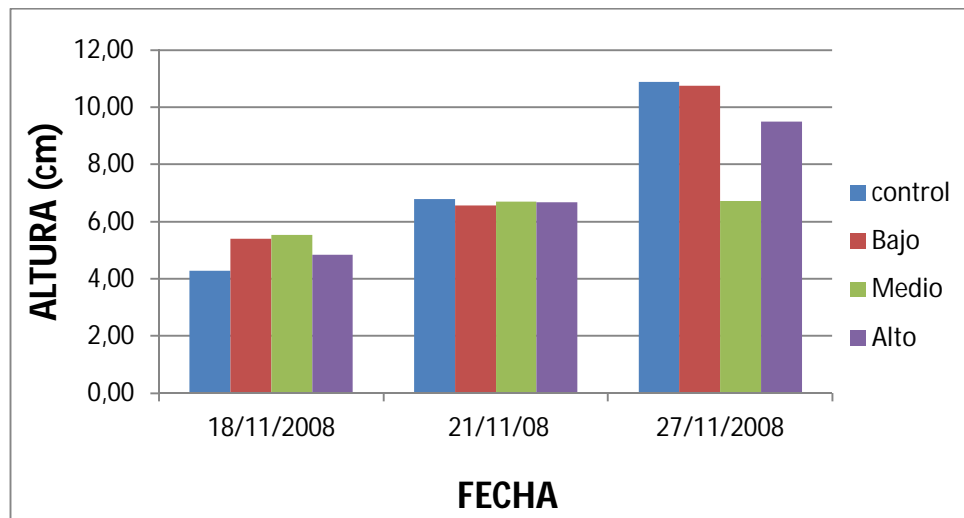


Figura 20 Evolución de la altura de la colleja en distintos tipos de oxigenación

En la figura 21 podemos ver la evolución del número de hojas por planta en *Silene vulgaris*, que fue incrementando de distinta forma en los diferentes tratamientos ensayados. Al inicio del cultivo, entre los diferentes tratamientos, no se aprecian diferencias significativas, pero el tratamiento de oxigenación alta, es con el que se obtiene mayor número de hojas. Con la evolución del mismo a lo largo del tiempo se observan diferencias en el segundo muestreo en el tratamiento control. Con los restantes tratamientos se obtienen resultados idénticos entre sí. Al final del cultivo los tratamientos control, y alto contienen diferencias significativas, ya que poseen valores superiores comparativamente con el tratamiento de oxigenación media.

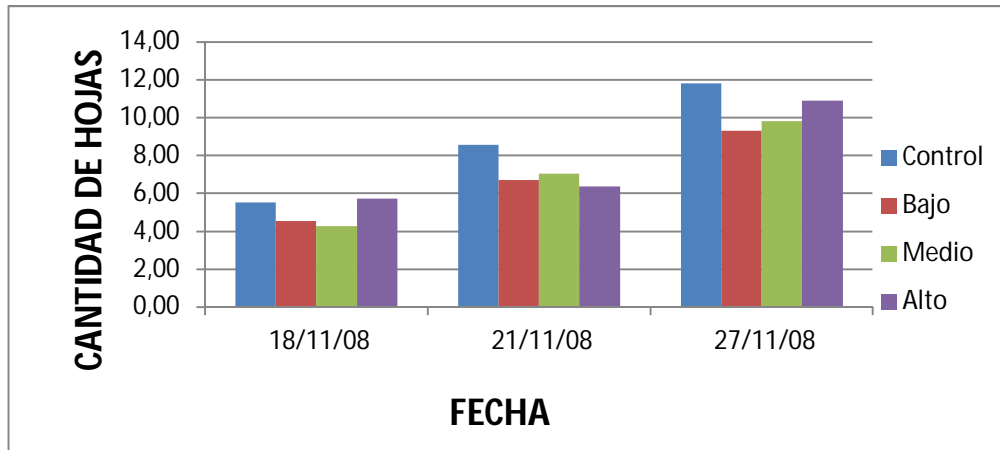


Figura 21 – Evolución del número de hojas de colleja en diferentes niveles de oxigenación

La evolución del área foliar de colleja en las diferentes oxigenaciones se presenta en la figura 22. A través de la figura abajo presentada podemos constatar que en el primer muestreo no hay diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo podemos referir que el tratamiento de oxigenación media es el que más se destaca. En lo que respecta al segundo muestreo, podemos observar que existe diferencias entre el tratamiento control con respecto los otros tres que poseen valores similares entre ellos. Finalmente, en el último muestreo encontramos diferencias entre los tratamientos; el tratamiento control alcanza valores elevados de área foliar, le sigue el tratamiento con oxigenación alta y oxigenación baja. El tratamiento de oxigenación media presentó el área foliar más baja con respecto los otros tres.

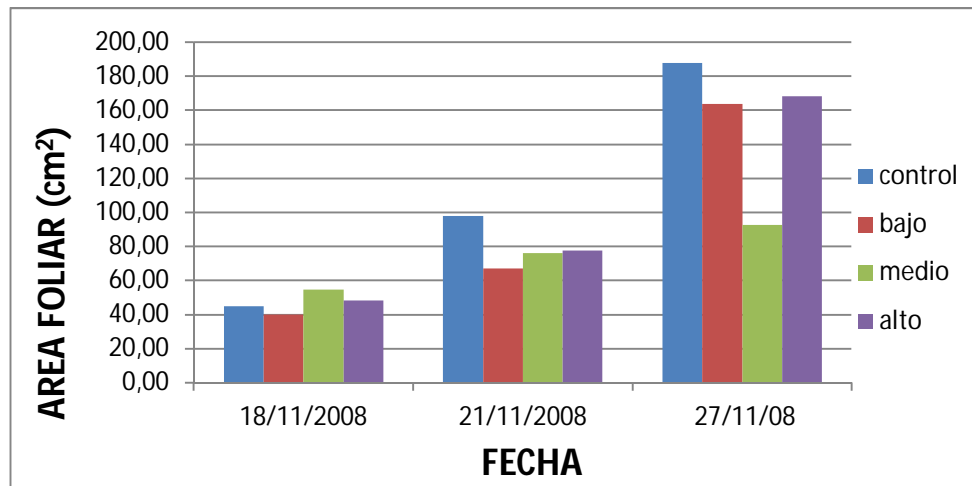


Figura 22. Evolución del área foliar de colleja en diferentes niveles de oxigenación

El contenido en clorofila (SPAD) está presentado en la figura 23, y muestra diferencias al final del cultivo. En el primero muestreo podemos verificar que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, a pesar de esto quien se destacó fue el tratamiento con media oxigenación. También en el segundo muestreo podemos observar que no hay diferencias entre los tratamientos, pero el que se distancia más es otra vez el tratamiento con oxigenación media. Al final del cultivo existió diferencias entre el tratamiento control y oxigenación media en comparación con los restantes. Se debe resaltar que desde el inicio hasta al final del cultivo el tratamiento con baja oxigenación presentó siempre valores inferiores.

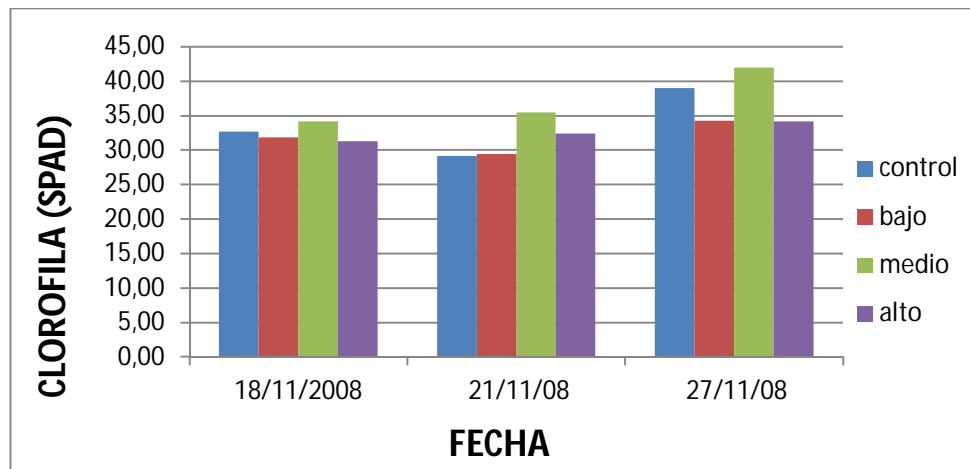


Figura 23. Evolución del contenido de clorofila (SPAD) de colleja en distintos tipos de oxigenación.

El peso fresco representado en la figura 24, en el primer muestreo no observamos grandes diferencias entre los distintos tratamientos, pero podemos afirmar que hay un mayor peso fresco en las plantas con oxigenación media. En el segundo muestreo el peso fresco del tratamiento control, alcanza valores más elevados comparándolos con los otros tres tratamientos. En la fase final del cultivo, observamos como la oxigenación media presenta valores bastante más bajo con respecto a los otros tres tratamientos, dónde el mayor peso se alcanza para las plantas con tratamiento control, seguidas de oxigenación baja y alta.

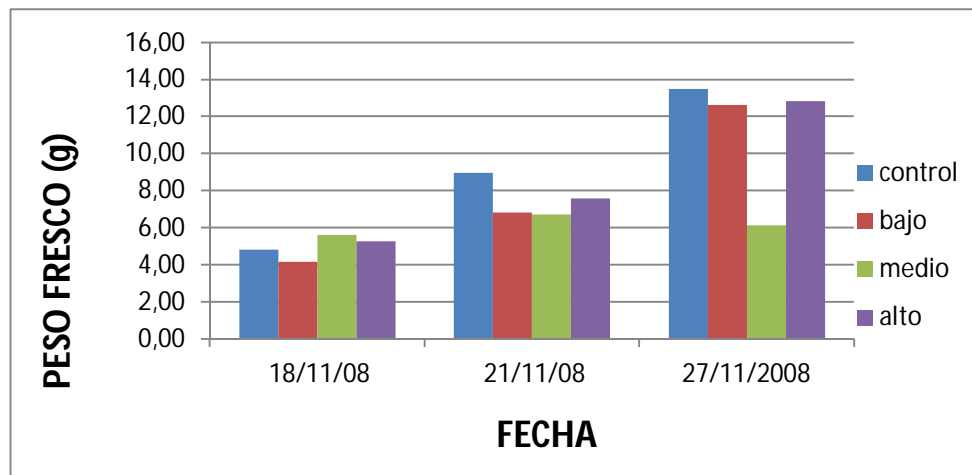


Figura 24 Evolución del peso fresco en colleja en diferentes niveles de oxigenación

El peso seco se representa en la figura 25. En el primer muestreo observamos que no hay diferencias significativas de peso entre los cuatro tratamientos. El tratamiento control en el segundo muestreo, alcanza valores elevados con respecto la baja oxigenación. En el tercer muestreo los valores más bajos de peso seco los observamos en el tratamiento con media oxigenación, y los valores más elevados, para el tratamiento control, seguido de alta oxigenación y baja oxigenación.

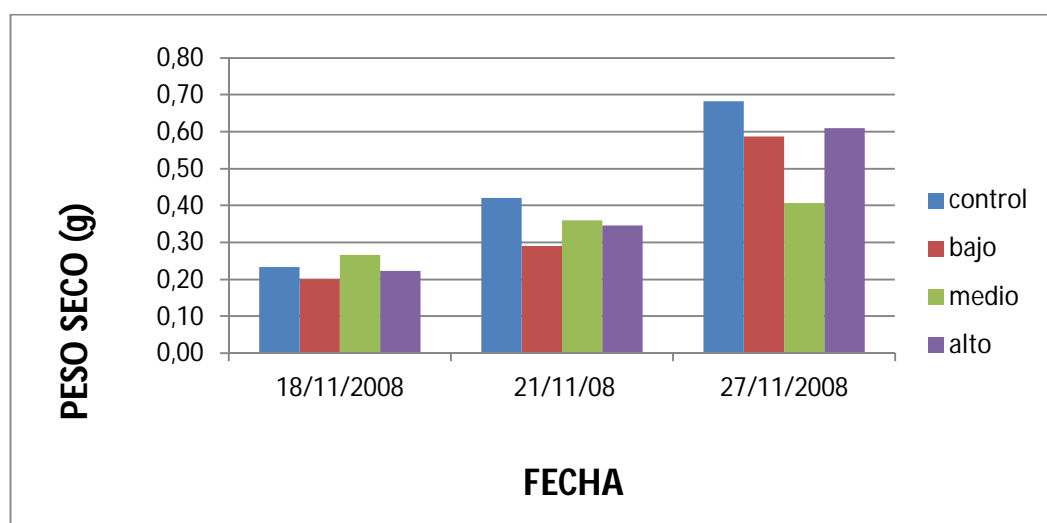




Figura 25– Evolución del peso seco en colleja en diferentes niveles de oxigenación

7.1.2 Parte radical

En lo que a los parámetros de crecimiento radicular se refiere (figura 26), no se obtuvieron diferencias significativas en los valores de peso seco. Podemos afirmar que en la longitud, los cruces y las bifurcaciones de las raíces, hay diferencias significativas en el tratamiento sin oxigenación con respecto los otros tres tratamientos, dando valores más elevados con el control que con el resto. El volumen radicular no presenta diferencias comparando los valores entre las diferentes oxigenaciones.

tratamiento	Peso seco (g)	Longitud (cm)	Volumen (cm ³)	Cruces	Bifurcaciones
control	0,047a	11543,71b	4502a	1723,67b	5691b
bajo	0,031a	6294,76a	2917,67a	1046,33a	3078,33a
medio	0,033a	6263,49a	3495a	930a	3242,33a
alto	0,0315a	5889,39a	3940,67a	870,67a	2999,33a
p-value	0,1862	0,0113	0,4127	0,0113	0,0459

Figura 26 . Parámetros de crecimiento radicular al final del cultivo de colleja

En el análisis del número de raíces por tramos de longitud (figura 27), podemos observar diferencias significativas para el tratamiento sin oxigenación (control), para longitudes entre 0 mm y 1.50 mm, con respecto los otros tres tratamientos, siendo los valores del tratamientos control más elevados comparándolos con el resto. Podemos afirmar que para longitudes de 1.50 mm hasta mayor de 100 no hay diferencias significativas entre ningunos de las diferentes oxigenaciones.

tratamiento	0 < L <=0.50	0.50 < L <=1	1 < L <= 1.50	1.50 < L <=2	2 < L <=100	L > 100
control	6539,56b	3055,55b	879,51b	346,77a	722,36a	0,00
bajo	3060,94a	2086,93a	513,52a	190,77a	442,58a	0,00
medio	2905,48a	2037,06a	526,63a	253,11a	541,23a	0,00
alto	2483,89a	2211,08a	450,73a	206,22a	537,47a	0,00
p-value	0,0053	0,0728	0,0216	0,3203	0,4163	

Figura 27. Longitud de raíces por diámetro (cm) en el cultivo de colleja



7.1.3 Contenidos en nitratos, oxalatos, fenoles totales y capacidad antioxidante

En los compuestos analizados en la cosecha (figura 28) se obtienen diferencias significativas en cuanto a los fenoles analizados, siendo el valor más bajo de fenoles el que corresponde a la oxigenación media. Las mayores cantidades de nitratos, oxalatos, las podemos observar en el tratamiento sin oxigenación, en cambio la cantidad fenoles y antioxidantes acumulados aumenta cuando aplicamos una baja aireación al cultivo.

tratamiento	Nitratos (mg· kg ⁻¹ f.w.)	Oxalatos (mg· kg ⁻¹ f.w.)	Fenoles (CAE) kg ⁻¹ f.w.	C.Antioxidante (AAE) kg-1 f.w.
control	2415,6a	1130,2a	123,28b	379,45ab
bajo	1385,1a	968,4a	129,97b	438,50b
medio	2217,8a	762,3a	112,75a	398,71ab
alto	2144,1a	627,2a	122,78b	291,60a
p-value	0,554	0,2827	0,0255	0,1603

Figura 28. Contenidos en nitratos, oxalatos, fenoles totales y capacidad antioxidante en las hojas de colleja.

7.2 RESULTADOS SEGUNDA SIMEBRA

En la segunda siembra utilizamos dos variedades de *Silene vulgaris*. Una marcada con la accesión 324, igual que la que utilizamos en la primera siembra, y otra marcada con la accesión 323. Quisimos comparar como afectaban las diferentes oxigenaciones a las dos variedades.

7.2.1 Parte aérea:

Las características agronómicas de la variedad 324 de colleja en el momento de recolección con los distintos tipos de oxigenación, se muestran en la figura 29. Podemos afirmar que el número de plantas por fisura, la altura de las plantas, la cantidad de hojas y el peso fresco y seco para las diferentes oxigenaciones, no presenta diferencias significativas, siendo el valor más elevado para una oxigenación alta y el más bajo para la solución sin oxigenación (control). El área foliar tampoco presenta



diferencias significativas; las hojas con mayor área las encontramos con una oxigenación media. La concentración de clorofila presenta diferencias significativas con lo que respecta al cultivo sin oxigenación (valor más alto) y la oxigenación baja, donde la cantidad de clorofila es más baja.

variedad	tratamiento	Nºplantas	altura	Número de hojas	Clorofila (spad)	Area Foliar(cm ²)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)
324	control	14a	9,23a	5,08a	50,57b	147,17a	8,26a	0,56a
324	bajo	12a	10,04ab	4,86a	40,17a	143,31a	11,22a	0,59a
324	medio	17,67a	10,82ab	5,04a	40,3a	183,22a	9,85a	0,687a
324	alto	18,33a	11,73b	5,55a	40,97a	157,17a	13,30a	0,83a
p-value		0,2957	0,1409	0,503	0,0237	0,7008	0,3472	0,4384

Figura 29. Características agronómicas de *Silene Vulgaris*, variedad 324.

Las características agronómicas de la variedad 323 de colleja en el momento de recolección con los distintos tipos de oxigenación, se muestran en la figura 30. Podemos afirmar que no se observan diferencias significativas en ninguna de las características agronómicas del cultivo. El valor más elevado para el número de plantas, la altura, la cantidad de hojas y el peso fresco y seco, lo observamos para la oxigenación alta. La clorofila alcanza su valor más alto para una solución sin oxigenación. Para el área foliar podemos observar un mayor valor cuando la oxigenación de la solución es media.

variedad	tratamiento	Nºplantas	altura	Número de hojas	Clorofila (spad)	Area Foliar(cm ²)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)
323	control	12a	10,46a	5,80a	45,13a	136,38a	9,3a	0,597a
323	bajo	11,3a	9,77a	5,46a	40a	129,88a	9,01a	0,58a
323	medio	15,67a	11,23a	5,29a	40,13a	185,79a	12,85a	0,7a
323	alto	16,33a	11,71a	5,1a	38,23a	180,74a	13,53a	0,8a
p-value		0,6947	0,4637	0,9328	0,4957	0,6176	0,4418	0,6796

Figura 30. Características agronómicas de *Silene Vulgaris*, variedad 323.

En la figura 31 se muestra la altura en las dos variedades de colleja en el momento de recolección. En la variedad 324 observamos un aumento de la altura



cuando aumentamos la oxigenación el solución nutritiva. En la segunda variedad (323), podemos afirmar que la altura aumenta también, con el aumento de la oxigenación, a excepción de la aireación baja donde observamos los valores de la altura de las plantas más bajos.

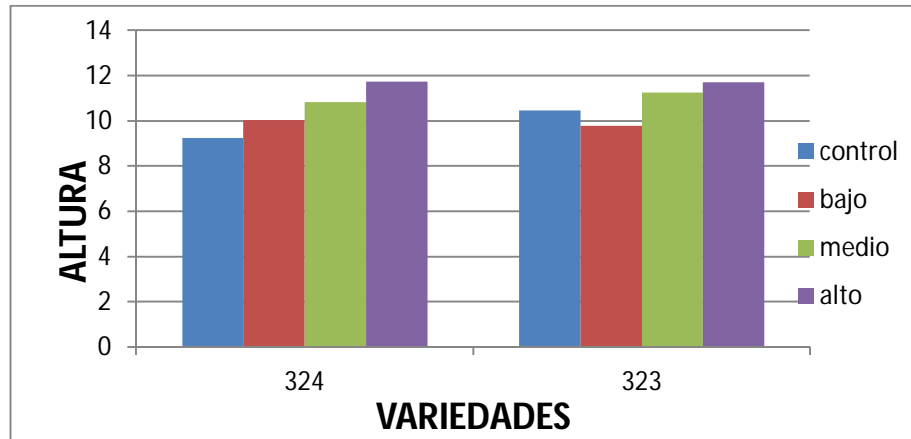


Figura 31 Evolución de la altura en dos variedades de colleja en distintos tipos de oxigenación

En la figura 32 podemos ver la evolución del número de hojas por planta en *Silene vulgaris*. El número de hojas es más elevado para el tratamiento control, medio y alto, siendo la aireación baja donde se encuentran los valores más bajos para la variedad 324. En la segunda variedad, podemos afirmar un crecimiento del número de hojas, con una solución nutritiva sin aireación. Observamos un valor más bajo del número de hojas para un tratamiento sin aireación. En la variedad 324 con un tratamiento bajo, el número de hojas es menor si lo comparamos con la variedad 323, que alcanza valores más altos para el mismo tratamiento de oxigenación.

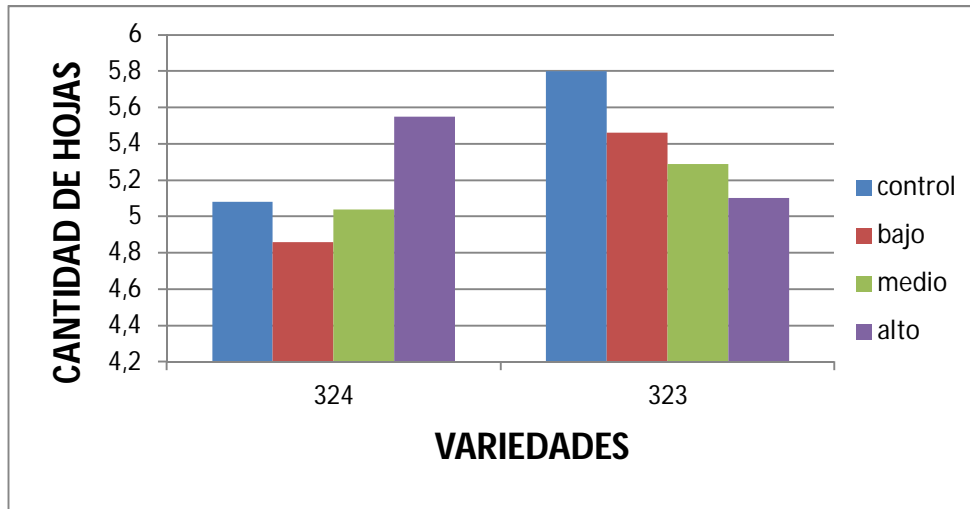


Figura 32 Evolución del número de hojas de colleja en diferentes niveles de oxigenación

La evolución del área foliar de colleja en las diferentes oxigenaciones se presenta en la figura 33. A través de la figura abajo presentada podemos constatar que en las dos variedades de colleja, una aireación media, provoca un aumento del área foliar. En la variedad 324 y 323 hay diferencias significativas entre una baja aireación (donde están los valores más bajos de área foliar) y la aireación media, donde los valores de área foliar son más altos. En la variedad 323, no hay diferencias significativas entre la oxigenación media y alta.

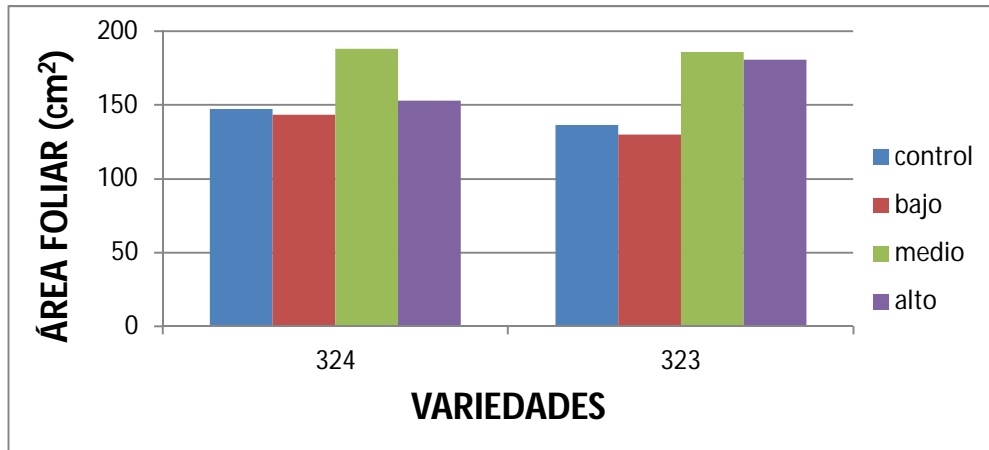


Figura 33. Evolución del área foliar de colleja en diferentes niveles de oxigenación

El contenido en clorofila (SPAD) está presentado en la figura 34, y muestra diferencias en las dos variedades en el tratamiento sin aireación, donde se alcanzan valores más elevados respecto los demás tratamientos. En la variedad 324 el valor de clorofila es más alto al compararlo con la variedad 323. Los demás tratamientos no presentar diferencias significativas entre ellos ni entre las variedades.

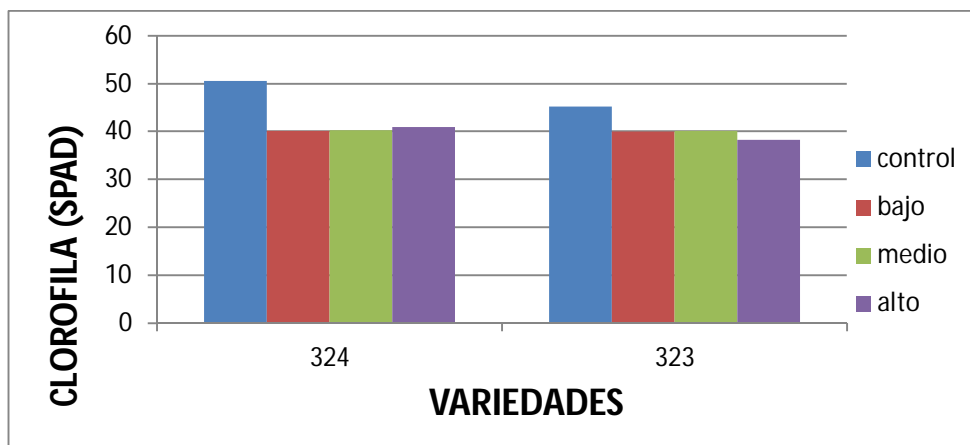


Figura 34. Evolución del contenido de clorofila (SPAD) de colleja en diferentes niveles de oxigenación.



El peso fresco representado en la figura 35, en la primera variedad (324) podemos afirmar que para un tratamiento de oxigenación alta, el peso fresco es mayor, en cambio, sin oxigenación en la solución nutritiva el peso es menor. Para la segunda variedad (323), el aumento del peso fresco se produce con el aumento de la oxigenación en la solución nutritiva. Si comparamos las dos variedades entre ellas, observamos diferencias significativas en el tratamiento con baja aireación, donde el peso fresco alcanza valores más altos en la variedad 324. Para una aireación media, el peso fresco varía entre las dos variedades, siendo más elevado para la variedad 323 que para la 324.

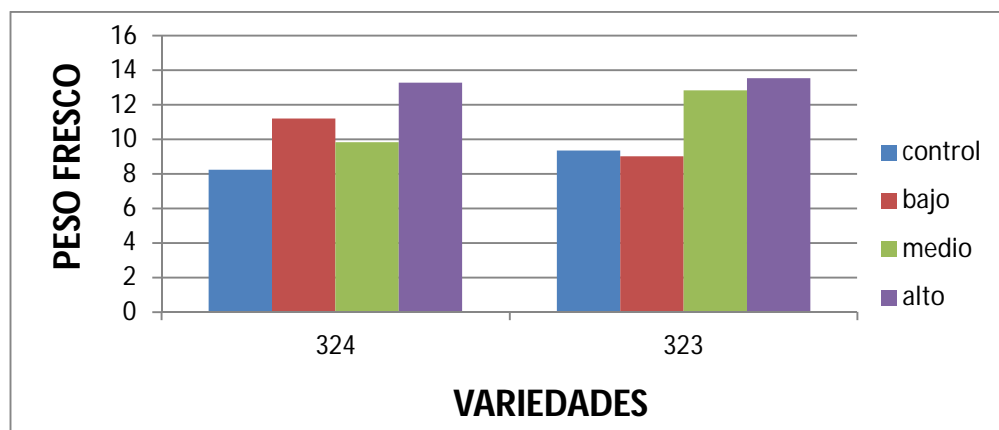


Figura 35 Evolución del peso fresco en colleja en diferentes niveles de oxigenación

El peso seco representado en la figura 36, observamos en la variedad 324, diferencias significativas con una aireación alta y con una solución sin aireación, donde los valores más elevados corresponden a la aireación alta. En la variedad 323, no hay diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. El valor de peso seco más alto se alcanza para oxigenaciones altas, en cambio, el peso seco menor, corresponde a una aireación baja.

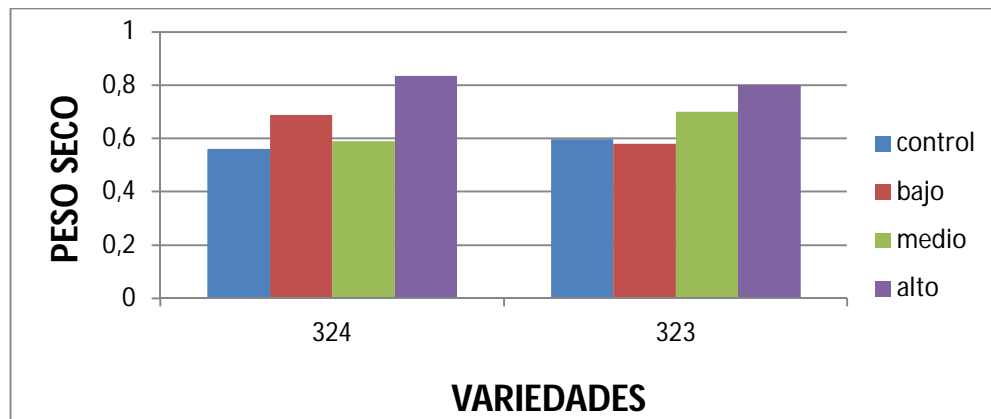


Figura 36. Evolución del peso seco en colleja en distintos tipos de oxigenación

7.2.2 Parte radical

En lo que a los parámetros de crecimiento radicular se refiere (figura 37), no se obtuvieron diferencias significativas en los valores de la variedad 324, pero podemos afirmar que una oxigenación alta, es favorable para todos los valores del crecimiento radicular.

variedad	tratamiento	Peso seco (g)	longitud (cm)	volumen (cm ³)	cruces	bifurcaciones
324	control	0,045a	8128,13a	3655a	1571a	3681,33a
324	bajo	0,042a	9664,78a	4066,67a	1520a	4034,33a
324	medio	0,043a	10688,38a	4242,33a	1402,33a	4429,33a
324	alto	0,049a	10727,83a	4367a	1548,67a	4575a
p-value		0,9317	0,5457	0,6135	0,8451	0,6374

Figura 37. Parámetros de crecimiento radicular al final del cultivo de colleja para la variedad 324

Para los valores de la variedad 323, no se observan diferencias significativas para ninguno de los tratamientos. Podemos afirmar, para los valores de peso seco, volumen y cruces, los valores aumentan en aireación alta. Para valores de longitud cruces y bifurcaciones, los valores son más altos para aireación media.



variedad	tratamiento	Peso seco (g)	longitud (cm)	volumen (cm ³)	cruces	bifurcaciones
323	control	0,0515a	9118,94a	3617,33a	1562,33a	4044,67a
323	bajo	0,0397a	7384,91a	3132a	1148,33a	3033a
323	medio	0,055a	12962,9a	4409a	1765,33a	5554,33a
323	alto	0,0679a	11780,7a	4887a	1771,67a	5095,67a
p-value		0,3743	0,4691	0,287	0,3827	0,3798

Figura 38. Parámetros de crecimiento radicular al final del cultivo de colleja para la variedad 323

En el análisis de la cantidad de raíces por tramos de longitud (figura 39), podemos observar que para la variedad 324 no hay diferencias significativas para ninguno de los cuatro tratamientos el tratamiento. El tratamiento con alta aireación, beneficia a longitudes de 0.5 mm hasta 1.50 mm y para longitudes mayores de 2 mm. La aireación media aumenta la longitud de 0 a 0.5mm y para longitudes entre 1.50 y 2 mm, es la aireación baja la que provoca un aumento de la longitud.

variedad	tratamiento	0 < L <=0.50	0.50 < L <=1	1 < L <= 1.50	1.50 < L <=2	2 < L <=100	L > 100
324	control	3803,36a	2995,5a	587,45a	238,12a	503,69a	0
324	bajo	4407,61a	3708,46a	687,5a	301,16a	560,06a	0
324	medio	5527,14a	3670,65a	707,16a	273,83a	509,62a	0
324	alto	5149,48a	3996,93a	737,62a	296,13a	547,66a	0
p-value		0,5386	0,502	0,6287	0,2637	0,8382	

Figura 39. Longitud de raíces por diámetro (cm) en el cultivo de colleja para la variedad 324

La variedad 323 no presenta diferencias significativas para ninguno de los cuatro tratamientos. El tratamiento medio beneficia a longitudes de 0 a 0.50 mm. En la longitud 0.50 y 1mm y de 2 a 100 mm favorece el desarrollo radicular la aireación alta. Un tratamiento sin oxigenación para la longitud 1 y 1.50 mm, provoca valores elevados con respecto los demás tratamientos.



variedad	tratamiento	0 < L <=0.50	0.50 < L <=1	1 < L <= 1.50	1.50 < L <=2	2 < L <=100	L > 100
323	control	4516,65a	3234,2a	604,01a	258,72a	505,36ab	0
323	bajo	3255,22a	2966,85a	551,40a	223,42a	388,01a	0
323	medio	7300,8a	3951,66a	839,23a	332,22a	538,93ab	0
323	alto	5736,55a	4231,49a	841,15a	326,67a	644,83b	0
p-value		0,4452	0,5195	0,4146	0,4108	0,1425	

Figura 40. Longitud de raíces por diámetro (cm) en el cultivo de colleja para la variedad

323

7.2.3 Contenidos en nitratos, oxalatos, fenoles totales y capacidad antioxidante

En los compuestos analizados en la cosecha (figura 41) se obtienen diferencias significativas en cuanto a los nitratos analizados para el tratamiento control, donde encontramos el valor más bajo, y para la oxigenación más alta el valor más elevado. Podemos afirmar diferencias significativas en los oxalatos para los tratamientos control y alto. Para los fenoles y la capacidad antioxidante, se observan diferencias significativas para la oxigenación media, donde los valores son más altos, con respecto a la alta, donde los valores son bajos.

variedad	tratamiento	Nitratos (mg· kg ⁻¹ f.w.)	Oxalatos (mg· kg ⁻¹ f.w.)	Fenoles (CAE) kg ⁻¹ f.w.	C.Antioxidante (AAE) kg-1 f.w.
324	control	1107,4a	420,7a	886,08b	207,98ab
324	bajo	3097,7b	685,2c	895,97b	236,95b
324	medio	3108,12b	708,4c	1532,5c	366,4c
324	alto	3288,1b	597,9b	763,77a	181,61a
p-value		0	0	0	0,0002

Figura 41. Contenidos en nitratos, oxalatos, fenoles totales y capacidad antioxidante en las hojas de colleja para la variedad 324

Para la variedad 323, los compuestos analizados en la cosecha (figura 42) se obtienen diferencias significativas en cuanto a los nitratos analizados, donde la oxigenación media provoca un aumento de nitratos, en cambio el tratamiento sin aireación disminuye el contenido en nitratos. Para los fenoles podemos afirmar diferencias significativas para el tratamiento de baja oxigenación, donde se alcanzan



valores elevados de fenoles, en cambio para el tratamiento medio, los valores son más bajos. Los valores elevados de nitratos los observamos con una oxigenación media. Y en la capacidad antioxidante los valores altos se alcanzan con alta aireación.

variedad	tratamiento	Nitratos (mg· kg ⁻¹ f.w.)	Oxalatos (mg· kg ⁻¹ f.w.)	Fenoles (CAE) kg ⁻¹ f.w.	C.Antioxidante (AAE) kg-1 f.w.
323	control	1102,5a	575,9a	1287,93a	291,7a
323	bajo	3021,3b	810,3a	1598,07b	335,3a
323	medio	3865,2c	827,1a	1235,79a	296,6a
323	alto	2884,6b	785,4a	1390,72ab	353,24a
p-value		0	0,2701	0,0877	0,2247

Figura 42. Contenidos en nitratos, oxalatos, fenoles totales y capacidad antioxidante en las hojas de colleja para la variedad 323

8. DISCUSIÓN

8.1 Parámetros aéreos

Respecto a los resultados obtenidos de altura de planta, en ambos ensayos encontramos diferencias significativas.

En el caso de la primera siembra con una sola variedad de colleja (324), los mayores valores de los distintos parámetros aéreos de la planta se obtienen aplicando un tratamiento sin aireación (control). La altura mayor tiene lugar en plantas con una aireación baja, aunque la diferencia de altura con respecto al tratamiento control fueron mínimas, 7,57 cm frente a 7,31 cm. A pesar de esto, el mayor número de hojas que se produjeron fue en el tratamiento sin aireación, siendo éste más efectivo ya que al ser la diferencia de altura mínima, pero el número de hojas mayor, resulta más efectivo, ya que el valor comercial de las colleja son las hojas y no el tallo.

Esto no ocurre lo mismo con la segunda siembra. En el caso de la variedad 324, los mayores valores de los distintos parámetros aéreos, se obtienen con alta aireación, al igual que para la variedad 323. La altura mayor tiene lugar con alta aireación en ambas variedades, al igual que el número de hojas. En general, el empleo de la



aireación elevada mejoró el crecimiento de la planta. Este mayor crecimiento a mayor aireación coincide con los resultados de Tesi et al. (2003) en espinacas y Lara et al. (2011) en verdolaga.

En relación al área foliar de las plantas contenidas en una fisura fue posible verificar que en ambos experimentos con distintos tipos de oxigenación, no existieron diferencias significativas entre sí. A pesar de que los distintos niveles de aireación no afectaron los resultados del área foliar, se puede decir que los mejores resultados habían sido obtenidos en el tratamiento control para el primer experimento con una variedad y para el segundo ambas variedades obtuvieron los mejores valores con el tratamiento de oxigenación media.

Las medidas del contenido relativo en clorofila medidas en unidades SPAD, presentaron diferencias significativas en la segunda siembra para la variedad 324, donde los mayores valores se obtuvieron para un tratamiento con oxigenación media. González et al. (2007), confirmaron que el contenido en clorofilas está positivamente correlacionado con el peso específico de la hoja a un nivel de significación del 5%. Posiblemente el mayor contenido en clorofilas esté relacionado con mayor actividad fotosintética de la planta y por consiguiente con producciones más altas.

En cuanto al peso fresco y seco, en la primera siembra, la variedad 324 obtuvo los mayores valores para un tratamiento sin oxigenación (control). En la segunda siembra, ambas variedades (324 y 323) obtuvieron mayores resultados con el tratamiento de alta aireación. Conesa, E., Niñirola, D., Vicente, M.J., Ochoa, J., Bañón, S. and Fernández, 2009) en canónigos, confirmó que los valores de oxigenación altos favorecieron valores significativamente más elevados en estos parámetros.

8.2 Parámetros radiculares

Con respecto al crecimiento de la raíz, según el cultivo analizado encontramos diferentes resultados. En el caso de la primera siembra, las plantas cultivadas en el tratamiento control mostraron los mayores valores de peso seco, longitud total, de



cruces, bifurcaciones y longitud de raíces de diámetro. En la segunda siembra y para ambas variedades (324 y 323) los valores de peso seco, longitud, volumen, cruces y bifurcaciones, se obtuvieron para niveles de oxigenación altos. Lorenzen et al., (2001) demostró en *Cladium* y en *Typha* una disminución del crecimiento de raíces y un acortamiento de las mismas en condiciones de bajos niveles de oxigenación respecto a soluciones aireadas. Ésta afirmación coincide con los resultados obtenidos en la segunda siembra. Asimismo, los tratamientos con aireación promovieron la aparición de raíces finas y nuevos puntos de crecimiento, lo que mejoraría la absorción de agua y nutrientes por la planta.

8.3 Contenido en nitratos, oxalatos, fenoles totales y antioxidantes

8.3.1 Nitratos

El contenido de nitratos en el primer experimento, alcanza valores mayores cuando aplicamos al cultivo un tratamiento sin aireación. En cambio en el segundo experimento, la misma variedad (324), se obtienen mayores valores de nitratos cuando la oxigenación es más elevada, a diferencia de la variedad 323, donde los valores altos de nitratos son para una oxigenación media. Los estudios realizados por Ferrante et al., (2003) Tesi et al., (2003b), demostraron que la falta de aireación de la solución nutritiva disminuye la concentración de nitratos en los cultivos de rúcula y espinaca, respectivamente, lo cual a su vez coincide con los resultados de otras especies cultivadas en bandejas flotantes. Ésta afirmación coincide con los resultados de la segunda siembra para la variedad 324. Este hecho puede ser debido, según Igamberdiev and Hill (2004) a que el nitrato puede actuar como aceptor intermedio de electrones bajo condiciones de deficiencia de oxígeno. Parece que estas plantas son capaces de activar una ruta alternativa de respiración en la cual el nitrato que contiene es utilizado para liberar oxígeno. Esta circunstancia podría reducir la disponibilidad del nitrato y su concentración comparado con condiciones de aireación.

Según Paschold (1989), el contenido de nitratos en la planta viene determinado por un conjunto de factores ambientales (luz, temperatura, entre otros), nutricionales



(nitrógeno, fósforo, potasio, entre otros) y propios del cultivo (genotipo, órgano vegetativo, edad, entre otros) que interactúan entre sí.

8.3.2 Oxalatos

En cuanto al contenido de oxalatos, los contenidos más altos se dan en los tratamientos de baja aireación en la primera siembra y de oxigenación media en la segunda siembra para ambas variedades. Un estudio realizado en *A. triangularis* por Karimi y Ungar (1986) llegaron a la conclusión de que cuando no hay aireación suficiente en dicha especie disminuyó la concentración de oxalatos. Estos resultados pueden ser explicados por el hecho de que el ácido oxálico es sintetizado por varias vías principales de entre las cuales, glioxilato, glicolato y ácido ascórbico aparecen para ser los principales precursores. (Noonan y Savage, 1999). Ésta afirmación no coincide con los resultados obtenidos en el primer experimento.

8.3.3 Fenoles

El contenido de fenoles presenta variaciones significativas para las dos siembras. En la primera siembra, los valores más elevados de fenoles los encontramos para una oxigenación baja, en cambio, en la segunda siembra, para la variedad 324, los valores más elevados de fenoles fueron para una aireación media, a diferencia para la variedad 323, donde fueron para baja aireación. Lara et al. (2011) apuntó que el contenido de fenoles y capacidad antioxidante de *verdolaga* aumentaron cuando no fue suministrada aireación en la solución nutritiva, afirmación que puede coincidir con los resultados de fenoles obtenidos en la primer siembra, y para la variedad 323 de la segunda siembra.

8.3.4 Capacidad antioxidante



El contenido de antioxidantes presenta diferencias significativas para la variedad 324 de la segunda siembra, donde los máximos valores se alcanzan para una aireación media, a diferencia de la variedad 323 de la misma siembra donde los valores más elevados se obtuvieron con alta aireación. En la primera siembra los valores altos de capacidad antioxidante los encontramos para oxigenación baja.

Hay que destacar que las plantas bajo condiciones de hipoxia despliegan una variedad de estrategias que contrarrestan los efectos adversos de la hipoxia en el crecimiento, por ejemplo el desarrollo de aerénquima en *Portulaca* (Lara et al, 2011). El fenómeno de la hipoxia es particularmente agudo en los períodos de calor, cuando el agua aumenta de temperatura, debido a que el nivel de saturación de oxígeno del agua disminuye y aumenta la tasa de respiración de las raíces (Morard and Silvestre, 1996)) Uno de ellos es el aumento de la capacidad antioxidante debido a una cierta tolerancia a esa falta de oxígeno (Bowler et al, 1992; Biemelt et al, 1998; Garnczarska et al, 2005).



9. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados expuestos anteriormente podemos extraer las siguientes conclusiones sobre el estudio realizado en dos ciclos de cultivo de colleja de dos variedades diferentes con cuatro tipos distintos de oxigenación (control, bajo, medio y alto):

1.- Con respecto a los resultados obtenidos en los parámetros de crecimiento aéreo, en el caso de la primera siembra y para la variedad 324, los mayores valores de los distintos parámetros aéreos de la planta (número de plantas por fisura, cantidad de hojas, área foliar y peso fresco y seco) se obtuvieron aplicando un tratamiento sin aireación. En el caso de la segunda siembra, la alta aireación afectó favorablemente a las dos variedades en el número de plantas, altura, cantidad de hojas y peso fresco y seco. Hay que destacar que la primera siembra duró 30 días desde la plantación hasta la recolección y la segunda siembra tuvo una duración de 60 días. Eso podría explicar las diferencias entre las mismas variedades de las diferentes siembras.

2.- El contenido relativo de clorofila (SPAD) se vio favorecido con una oxigenación media en la primera siembra, y en la segunda siembra para ambas variedades, un tratamiento sin aireación.

3.- Respecto al crecimiento de la raíz, un tratamiento sin aireación mejoró el crecimiento radicular en la primera siembra para la variedad 324. En cambio, una aireación alta en la segunda siembra, mejora el crecimiento radical en la variedad 324, a diferencia de la variedad 323 donde una aireación alta favorece el peso seco, el volumen y el número de cruces en las raíces, y un tratamiento con aireación media favorece la longitud y las bifurcaciones.

4.- En la primera siembra, la concentración máxima de nitratos y oxalatos la encontramos en un tratamiento sin aireación. En la segunda siembra, la variedad 324 llega a valores máximos de nitratos si aplicamos la aireación alta, a diferencia de la variedad 323, donde un tratamiento medio beneficia los valores máximos de nitratos.



Con referencia a los oxalatos en la segunda siembra, ambas variedades obtuvieron los valores más altos cuando se aplicó una oxigenación media.

5.- Los contenidos de fenoles y la capacidad antioxidantes en la primera siembra aumentaron con la aireación baja. En la segunda siembra varió de una especie a otra. La variedad 324 obtuvo los mayores valores de fenoles y antioxidantes con aireación media, a diferencia de la variedad 323 que una aireación baja favoreció a la concentración de fenoles y la alta aireación al contenido de antioxidantes.



10. BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón, V., P., García Gonzalo P. y Tardío. J. 2004. Adaptación al cultivo de dos especies silvestres de uso tradicional (*Silene vulgaris* y *Scolymus hispanicus*). Recolección, caracterización y evaluación agronómica. Actas del IV Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica. Córdoba.
- Bednar, C. M., Kies, C., & Carlson, M. (1991). Nitrate–nitrite levels in commercially processed and home processed beets and spinach. *Plant Foods for Human Nutrition*. 41, 261–268.
- Behr, U. y Wiebe, H.J. 1992. Relation between photosynthesis and nitrate content of lettuce cultivars. *Scientia Horticulturae*. 49, 175-179.
- Biemelt, S., Keetman, U., Albrecht, G. 1998. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings.- *Plant Physiol*. 116, 651-658.
- Blom-Zandstra, M. 1989. Nitrate accumulation in vegetables and its relationship to quality. *Annals of Applied Biology*. 115, 553-561.
- Castagnino, A.M., Sastre Vásquez, P., Sasale, S., Boubeé, C., MenetA. y Cardozo, J., 2005. Evolución de la eficacia de la técnica de floating system para la producción de Radicchio rosso var. Di Verona en condiciones controladas. Trabajo de investigación. Facultad de Ciencias Agrarias- UCA, Buenos Aires.
- Conesa, E., Niñirola, D., Vicente, M.J., Ochoa, J., Bañón, S. and Fernández, J.A. 2009. The influence of nitrate/ammonium ratio on yield quality and nitrate, oxalate and vitamin c content of baby leaf spinach and bladder campion plants grown in a floating system. *Acta Hort*. 843, 269-274.
- Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Angle, J.S. y Baker, A.J.M. 1997. Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnoly*. 8, 279-284.
- Chater, A.O. y Walters S.M. 1964. *Silene*. In: *Flora Europaea* (eds., Tutin et al.), vol. I. Cambridge. 158-181.



- Cros, V., Nicola, S., Fernández, J. A., Martínez, J. J., Carreño, S. 2003. Cultivo de hortalizas en bandejas flotantes: Sistema de riego y control de la solución nutritiva. Revista Agrícola Vergel. 268, 20-26.
- Egea-Gilabert, C., Fernández, J.A., Migliaro, D., Martínez-Sánchez, J.J. and Vicente, M.J. 2009. Genetic variability in wild vs. cultivated *Eruca vesicaria* populations as assessed by morphological, agronomical and molecular analyses. 121, 260-266
- Ernest W.H.O. 1974. Schwemetallvegetation de Erde. Fischer-Verlag, Stuttgart, Germany.
- Fernández, J.A., Peñapareja, D., Conesa, E., Martínez J.J., Franco, J.A 2006c. Producción de colleja (*Silene vulgaris* (Moench) Garcke) en bandejas flotantes para su adaptación como producto "baby leaf". Actas de Horticultura . 46, 58-61.
- Ferrante, A., Incrocci, L., Maggini, R., and Tognoni, F. (2003) Preharvest and postharvest strategies for reducing nitrate content in rocket (*Eruca sativa*). Acta Horticulturae. 628, 153–159.
- Gastal, F., Lemaire, G., 2002. N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. J. Exp. Bot. 53, 789–799.
- Gontzea, I., and Sutzescu, P. (1968). Natural Antinutritive Substances in Foodstuffs and Forages. 84-108. S. Karger, Basel.
- Gonzalez, A. Abellan, M.A. Lopez, J. Fernandez, J.A. (2004). Aprovechamiento de especies de hoja pequeña, baby leaf, para IV gama, en cultivo de invernadero. Agrícola Vergel. 272, 399-408
- Hammer, K. 1986. Caryophyllaceae. In: Rudolf Mansfelds, Ulturpzenverzeichnis. Schultze-Motel (ed.), Berlin. 1, 141.
- Holloway, W. D., Argall, M. E., Jealous, W. T., Lee, J. A., and Bradbury, J. H. (1989). Organic acids and calcium oxalate in tropical root crops. J. Agric. Food Chem. 37, 337-341.
- Igamberdiev, A. U. and Hill, R.D. (2004) Nitrate, NO and haemoglobin in plant adaptation to hypoxia: an alternative to classic fermentation pathways. Journal of Experimental Botany. 55, 2473–2482.
- Jalas, J. y Suominen J. 1986. Caryophyllaceae (Silenoideae) In: Atlas Florae Europaeae. Vol. 7. Helsinki.



- Jolls, C.L. y Chenier T.C. 1989. Gynodioecy in *Silene vulgaris* (Caryophyllaceae) : progeny success, experimental design, and maternal effects. *American Journal of Botany*. 76, 1360-1367.
- Kabaskalis, V., Tsitouridou, R., y Niarchos, M. (1995). Study of oxalic acid content in vegetables and its implication on health. *Fresenius Environmental Bulletin*. 4, 445-448.
- Kaskar C., Fernandez, J.A. Ochoa, J. Niñirola, D., Conesa, E., Tuzel, Y. 2009. Agronomic behavior and oxalate and nitrate content of different purslane cultivars (*Portulaca oleracea*) grown in a hydroponic floating system. *Acta Hort*. 807, 521-525.
- Karimi, S. H. and Ungar, I. A. (1986). Oxalate and inorganic ion concentrations in *Atriplex triangularis* Willd. organs in response to salinity, light level, and aeration. *Botanical Gazette*. 147, 65-70.
- Lainé, P., Ourry, A., Macduff, J., Boucaud, J., y Salette, J. 1993. Kinetic parameters of nitrate uptake by different catch crop species: effects of low temperatures or previous nitrate starvation. *Journal of Plant physiology*. 88, 85-92.
- Lara, L.J., Egea-Gilabert, C., Niñirola, D., Conesa, E. 2011. Effect of aeration of the nutrient solution on the growth and quality of purslane (*Portulaca oleracea*). 603-610.
- Lilbert, B., and Franceschi, V. R. (1987). Oxalate in crop plants. *J. Agric. Food Chem*. 35, 926-938.
- Lorenzen, B., Brix, H., Mendelssohn, I.A., McKee, K.L. and Miao, S.L., 2001. Growth, biomass allocation and nutrient use efficiency in *Cladium jamaicense* and *Typha domingensis* as affected by phosphorus and oxygen availability. *Aquat. Bot*. 70, 117-133.
- Makus, D. J., y Hettiarachchy, N. S. (1999). Effect of nitrogen source and rate on vegetable amaranth leaf blade mineral nutrients, pigments and oxalates. *Subtropical Plant Science*. 51, 10-15.
- Morard, P., Silverstre, J. 1996. Plant injury to oxygen deficiency in the root environment of soilless culture. *Plant Soil*. 184, 243-254.
- Ochoa, J., Conesa, E., Lara, L.J., Niñirola, D. y Fernández, J.A. 2010. Producción de canónigos en bandejas flotantes con distintas concentraciones de nitrógeno. *Actas de horticultura*. 56, 65-69.



- Ohkawa, H. (1985). Gas chromatic determination of oxalic acid in foods. J. Assoc. O.c. Anal. Chem. 68, 108-111.
- Osweller, G. D., Carson, T. L., Buck, W. B., and Van Gelder, G. A. (1985). Clinical and Diagnostic veterinary Toxicology. 3rd edn. 471-475. Kendall/Hunt, Dubuque, Iowa.
- Noonan, S. C. and Savage, G. P. (1999). Oxalate content of foods and its effect on humans. Asia-Pacific Journal of Clinical Nutrition. 8, 64–74.
- Palaniswamy, U. R., MacAvoy, R. J. and Bible, B.B.2002. Effect of nitrate: ammonium nitrogen ratio and oxalate levels of purslane. In: Trends in new crops and new uses. (Janick, J. and Whipkey, A., Eds.). 453-455.
- Paschold, P.J., (1989). The effect of selected cultural measures on the nitrate content for spinach. II. Effect of crop density, irrigation, cultivar and other factors. Archiv fur Gartenbau. 37, 291-300
- Pignatti, S. 1982. Flora d'Italia. Edagricole. Bologna. 1, 246-247.
- Prentice, H.C. y Giles, B.E. 1993. Genetic determination of isoenzyme variation in the Bladder Campions, *Silene uniflora* and *S. vulgaris*. Hereditas. 118, 217-227.
- Ramponi, E. (2000) – Le tecniche di produzione e difesa del radicchio rosso tardivo di Treviso. Revista L'informatore Agrario. 43-47.
- Resh, H. M., 2001 – Cultivos Hidropónicos, Nuevas técnicas de producción. Madrid, Mundi-Prensa, 5ª Edición rev. y ampl.
- Runyeon, H. Y Prentice, H.C. 1997. Genetic differentiation in the Bladder champions, *Silene vulgaris* and *S. uniflora* (Caryophyllaceae) in Sweden. Biological Journal of the Linnean Society. 61, 559-584.
- Santamaria, P. 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and Ec regulation. J. Sci. Food Agric. 86, 10-17.
- Schat, H., Kuiper E., Ten-Bookum, W.M. y Vooijs, R. 1993. A general model for the genetic control of copper tolerance in *Silene vulgaris*: evidence from crosses between plants from different tolerance populations. Heredity. 70, 142-147.
- Schat, H. y Ten Bookum, W.M. 1992. Genetic control of copper tolerance in *Silene vulgaris*. Heredity. 68, 219-229.
- Schat, H. y Vooijs, R. 1997. Multiple tolerance and cotolerance to heavy metals in *Silene vulgaris*: a cosegregation analysis. New Phytology. 136, 489-496.



Sisson, V.A., Rufty, T.W., Williamson, R.E., 1991. Nitrogen-use efficiency among flue-cured tobacco genotypes. *Crop Sci.* 31, 1615–1620.

Steingröver, E., Ratering, P. y Siesling, J. 1986a. Daily changes in uptake, reduction and storage of nitrate in spinach grown at low light intensity, *Plant Physiology.* 66, 550-556.

Takebe, M., y Yoneyama, T. (1997). Effect of ammonium–nitrogen supply on oxalic acid content in spinach grown in hydroponics and fields. *Japanese-Journal-of-Soil-Science-and-Plant-Nutrition.* 535-543.

Usher, G. 1974. *A Dictionary of Plants Used by Man.* Constable, Ed. London, UK.

Uphof, J.C. TH. 1959. *Dictionary of Economic Plants.* Weinheim. Ed. London, UK.

Verkleij, J.A.C. y Prast, J.E. 1989. Cadmium tolerance and co-tolerance in *Silene vulgaris* (Moench.) Garcke [*S.cucubalus* (L.) Wib.] .*The New Phytologist.* 111, 637.

Wall, D.A. y Morrison, I.N. 1990. Competition between *Silene vulgaris* (Moench) Garcke and alfalfa Walters C.L., Smith P.L.R., 1981. The effect of water-borne nitrate on salivary nitrite. *Weed Research.* 30, 145

Wang, Z.-H., Li, S.-X., 2003. Effects of N forms and rates on vegetable growth and nitrate accumulation. *Pedosphere.* 13, 309–316

Yang Z, Zheng YN, Xiang L. 2007. [Study on chemical constituents of *Portulaca oleracea*. 30, 1248-50

Zheng, Y., Wang, L. and Dixon, M. 2007. An upper limit for elevated root zone dissolved oxygen concentration for tomato. *Sci. Hort.* 113, 162-165

Páginas web consultadas

<http://www.afhorla.com/ivgama.php> - Tema: Asociación española de frutas y hortalizas lavadas, listas para su empleo.

<http://www.terralia.com> – Tema: Revista Terralia, de divulgación técnica e información lúdica – Ediciones agrotécnicas.

<http://www.ehowenespanol.com>- Tema: Características de los complejos de oxalato.

<http://www.fanus.com.ar/ActEventos-2009.php> -Muñoz, E. (2005) Efectos de los fertilizantes en el contenido de nitratos y nitritos en vegetales. Foro de la alimentación, la nutrición y la salud.

