

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química

“Actividad metabólica del ciclo del nitrógeno en sustrato y raíz de plantas de tomate *Solanum lycopersicum* cv. ‘Merlice’, de cultivo orgánico y convencional y su efecto en la calidad del fruto”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

PRESENTA

LIC. EN MICROB. MAYRA ISABEL NIÑO GONZALEZ

DIRIGIDA POR

DR. EDMUNDO MATEO MERCADO SILVA

Querétaro, Qro. 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



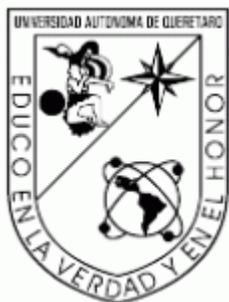
Actividad metabólica del ciclo del nitrógeno en sustrato y raíz de plantas de tomate *Solanum lycopersicum* cv. ´Merlice´, de cultivo orgánico y convencional y su efecto en la calidad del fruto

por

Mayra Isabel Niño González

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQMAC-221551



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Actividad metabólica del ciclo del nitrógeno en sustrato y raíz de plantas de tomate *Solanum lycopersicum* cv. ‘Merlice’, de cultivo orgánico y convencional y su efecto en la calidad del fruto”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Presenta

LIC. EN MICROB. MAYRA ISABEL NIÑO GONZALEZ

Dirigida por

DR. EDMUNDO MATEO MERCADO SILVA

SINODALES

Dr. Edmundo Mateo Mercado Silva
Presidente

M. en C. Juan Pablo Ledesma Valladolid
Secretario

Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar
Vocal

Dr. Gerardo Manuel Nava Morales
Suplente

M. en C. Fernando Alonso Onofre
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro. 2023

Contenido

Resumen	i
Abstract.....	iii
1. INTRODUCCIÓN	III
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Evolución de la producción de tomate a nivel mundial	4
2.1.1. Principales países productores de tomate.....	5
2.2. Evolución e importancia económica de la producción de tomate en México	5
2.2.1. Exportación de tomate en México	6
2.2.2. Fertilización e impactos en el rendimiento de cultivos de tomate en México.	6
2.3. Nitrógeno como uno de los principales nutrientes en las plantas	7
2.3.1. Metabolismo y transporte del nitrógeno.....	8
2.3.2. Mineralización de la materia orgánica.	11
2.3.3. Transformación microbiana de compuestos nitrogenados.	11
2.3.4. Fijación de nitrógeno.	13
2.3.5. Nitrificación	13
2.3.6. Desnitrificación	14
2.4. Impacto de la fertilización en cultivos de tomate.....	15
3. JUSTIFICACIÓN.....	17
4. OBJETIVOS.....	19
4.1. Objetivo general.....	19
4.2. Objetivos específicos.....	19
5. METODOLOGÍA	20
5.1. Condiciones y características de los cultivos hidropónicos bajo sistemas orgánicos y convencionales.....	20
5.1.1. Sistema de fertilización y riego en los cultivos convencional y orgánico.	23
5.1.2 Registro de parámetros de crecimiento de la planta y rendimiento del cultivo.	24
5.1.3. Toma de muestras para registro de parámetros poscosecha del fruto.	25
5.2. Métodos.....	25
5.2.1. Composición de la solución nutritiva del agua de riego en sistemas hidropónicos orgánico y convencional.....	25
5.2.2. Metabolitos nitrogenados inorgánicos en sustrato y raíz.	26
5.2.2.1. Contenido de nitrato (NO_3^-).	26
5.2.2.2. Cuantificación del contenido de amonio (NH_4^+).....	27
5.2.2.3. Contenido de nitritos (NO_2^-).....	28
5.2.3. Determinación de las actividades enzimáticas asociada al metabolismo del nitrógeno en plantas de tomate.	29

5.2.3.1. Actividad de Nitrato reductasa (NR) en sustrato y raíz.....	29
5.2.3.2. Determinación de la actividad de Glutamina sintetasa (GS) en sustrato y raíz.....	31
5.2.3.3. Determinación de actividad de Proteasa (PRT) en sustrato.....	32
5.2.3.4. Actividad de Nitrito reductasa (NiR) en sustrato y raíz.	34
5.2.4. Determinación del contenido de proteína total en sustrato y raíz.	35
5.2.5. Determinación de Nitrógeno total (NT) en sustrato.	36
5.2.6. Rasgos morfológicos de la planta y vida de anaquel del fruto de tomate hidropónico convencional y orgánico.....	37
5.2.6.1. Análisis de rasgos fisiológicos de la planta de tomate.	37
5.2.6.1.1. Largo de la planta.	37
5.2.6.1.2. Área foliar.....	37
5.2.6.1.3. Diámetro del tallo.	38
5.2.6.1.4. Número de hojas y número de frutos.	38
5.2.6.2. Parámetros de vida de anaquel del fruto de tomate.....	38
5.2.6.2.1. Firmeza y % de pérdida de peso.....	38
5.2.6.2.2. Color.	39
5.2.6.2.3. Sólidos solubles y acidez	39
5.2.7. Análisis estadístico.	40
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	41
6.1. Composición mineral de las soluciones nutritivas del cultivo hidropónico de tomate orgánico y convencional.	41
6.2. Contenido de Nitrógeno total (NT) en sustrato de sistema hidropónico orgánico y convencional.	46
6.3. Disponibilidad de compuestos nitrogenados inorgánicos en sistemas hidropónico orgánico y convencional.....	49
6.3.1. Cambios en el contenido de NO_3^- en sustrato y raíz.	49
6.3.2. Cambios en el contenido de NO_2^- en sustrato y raíz.	53
6.3.3. Cambios en el contenido de NH_4^+ en sustrato y raíz.....	57
6.2. Actividad enzimática asociada al metabolismo del nitrógeno en sistema hidropónico orgánico y convencional.....	61
6.2.1. Cambios en la actividad de nitrato reductasa (NR) en sustrato y raíz.	61
6.2.2. Cambios en la actividad de nitrito reductasa (NiR) en sustrato y raíz.....	68
6.2.3. Cambios en la actividad de glutamina sintetasa (GS) en sustrato y raíz.	72
6.2.4. Actividad de proteasa (PRT) en sustrato de crecimiento.....	79
6.3. Efecto del metabolismo del nitrógeno sobre los rasgos morfológicos de la planta.....	82
6.3.1. Área foliar.	82
6.3.2. Diámetro del tallo.....	83

6.4. Efecto del metabolismo del nitrógeno sobre los parámetros de vida de anaquel del fruto de tomate.	86
7. CONCLUSIÓN.....	95
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

Índice de figuras

Fig. 1 Principales países productores de tomate a nivel mundial (FAOSTAT, 2023).	5
Fig. 2. Evolución de la exportación en México (SIAP, 2023)	6
Fig. 3. Transformación microbiana de compuestos nitrogenados (Kuypers et al., 2018).....	12
Fig. 4. Especificaciones de los invernaderos orgánico (a), convencional (b) y selección de plantas para el muestreo.....	22
Fig. 5. Cambios en el contenido de NT en sustrato hidropónico orgánico y convencional.....	48
Fig. 6. Contenido de nitrato en sustrato (a) y raíz (b) de sistema hidropónico orgánico y convencional.	52
Fig. 7. Contenido de nitrito en sustrato (a) y raíz (b) de sistema hidropónico orgánico y convencional.	56
Fig. 8. Cambios en el contenido de amonio en sustrato (a) y raíz (b) de sistema de cultivo de tomate hidropónico orgánico y convencional.	59
Fig. 9. Cambios en la actividad de nitrato reductasa (NR) en sustrato (a) y raíz (b) de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.....	65
Fig. 10. Cambios en la actividad de nitrito reductasa en sustrato (a) y raíz (b). de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.....	69
Fig. 11. Cambios en la actividad de Glutamina sintetasa (GS) en sustrato (a) y raíz (b). de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.	74
Fig. 12. Cambios en la actividad proteasa en sustrato de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.....	81
Fig. 13. Efecto del metabolismo del nitrógeno sobre los rasgos morfológicos de la planta. Área foliar (a); diámetro del tallo (b).	83
Fig. 14. Evolución de la pérdida de peso en frutos de tomate orgánico y convencional almacenados a 12°C.....	88
Fig. 15. Cambios en los valores de a* (a) y L* (b) en frutos de tomate orgánico y convencional.....	93

Índice de tablas

Tabla 1. Evolución de la producción de tomate a nivel mundial. Durante los años 2011-2021 (FAOSTAT, 2023).....	4
Tabla 2. Comparación de las tecnologías en agricultura protegida (Pratt & Ortega, 2019).....	6
Tabla 3. Enzimas involucradas en la transformación microbiana de Nitrógeno.....	12
Tabla 4 Diseño experimental	21
Tabla 5. Composición nutrimental de la solución nutritiva utilizada en el sistema de riego en los invernaderos de cultivo convencional y orgánico.. ..	23
Tabla 6. Lista de productos complementarios de apoyo a la nutrición de plantas de tomate de los diferentes sistemas de cultivo orgánico y convencional	24
Tabla 7. Análisis de soluciones nutritivas. Entrada= solución suministrada; salida= drenaje de la solución.	42
Tabla 8. Comparación de medias del contenido del nitrógeno total en sustratos para el cultivo de tomate orgánico y convencional en base fresca.	46
Tabla 9. Comparación de medias del contenido de NO_3^- en sustratos de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional	49
Tabla 10. . Comparación de medias del contenido de NO_3^- en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.	51
Tabla 11. Comparación de medias del contenido de NO_2^- en sustratos de crecimiento de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.....	53
Tabla 12. Comparación de medias del contenido de NO_2^- en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.	55
Tabla 13. Comparación de medias del contenido de NH_4^+ en sustrato de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.	58
Tabla 14. Comparación de medias del contenido de NH_4^+ en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.	60
Tabla 15. Comparación de medias de actividad de NR en sustrato de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.	62
Tabla 16. Comparación de medias de la actividad de NR en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.	64
Tabla 17. Comparación de medias de la actividad de NiR en sustratos de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.	68
Tabla 18. Comparación de medias de la actividad de NiR en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.	71
Tabla 19. Comparación de medias de la actividad de GS en sustratos de crecimiento de tomate orgánico y convencional en base fresca.	73
Tabla 20. Comparación de medias de la actividad de GS en sistema radicular de tomate orgánico y convencional en base fresca.	76

Tabla 21. Comparación de medias de la actividad de PRT en sustrato de crecimiento de tomate orgánico y convencional en base fresca.	79
Tabla 22. Comparación de medias de área foliar de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.....	82
Tabla 23. Comparación de medias de diámetro del tallo de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.....	84
Tabla 24. Rasgos morfológicos sin efecto del sistema de producción. Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=5). Tukey ($p \leq 0.05$).....	86
Tabla 25. Comparación de medias del porcentaje de pérdida de peso de frutos de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.	87
Tabla 26. Comparación de medias del color: valores a^* de frutos de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.....	89
Tabla 27. Comparación de medias del color: valores L^* de frutos de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.....	91
Tabla 28. Parámetros de calidad evaluados en frutos de tomate orgánico y convencional.....	94

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE: Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

Resumen

La absorción de nitrógeno (N) en la rizosfera es un proceso llevado a cabo por el transporte activo de la raíz, así como por la actividad enzimática realizada por una gran variedad de microorganismos. Garantizando una correcta metabolización del N, el rendimiento del cultivo se potencia. Sin embargo, en cultivos orgánicos, el porcentaje del rendimiento del cultivo disminuye entre un 15 y 20%, en comparación con un cultivo convencional. Esto debido, principalmente, a la nutrición orgánica implementada en este sistema, la cual impacta en la disponibilidad de N en el sustrato de crecimiento y raíz. Representando de esta forma, un reto metabólico para el sistema orgánico. El objetivo de este trabajo fue comparar y analizar la actividad metabólica y enzimática relacionada con el ciclo del N en tomate cv. 'Merlice' de producción hidropónica orgánica y convencional. Muestras de agua del sistema de riego, sustrato y raíz de ambos sistemas fueron tomadas en las semanas 4, 8, 22 y 41 del ciclo de cultivo. Se analizó la composición de la solución nutritiva, los contenidos de NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ y actividades de las enzimas NR, NiR, GS y PRT. Además, se analizó el crecimiento de las plantas durante el ciclo de los cultivos. Los resultados de la solución nutritiva, así como de sustrato y raíz indicaron un efecto significativo ($p \leq 0.005$) del sistema de cultivo. Se evidenció mediante la solución nutritiva un mayor aporte de NO_3^- (15%) y NH_4^+ (70%) en sistema orgánico. En sustrato del sistema orgánico el contenido de NO_3^- disminuyó en un 12%, indicando una posible absorción por las raíces. En donde se encontró un contenido del 30% mayor en raíz orgánica. El contenido de NO_2^- y NH_4^+ en raíz se evidenció incrementado en un 32% y 13%, respectivamente. Esta disponibilidad de N en raíz impactó en la actividad de la NR en raíz del sistema orgánico, registrándose una actividad 50% mayor. Dicha metabolización de N evidenciada en el sistema orgánico impactó en un mayor desarrollo vegetativo de las plantas cultivadas en sistema orgánico. Estos resultados señalan la necesidad de optimizar los sistemas de cultivo hidropónico convencional y orgánico.

Palabras clave: Prácticas agrícolas, Nitrógeno, *Solanum lycopersicum*.

Abstract

The nitrogen (N) uptake in the rhizosphere is a process carried out by active root transport as well as enzymatic activity by a wide variety of microorganisms. Ensuring a correct metabolism of N, the yield of the crop is enhanced. However, in organic crops, the percentage of crop yield decreases by 15 to 20%, compared to a conventional crop. This is mainly due to the organic nutrition implemented in this system, which impacts the availability of N in the growth substrate and root. In this way, it represents a metabolic challenge for the organic system. Therefore, the aim of this study was to compare and analyze the metabolic and enzymatic activity related to the N cycle in cv tomatoes. 'Merlice' of organic and conventional hydroponic production. Water samples from the irrigation system, substrate and root of both systems were taken at weeks 4, 8, 22 and 41 of the crop cycle. The composition of the nutrient solution, the contents of NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ and the activities of the enzymes NR, NiR, GS and PRT were analyzed. In addition, plant growth during the crop cycle was analyzed. The results of the nutrient solution, as well as substrate and root indicated a significant effect ($p \leq 0.005$) of the cropping system. A higher contribution of NO_3^- (15%) and NH_4^+ (70%) in the organic system was evidenced by the nutrient solution. In the substrate of the organic system, the NO_3^- content decreased by 12%, indicating a possible absorption by the roots. Where a 30% higher content was found in organic root. The content of NO_2^- and NH_4^+ in roots was shown to increase by 32% and 13%, respectively. This availability of root N had an impact on the activity of root NR in the organ system, with a 50% higher activity. This metabolization of N evidenced in the organic system had an impact on a greater vegetative development of plants grown in the organic system. These results point to the need to optimize conventional and organic hydroponic growing systems.

Key words: Agricultural practices, Nitrogen, *Solanum lycopersicum*.

1. Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum*), es una de las hortalizas más consumidas a nivel mundial. El incremento promedio anual en la producción desde el año 2013 fue de ~1.8%, con picos en la producción notablemente mayores en los años 2014 y 2021; 5.6% y 27.24%, respectivamente (Tabla 1) (FAOSTAT, 2023). El notable incremento en la producción a partir del 2014 propició la implementación de nuevas tecnologías de producción de alimentos como macrotúnel, malla sombra e invernaderos. Dichas tecnologías comprenden un grupo denominado como Agricultura Protegida (Pratt & Ortega, 2019). La implementación de la agricultura protegida ha hecho posible que durante varios años México se posicione dentro de los diez principales países productores de tomate a nivel mundial así también como el principal exportador de esta hortaliza (Fig. 1 y 2) (SIAP, 2023).

La producción de tomate a nivel mundial se maneja de forma convencional, sistema en el cual se utilizan distintos fertilizantes sintéticos que potencian la producción del cultivo. Sin embargo, el uso de este tipo de fertilización compromete la calidad de los suelos de producción, ya que, puede aumentar la acidez del suelo debido a la liberación de iones de hidrógeno, lo que conduce al desarrollo de suelo infértiles. Además de que se potencia la contaminación de mantos acuíferos (Sainju et al., 2019).

Por tal motivo, la implementación de cultivos orgánicos es una alternativa para tratar de contrarrestar el daño ambiental que ha provocado la utilización de los fertilizantes sintéticos sobre el suelo. Este sistema de cultivo con el paso de los años ha incrementado considerablemente. Sin embargo, su uso aún es menor en comparación con el cultivo convencional, debido a que los rendimientos que se producen en este sistema son menores, lo cual para el productor de tomate no es conveniente.

Uno de los principales retos de la agricultura orgánica es lograr altos rendimientos, por lo cual, el adecuado manejo de la nutrición en estos cultivos es fundamental

para lograrlo. Al ser el nitrógeno (N) uno de los nutrientes principales en el desarrollo de los cultivos, su disponibilidad en el sustrato de crecimiento del cultivo es un factor imprescindible que impacta directamente en el desarrollo y rendimiento del cultivo, tanto en sistemas orgánicos como convencionales. Esto debido a la capacidad neta de absorción de nitrógeno, así como su posterior asimilación principalmente nitrato, amonio y aminoácidos.

En el cultivo orgánico un desafío importante es garantizar la sincronía entre esta disponibilidad y la demanda de N en suelo, para asegurar de manera oportuna que los cultivos no tengan limitaciones de este nutriente. Por tal motivo fue necesario generar evidencia de los mecanismos clave de asimilación de nitrógeno que se llevan a cabo en cultivos orgánicos, teniendo en cuenta esta limitante de nutrición. Comparar con un cultivo convencional nos dio información de posibles vías de optimización de la nutrición en el cultivo orgánico.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue comparar la actividad enzimática involucrada en la metabolización del nitrógeno en sustrato (fibra de coco) de un cultivo hidropónico de tomate cv. Merlice de producción orgánica y convencional. Así mismo, se evaluó el impacto de dicha metabolización en los cambios en la disponibilidad de N en el sustrato, así como su impacto en la capacidad de absorción y asimilación intracelular en el sistema radicular de ambos sistemas de producción. Por último, se evaluó el impacto de los cambios en la capacidad de absorción y asimilación intracelular de nitrógeno sobre la capacidad de desarrollo de los cultivos, así como en la calidad y vida poscosecha del tomate.

Los resultados indicaron una mayor concentración de nitratos y amonio tanto en solución nutritiva, así como en sustrato y raíz del sistema orgánico, así como también se observó una alta actividad enzimática, lo cual propició un mayor desarrollo vegetativo de las plantas cultivadas en el sistema orgánico. Estos resultados señalan la necesidad de optimizar los sistemas de cultivo hidropónico convencional y orgánico.

2. Antecedentes

2.1. Evolución de la producción de tomate a nivel mundial

El tomate (*Solanum lycopersicum*), es una de las hortalizas de mayor producción a nivel mundial. De acuerdo con la FAO, la producción de tomate ha tenido un incremento sostenido a lo largo de los años. Del año 2011 al 2021, se incrementó la producción en 97, 303, 820 toneladas (ton) (Tabla 1) (FAOSTAT, 2023). Así mismo, el área de cultivo del tomate se incrementó en 1, 730, 279 hectáreas (ha), pasando de 4,581,632 ha en el 2011 a 6,311,911 ha en el 2021 (Tabla 1) (FAOSTAT, 2023). Analizando el incremento promedio anual de la producción, en porcentajes, estos estuvieron alrededor del 2% hasta el año del 2020; siendo en el año 2021 donde el aumento en la producción fue notablemente mayor (27.24%), (Tabla 1) (FAOSTAT, 2023). Dicho incremento puede atribuirse a la implementación de la agricultura protegida.

Tabla 1. Evolución de la producción de tomate a nivel mundial. Durante los años 2011-2021 (FAOSTAT, 2023).

Año	Producción	Área cosechada	Porcentaje de Incremento (Producción)
	(tn)	(ha)	%
2011	159,466,859	4,581,632	4.03
2012	163,160,213	4,802,394	2.31
2013	165,219,586	4,847,487	1.26
2014	174,448,040	4,912,396	5.6
2015	176,508,179	4,824,192	1.18
2016	177,382,876	4,854,457	0.49
2017	178,024,027	4,876,142	0.36
2018	180,231,376	5,004,555	1.23
2019	183,014,805	4,999,181	1.54
2020	186,821,216	5,051,983	2.07
2021	256,770,679	6,311,911	27.24

2.1.1. Principales países productores de tomate

Los principales países productores de tomate son China, India y Turquía, seguidos de EUA e Italia (Fig. 1). México con el paso de los años ha permanecido dentro de los 10 principales productores de tomate a nivel mundial; en 2021, se posicionó en 9º lugar con una superficie cosechada de 90,306 hectáreas y una producción de 4,149,240 de toneladas (FAOSTAT, 2023).

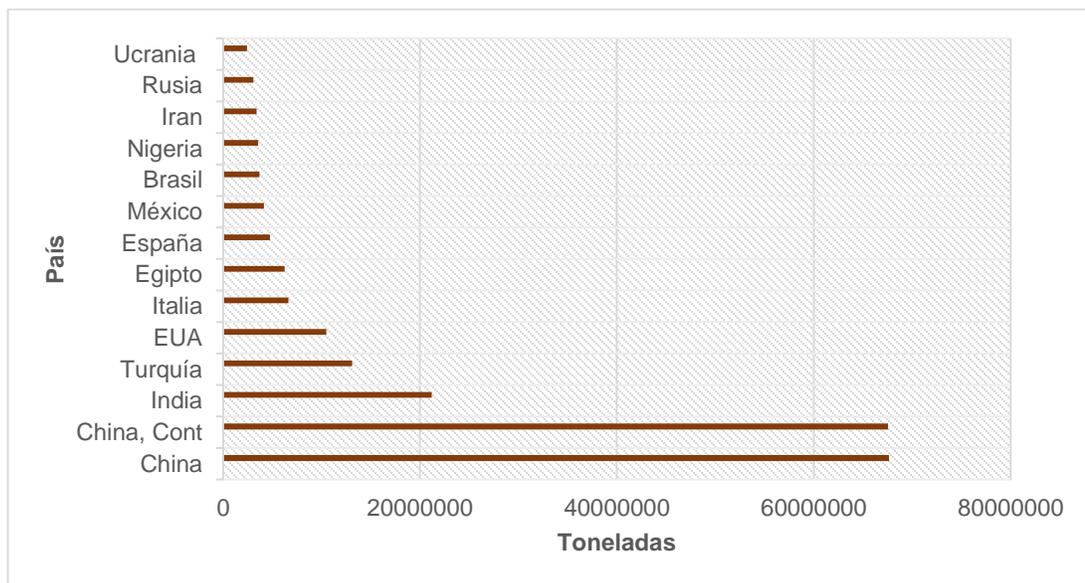


Fig. 1 Principales países productores de tomate a nivel mundial (FAOSTAT, 2023).

2.2. Evolución e importancia económica de la producción de tomate en México

La posición de México dentro de los principales productores de tomate a nivel mundial ha sido posible debido a la implementación de tecnologías de riego y adopción de una agricultura protegida (McLeod & Flores, 2018). La agricultura protegida consiste en producir cultivos bajo estructuras protectoras, las cuales están diseñadas para modificar el ambiente natural. Esta se divide en cuatro categorías: invernaderos de tecnología alta, invernaderos de tecnología media, invernaderos de tecnología baja y malla sombra (Tabla 2) (Pratt & Ortega, 2019). En comparación con una producción en cielo abierto, la agricultura protegida aumenta el rendimiento y la calidad del fruto.(McLeod & Flores, 2018). Lo que contribuye así al valor

agregado de la hortaliza para una mejor posición competitiva en el mercado de exportación; área en la cual México es el primer exportador de tomate a nivel mundial (FAOSTAT, 2023).

Tabla 2. Comparación de las tecnologías en agricultura protegida (Pratt & Ortega, 2019).

Variables de comparación	Tipo de tecnología				
	Alta	Media	Baja	Casa sombra	Cielo abierto
Productividad	500-800 tn/ha	400 tn/ha	100-300 tn/ha	120-150 tn/ha	22 tn/ha
Requisitos de tierra y suelo	El medio de cultivo es el sustrato con menos de 2% de pendiente.	60% en suelos, igual que en cielo abierto, 40% en sustratos	Similar al cielo abierto	Terreno con drenaje y una ligera pendiente para evitar plagas	Profundo, limoso, bastante plano, pH entre 6.2 y 6.8.
Uso de agua	16 m ³ /tn	35 m ³ /ton	59 m ³ /tn	50–70 m ³ /tn	75 m ³ /tn
Kg de nitrógeno por tonelada de tomate	10.4	27.2	20.7	24.88	31.1
Uso de energía kWh por tonelada	216	385	600	518-698	743

2.2.1. Exportación de tomate en México

México se ha mantenido como el principal exportador de tomate a nivel mundial debido a la implementación de la agricultura protegida (McLeod & Flores, 2018). Este cambio en la forma de producción de tomate ha sido de gran importancia y los valores se han reflejado en la exportación. A partir del año 2014 la exportación de tomate se incrementó en 50% (Fig. 2), siendo a partir del año 2015 que la exportación de tomate ha mantenido un incremento anual de alrededor del 6%. (Fig. 2) (SIAP, 2023).

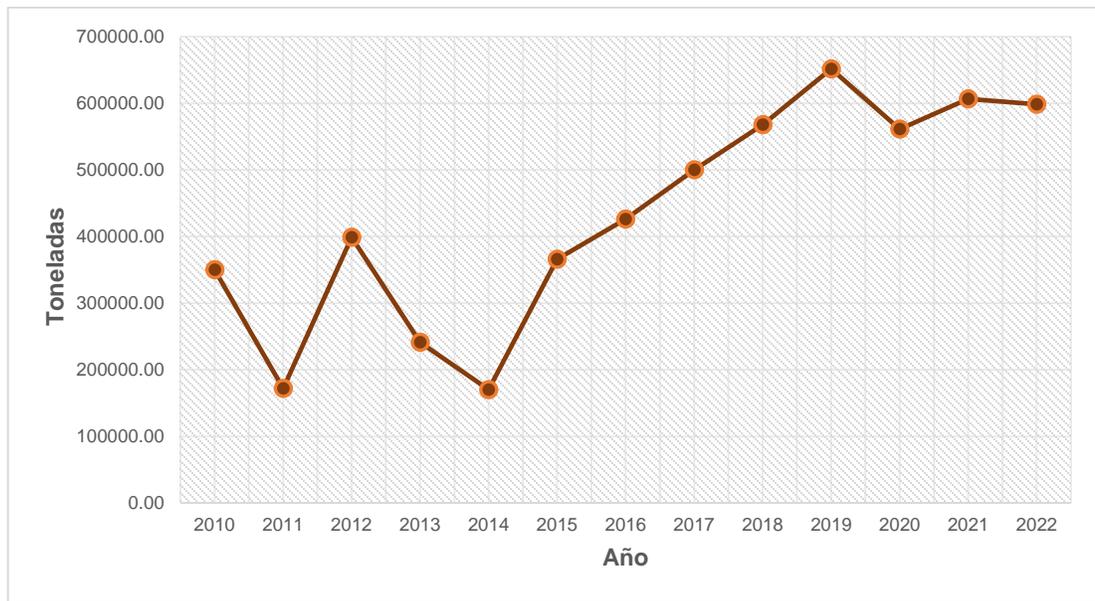


Fig. 2. Evolución de la exportación en México (SIAP, 2023)

2.2.2. Fertilización e impactos en el rendimiento de cultivos de tomate en México.

La producción de tomate se realiza en sistemas convencionales y orgánicos. Los sistemas de producción convencionales involucran la aplicación de fertilizantes sintéticos y plaguicidas, los cuales generalmente se usan de forma intensiva con el objetivo de incrementar la productividad (Boschiero et al., 2023). Sin embargo, por lograr dicho objetivo se liberan contaminantes que tienen un fuerte impacto ambiental (Eyhorn et al., 2019). En México este sistema de producción representan el 98.3% de la producción total de tomate, con un rendimiento de ~144.41 tn/ha (SIAP, 2023).

En contra parte, con el sistema orgánico, de acuerdo con la regulación 2018/848 de la Union Europea (*Regulation (EU) 2018/848 of the European Parliament and of the Council on organic production and labelling of organic products and repealing Council Regulation (EC) No. 834/2007*. | UNEP Law and Environment Assistance Platform, 2018), se combinan prácticas de manejo con menor impacto ambiental ya

que se sustituyen los fertilizantes sintéticos por compuestos orgánicos tal como estiércol de pollo, bovino o caprino, harina de algodón o de pescado, así como biofertilizantes, entre otros (Shaji et al., 2021). Estos actúan mediante la liberación gradual de nutrientes en el suelo, proporcionando de esta forma propiedades microbiológicas, fisicoquímicas y bioquímicas, que influyen en la calidad del suelo donde se desarrollará el cultivo (Shaji et al., 2021). En México, este sistema es usado en la producción de tomate, sin embargo, su uso es limitado, ya que representa ~1.7% del cultivo de tomate a nivel nacional y tiene un rendimiento del 75.44 tn/ha (SIAP, 2023). Este bajo rendimiento presentado en los sistemas orgánicos es debido principalmente a la diferencia entre los fertilizantes utilizados en cada sistema, ya que estos impactarán directamente sobre la disponibilidad de nutrientes que la planta tiene para su desarrollo y repercutirá sobre el rendimiento final del cultivo.

Dentro de los fertilizantes mayormente utilizados se encuentra el nitrógeno (N). Según estimaciones de la FAO, en 2018 el consumo mundial agrícola fue de 107.7 Mt de N elemental procedente de fertilizantes sintéticos (Menegat et al., 2022). Sin embargo, alrededor del 50% y hasta el 70% del nitrógeno aplicado en los cultivos se pierde, lo que impide que los cultivos alcancen un alto rendimiento y se incrementen los costos e inversiones en los insumos agrícolas, lo cual impacta en la seguridad alimentaria (Coskun et al., 2017; Shilpha et al., 2023). Además dicha pérdida y liberación de fertilizantes nitrogenados contribuye a la eutrofización de aguas superficiales, así como también se contribuye a las emisiones atmosféricas de gases de efecto invernadero (Shilpha et al., 2023).

Por lo anterior, la nutrición en los cultivos y principalmente la nutrición con compuestos nitrogenados es clave para promover, mejorar o incrementar el rendimiento final de los cultivos. Dicho papel e importancia del nitrógeno se refleja en las secciones siguientes.

2.3. Nitrógeno como uno de los principales nutrientes en las plantas.

El nitrógeno (N) es uno de los principales nutrientes inorgánicos que limitan en mayor medida el crecimiento y rendimiento de los cultivos. La regulación del crecimiento y productividad de los cultivos radica principalmente en su importancia para sintetizar compuestos vitales, tales como aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, fitohormonas, entre otras (Anas et al., 2020). Además, la disponibilidad de este nutriente puede influir en la composición final del fruto (Hernández et al., 2020; Tavallali et al., 2018). Por lo tanto, es necesario el suministro y la disponibilidad de este nutriente a lo largo de todo el desarrollo de la planta de tomate.

Así mismo, las cualidades nutritivas del tomate en poscosecha se ven comprometidas por varios factores, tales como el genotipo de la planta, las condiciones ambientales donde se desarrolle, así como por el uso de fertilizantes o nutrientes inorgánicos (Hernández et al., 2020). Este último factor es clave, ya que de este dependen las características organolépticas del tomate: apariencia, textura, sabor; así como también su capacidad antioxidante y concentración de macronutrientes (Toor et al., 2006).

2.3.1. Metabolismo y transporte del nitrógeno.

El N es uno de los elementos más abundantes en la atmósfera. Sin embargo, este se encuentra en forma de nitrógeno molecular, fórmula química que la mayoría de los organismos no tienen la capacidad de asimilar (Kuypers et al., 2018). Por lo tanto, los compuestos nitrogenados en la naturaleza se dividen en dos grupos: no reactivos y reactivos. Siendo el N no reactivo, el nitrógeno atmosférico (N_2). Por otro lado, el N reactivo (Nr) incluye formas inorgánicas oxidadas y reducidas como: amoníaco (NH_3), amonio (NH_4^+), óxido nítrico (NO), ácido nítrico (HNO_3), óxido nitroso (N_2O), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-). Teniendo estas formas reactivas la planta puede asimilarlo y tener un desarrollo óptimo, así como un mejor desarrollo y productividad (Galloway et al., 2003).

En plantas, el NO_3^- y el NH_4^+ son las mayores fuentes de nitrógeno, siendo el NO_3^- la forma predominante del nitrógeno en suelo. Para la absorción activa de este, se requieren de proteínas transmembranales que permitan la absorción del medio exterior para su transporte y translocación a los diferentes tejidos y células de las plantas. (Wang et al., 2018). Se han descrito seis tipos de familias de proteínas encargadas de realizar esta función: transportadores de amonio (AMT1 y AMT2), transportadores de nitratos de alta afinidad (NRT2; NRT2.1, NRT2.2, NRT2.3, NRT2.4, NRT2.5 y NRT2.7), transportadores de nitratos de baja afinidad (small peptide transporter family NPF: NRT1/PTR), familia de transportadores de cloruros (CLC), canales aniónicos tipo-s y sus homólogos (SLAC/SLAH) y transportadores de amino ácidos (AAP, CAT1, CAT3 y proT) (Chen et al., 2020; Fan et al., 2009; Hsu & Tsay, 2013; Kiba et al., 2012; Lin et al., 2008; Y.-Y. Wang et al., 2018b; Y.-Y. Wang & Tsay, 2011)

El NO_3^- para ser incorporado en aminoácidos se reduce a NO_2^- por acción de la enzima nitrato reductasa (NR) en el citosol de la célula; posteriormente NO_2^- lleva otra reducción y es convertido en NH_4^+ por acción de la nitrito reductasa en los plástidos o en los cloroplastos (Wang et al., 2018a); luego, este último, continua su proceso y se une a esqueletos de carbono para formar aminoácidos necesarios para el desarrollo de las plantas. El NO_3^- no reducido es transportado y almacenado en las vacuolas de las células mesófilas, este transporte es llevado a cabo por medio del xilema (Liang & Zhang, 2020). Los iones NH_4^+ resultantes de la reducción de NO_3^- , o incluso los que han sido directamente incorporados, funcionan como sustrato para que las enzimas como glutamina sintetasa (GS) y glutamato sintasa (GOGAT) puedan generar ácido glutámico (Glu) y glutamina (Gln), los cuales son precursores de la síntesis de otros aminoácidos necesarios para el crecimiento y desarrollo de la plantas (Lopez-Delacalle et al., 2020).

En tomate, un estudio realizado por (Horchani et al., 2010) reveló que un suministro de N ya sea en la forma inorgánica de NO_3^- o NH_4^+ , influencia en el desarrollo y la morfología de la planta de distinta forma. Los resultados obtenidos por el grupo de

estudio mostraron que las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv Rio Grande) se desarrolló mejor en condiciones nutricionales basadas en altas concentraciones de NH_4^+ que bajo NO_3^- . Esto fue evaluado por la medición de peso seco y área foliar. Además, destacaron que la mayor concentración de NH_4^+ se encontraba en las raíces; existe evidencia de que el NH_4^+ es tóxico en altas concentraciones, por lo tanto, debe asimilarse rápidamente mediante la vía GS/GOGAT. Hecho que, durante el estudio, de igual forma, fue evaluado, ya que la actividad de las enzimas involucradas en esta vía, tales como: nitrato reductasa (NR), nitrito reductasa (NiR), glutamina sintetasa (GS) y glutamato deshidrogenasa (GDH), aumentaron en presencia de NH_4^+ y se detectó mayor actividad en las raíces (Horchani et al., 2010).

Un elemento clave a destacar es que la planta puede asimilar más rápido el NH_4^+ que el NO_3^- debido a un menor gasto energético implicado en su asimilación (Zhang et al., 2019). Además, el NH_4^+ puede directamente ser asimilado por la planta vía GS/GOGAT para generar dos moléculas de glutamato que posteriormente estarán involucradas en la señalización de muchos procesos fisiológicos. Estos procesos incluyen la germinación de semillas, arquitectura de la raíz, germinación del polen, respuesta a heridas y resistencia a patógenos, así como respuesta y adaptación a estrés ambiental (Qiu et al., 2020). Además de que también puede reducirse a nitrato, o desaminarse en compuestos nitrogenados. Mientras que el NO_3^- debe reducirse antes de su asimilación lo que implica mayor inversión de energía para la planta (Heeb et al., 2005).

Esta disponibilidad del nitrógeno en el suelo del cultivo es un factor imprescindible que impacta directamente en la producción y rendimiento del cultivo tanto en sistemas orgánicos como en convencional. En cultivo orgánico un desafío importante es garantizar la sincronía entre esta disponibilidad y la demanda de N en suelo para asegurar de manera oportuna que los cultivos no tengan limitaciones de este nutriente. Ya que la fuente de N en este tipo de fertilizantes tiende a ser más lenta la mineralización. Por lo que la materia orgánica del suelo es de los principales

pilares de la producción agrícola, es aquí donde comienza a suministrarse y manipular el nitrógeno.

2.3.2. Mineralización de la materia orgánica.

En la producción agrícola, las fuentes potenciales de N son principalmente materiales orgánicos, estas fuentes serán sometidas a un proceso de mineralización en el que los microorganismos presentes en el suelo del cultivo metabolizan el carbono orgánico y transforman los compuestos orgánicos de N (Gaskell & Smith, 2007). Formando de esta forma un ciclo dinámico que determinará la tasa y disponibilidad de N para su aprovechamiento durante el desarrollo de la planta

La mineralización del nitrógeno consta de dos etapas: proteólisis y amonificación. La proteólisis consiste en la hidrólisis de proteínas que generarán péptidos que posteriormente serán transformados en aminoácidos. Siendo las quitinasas y proteasas las principales que catalizan la descomposición inicial de componentes naturales de la planta que contienen N (Gianfreda, 2015).

La segunda etapa es la amonificación, durante este proceso los aminoácidos son convertidos en amoníaco. En esta transformación el amonio (NH_4^+) se transforma en amoniaco (NH_3) a través de su desprotonación debido a las cargas negativas de las partículas superficiales de los suelos (Coskun et al., 2017). Este proceso de transformación de compuestos nitrogenados es llevado a cabo de igual forma por varios géneros de microorganismos, como lo son *Clostridium* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Escherichia coli*, actinomicetos y hongos (Paśmionka et al., 2021).

2.3.3. Transformación microbiana de compuestos nitrogenados.

Los microorganismos tienen la capacidad de convertir compuestos nitrogenados, utilizando catorce reacciones (Fig.3). Estas reacciones involucran ocho especies clave de nitrógeno inorgánico (Nitrato, Nitrito, óxido nítrico, óxido nitroso, gas dinitrógeno, hidroxilamina, hidrazina y amoníaco). Las reacciones involucran

oxidación y reducción de compuestos, donde actúan distintas enzimas (Tabla 3) (Kuypers et al., 2018).

Tabla 3. Enzimas involucradas en la transformación microbiana de Nitrógeno.

Enzimas (Kuypers et al., 2018)	
1.- Nitrato reductasa asimilatoria (NAS)	2.- Hidroxilamina oxidasa (HOX)
3.- Nitrato reductasas disimilatorias unidas a la membrana (NAR) y periplásmicas (NAP,)	4.- Óxido nitroso reductasa (NOS)
5.- Nitrito oxidorreductasa (NXR)	6.- Óxido nítrico dismutasa (NOD)
7.- Oxidasa de óxido nítrico (NOO)	8.- Nitrito reductasa asimilatoria (cNIR)
9.- Nitrito reductasas con hemo (cd,-NIR) y con cobre (Cu-NIR)	10.- Nitrito reductasa de citocromo c periplásmico disimilatorio (ccNIR)
11.- Óxido nítrico reductasas dependientes de citocromo c (CNOR).	12.- E-hidroxilamina oxidorreductasa (εHAO)
13.- Óxido nítrico reductasa (p450nor)	14.- Molibdeno-hierro (MoFe)
15.- Óxido nítrico reductasa de flavo-dihierro (NORvw)	16.- Hidrazina sintasa (HZS)
16.- Hidroxilamina oxidorreductasa (HAO)	17.- Amoníaco monooxigenasa (AMO)

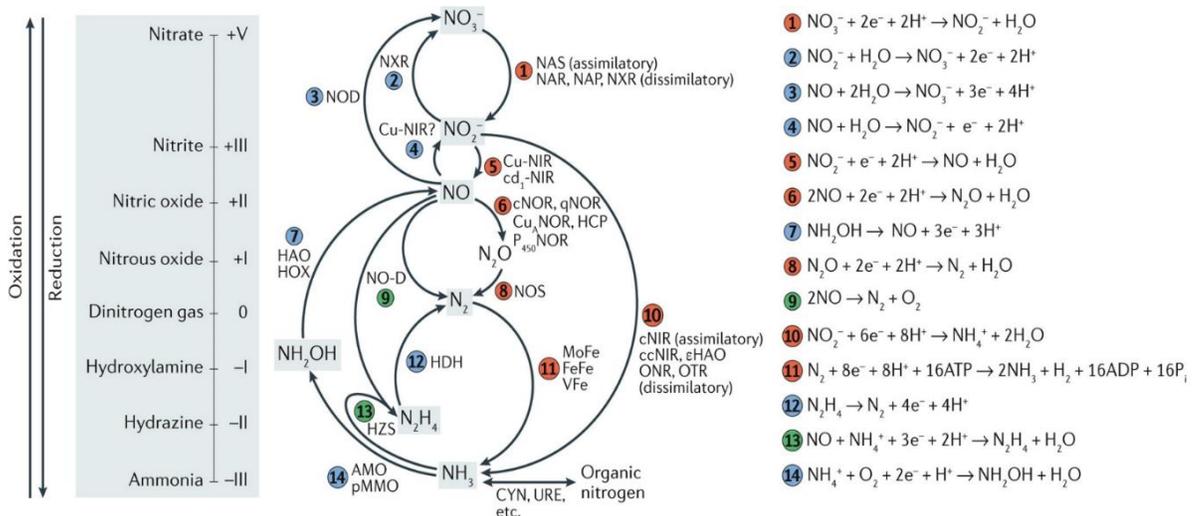


Fig. 3. Transformación microbiana de compuestos nitrogenados (Kuypers et al., 2018).

2.3.4. Fijación de nitrógeno.

El nitrógeno atmosférico (N₂) es el elemento más abundante. Sin embargo, solo microorganismos que cuenten con el sistema para codificar a la enzima Nitrogenasa son capaces de fijar nitrógeno. Esta enzima cataliza la transformación del N₂ en amoníaco (NH₃) mediante la siguiente reacción: $N_2 + 8e^- + 8H^+ + 16ATP \rightarrow 2NH_3 + H_2 + 16ADP + 16P_i$ (Kuypers et al., 2018).

Se han descrito bacterias pertenecientes a los géneros *Azotobacter*, *Azotococcus*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Derxia*; anaeróbicas: *Clostridium*; así como bacterias fotosintéticas como *Rhodobacter* (Paśmionka et al., 2021). La actividad de estos organismos, conocidos también como diazótrofos, incrementa los recursos de nitrógeno disponibles. Por lo tanto, estos microorganismos son estimulantes del desarrollo vegetal de la planta, además de que promueven los sistemas de transporte de NO₃⁻ en las plantas (Paśmionka et al., 2021).

A diferencia de la familia Fabaceae (fijadoras de nitrógeno), la planta de tomate no tiene la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico. No obstante, se reportó en 2007, especies diazotróficas de *Burkholderia* asociadas a rizosfera de plantas de tomate en diferentes regiones de México. que mostraron actividad de la enzima nitrogenasa y además se detectó la presencia de genes *nifH* (Caballero-Mellado et al., 2007). Dicho hallazgo permitiría usar esto como una herramienta adicional o como una alternativa para incrementar la producción de tomate.

2.3.5. Nitrificación

La nitrificación se clasifica en dos procesos: (1) oxidación del amoníaco ($NH_3 + O_2 + 2e^- + H^+ \rightarrow NH_2OH + H_2O$); (2) oxidación de nitrito ($NO_2^- + H_2O \rightarrow NO_3^- + 2e^- + 2H^+$). En la oxidación del amoníaco la enzima amoníaco monooxigenasa (AMO) se ve potenciada, esta cataliza la oxidación del amoníaco en hidroxilamina (NH₂OH) (Kuypers et al., 2018). Bacterias del género *Nitrospira*, también conocidas como Bacterias Oxidantes de Amoníaco (BOA) y arqueas del género *Nitrososphaera*,

denominadas: Arqueas Oxidantes de Amoníaco (AOA) son clave en la realización de este proceso (Kuypers et al., 2018).

El segundo proceso es la oxidación del nitrito al nitrato, esta vía bioquímica implica la producción de nitrato catalizado por la enzima nitrito oxidorreductasa (NXR), codificada por varias bacterias aerobias nitrito-oxidantes pertenecientes a los filos: *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Chloroflexi*, *Nitrospinae* y *Nitrospirae* (Kuypers et al., 2018).

2.3.6. Desnitrificación

La desnitrificación es el proceso bioquímico donde ocurre la reducción de NO_3^- en condiciones anaerobias o relativamente anaerobias llevado a cabo por microorganismos. Esta puede ser parcial: reducción de NO_3^- a NO_2^- ($\text{NO}_3^- + 2e^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$) o a NH_4^+ ($\text{NO}_2^- + 6e^- + 8\text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+ + 2\text{H}_2\text{O}$). En estas reacciones entran en acción tres enzimas clave: 1) nitrato reductasa asimilatoria (NAR); 2) nitrito reductasa asimilatoria (NiR); 3) hidroxilamina reductasa asimilatoria (ANH₂OHR). Esta capacidad la poseen bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Aerobacter*, *Escherichia*, entre otras (Sparacino-Watkins et al., 2014).

Adicionalmente la desnitrificación puede también ser total y esta implica la reducción de NO_3^- a óxidos de nitrógeno e incluso N gaseoso o molecular (Kuypers et al., 2018). Esta desnitrificación total es catalizada en un proceso denominado reducción disimilatoria de NO_3^- por la acción de 1) DnaR: nitrato reductasa desnitrificante, 2) DniR: nitrito reductasa desnitrificante, 3) DNOR: óxido nitrogenado reductasa desnitrificante, 4) DN₂OR: óxido nitroso reductasa desnitrificante, 5) DNH₂OHR: la hidroxilamina reductasa desnitrificante. Esta desnitrificación es realizada por microorganismos heterótrofos y anaerobios facultativos, los más representativos: géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (Paśmionka et al., 2021).

2.4. Impacto de la fertilización en cultivos de tomate.

La adición de fertilizantes es un factor clave que puede afectar las comunidades microbianas asociadas al cultivo; por consiguiente una incorrecta asimilación de nutrientes (Grunert et al., 2019). La diversidad microbiana en el suelo del cultivo, como ya se describió, es un factor crítico para el funcionamiento de ciclos biogeoquímicos, así como la descomposición de materia orgánica y fijación de nitrógeno, además de estimulación del crecimiento y protección contra patógenos. Todos estos factores dependen de las prácticas de agricultura que se empleen (Khmelevtsova et al., 2022).

Además, se tiene evidencia de que el tipo de fertilizante utilizado para tratar cultivos impacta significativamente en el rendimiento. Un ejemplo de ello es un cultivo de tomate tratado con estiércol (contenía 0,34% N, 0,15% P y 0,48% K), tuvo mayor rendimiento de frutos de tomate, que en comparación con un cultivo tratado con compost de orujo de oliva (1,26% N, 0,08% P y 1,03 % K). La diferencia radicó en el número medio de frutos por planta. Aunque el segundo tratamiento contenía una mayor concentración de N, la mineralización de este fue lenta, por lo tanto, la planta de tomate no pudo aprovecharlo correctamente (Gatsios et al., 2021).

Esto último puede atribuirse a que la disponibilidad de N en la agricultura orgánica no depende únicamente de la concentración total de N aplicado a la rizosfera, sino también la tasa de mineralización del N realizada por microorganismos tiene un impacto importante (Li et al., 2020).

De acuerdo con los antecedentes señalados anteriormente, la fijación de nitrógeno en plantas de cultivo orgánico de tomate aún no se encuentra bien descrita; es necesario comprender las estrategias de absorción y asimilación de nitrógeno, así como su relación con las actividades enzimáticas en sustrato de crecimiento y en el sistema radicular. Por lo que en este trabajo se propone estudiar el mecanismo mediante el cual la planta asimila los compuestos nitrogenados disponibles en el sustrato orgánico; mediante el conocimiento de las actividades enzimáticas

involucradas en la absorción de nitrógeno orgánico. Y así mismo, comparar este mecanismo con el llevado a cabo en el cultivo convencional. Y de esta forma informar la correspondencia directa entre las actividades enzimáticas, concentración y transformación de compuestos nitrogenados.

3. Justificación

La producción de tomate en México representa una derrama económica importante. Durante varios años se ha posicionado dentro de los primeros diez países productores de esta hortaliza; además de ser el principal país exportador de tomate a nivel mundial. Para dicha producción se han implementado los sistemas de cultivo protegido como malla sombra, invernadero y macrotúnel, donde se han logrado rendimientos de 200 a 700 toneladas por ha. En condiciones de invernadero por hidroponía, se han implementado la producción convencional con aporte de nutrientes a través de fertilizantes químicos convencionales y la producción orgánica, donde la fuente de nitrógeno es un producto orgánico (harina de pescado, harina de sangre, lombri-composta y otros productos autorizados para productos orgánicos). El uso de estos fertilizantes orgánicos representa un reto metabólico para la planta ya que el nitrógeno orgánico debe mineralizarse para que esté disponible y pueda ser asimilado. Por ello, los rendimientos de producción en cultivos orgánicos son notablemente menores (20 % aproximadamente) en comparación con un cultivo convencional. Teniendo en cuenta que el nitrógeno es uno de los principales nutrientes en el cultivo de tomate para síntesis de aminoácidos, proteínas, bases nitrogenadas pigmentos fotosintéticos etc., se requiere un adecuado suministro durante las etapas fenológicas más importantes del ciclo de cultivo del tomate. Por ello, fue necesario dilucidar el mecanismo de fijación de nitrógeno en el cultivo de tomate orgánico en invernadero. De tal forma que, fue importante evaluar cómo el nitrógeno es asimilado por la planta de tomate, y cómo la actividad enzimática impacta en la transformación de los compuestos nitrogenados. De esta forma, identificar qué vías están involucradas. Este trabajo tuvo como objetivo conocer el mecanismo mediante el cual el cultivo orgánico de tomate está realizando la asimilación de nitrógeno por medio de la medición y cuantificación de compuestos nitrogenados inorgánicos y cómo la disponibilidad de estos impacta en la actividad de enzimas en sustrato de crecimiento y sistema radicular. Así mismo, ver el impacto que genera este metabolismo en la planta,

mediante la determinación de parámetros morfológicos de la planta y de fisiología poscosecha de los frutos. Esto con la finalidad de compararlo con el cultivo de tomate convencional para conocer posibles vías por medio de las cuales se pueda mejorar la nutrición y el rendimiento. De esta forma, establecer estrategias para mejorar los rendimientos de producción.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Comparar la eficiencia de asimilación de nitrógeno en el sustrato de tomate de producción orgánico y convencional, y su impacto sobre el metabolismo radicular, así como en el desarrollo de las plantas y calidad de los frutos.

4.2. Objetivos específicos

4.2.1. Comparar la disponibilidad de compuestos nitrogenados inorgánicos en el sustrato de sistemas de producción orgánico y convencional.

4.2.2. Cuantificar la actividad enzimática asociada a la asimilación de nitrógeno en el sustrato y raíz de plantas de tomate de producción orgánica y convencional.

4.2.3. Evaluar el impacto de la eficiencia de asimilación de nitrógeno sobre los rasgos fisiológicos de la planta y calidad del fruto en ambos sistemas de producción.

5. Metodología

5.1. Condiciones y características de los cultivos hidropónicos bajo sistemas orgánicos y convencionales.

Sitio experimental. Para la evaluación y comparación del metabolismo de nitrógeno en sustrato y raíz, así como el rendimiento y calidad de los frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Merlice) se utilizaron dos invernaderos hidropónicos comerciales bajo sistemas de fertilización convencional (5000 m²) y orgánico (7500 m²) ubicados en Centro de Investigación y Capacitación Koppert Rapel (CEICKOR) (20°42'22.5"N 99°56'27.6"W), durante el ciclo de producción 2022-2023.

Para todos los experimentos se utilizó un diseño bifactorial completamente aleatorizado, con tres repeticiones. Los factores considerados fueron (1) sistema de producción con dos niveles: orgánico y convencional; (2) semana de desarrollo del cultivo con cuatro niveles: 4, 8, 22 y 41 semanas. Generando así un diseño experimental de 8 tratamientos (Tabla 4). En cada invernadero se eligieron al azar 15 plantas. La unidad experimental (UE) fue de 5 plantas. Las semanas de muestreo fueron elegidas de acuerdo con las etapas clave del ciclo fenológico del tomate i) desarrollo vegetativo (semana 4), ii) inicio de floración (semana 8), iii) crecimiento reproductivo (semana 22), iv) fin del crecimiento reproductivo (semana 41).

Origen de las muestras. Se utilizaron semillas de tomate de racimo cv Merlice injertadas sobre un portainjerto generado de semillas de tomate cv 'Maxifort'. adquiridas de la productora de semilla De Ruiters Seed (Bayer). Las plantas en ambos sistemas de producción se condujeron en sistema de doble tallo. Las semillas fueron germinadas y posteriormente injertadas sobre el tallo del cultivar "Maxifort"; Dos semanas después se trasplantaron en bolsas de sustrato comercial a base de fibra de coco (dimensiones 50 cm x 18 cm x 17 cm); SUHM, Colima, México). Mientras que para el sistema orgánico se trasplantó en canoas de plástico con fibra de coco como sustrato (dimensiones 200 cm x 20 cm x 20 cm).

Recolección de muestras. En cada periodo de muestreo, en cada una de las 15 plantas seleccionadas se tomaron muestras de sustrato, raíz y frutos (Fig. 4). Las muestras de sustrato se colectaron en una zona comprendida de más de 1 cm de las raíces y de más de 10 cm alejadas del tallo de la planta. Las muestras de raíz fueron tomadas de la zona radicular de cada planta. Las muestras de sustrato y raíz fueron colocadas en bolsas de polietileno independientes, identificadas y colocadas en contenedor que contenía hielo para ser transportadas al laboratorio para su análisis. En el laboratorio, se separó la raíz del sustrato y se congelaron individualmente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C hasta su análisis.

Los análisis fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas. del Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos (DIPA) en la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Tabla 4 Diseño experimental

Sistema de producción (F1)	Semana de desarrollo (F2)	Tratamiento
Orgánico	4	1
Convencional		2
Orgánico	8	3
Convencional		4
Orgánico	22	5
Convencional		6
Orgánico	41	7
Convencional		8

a

Especificaciones:

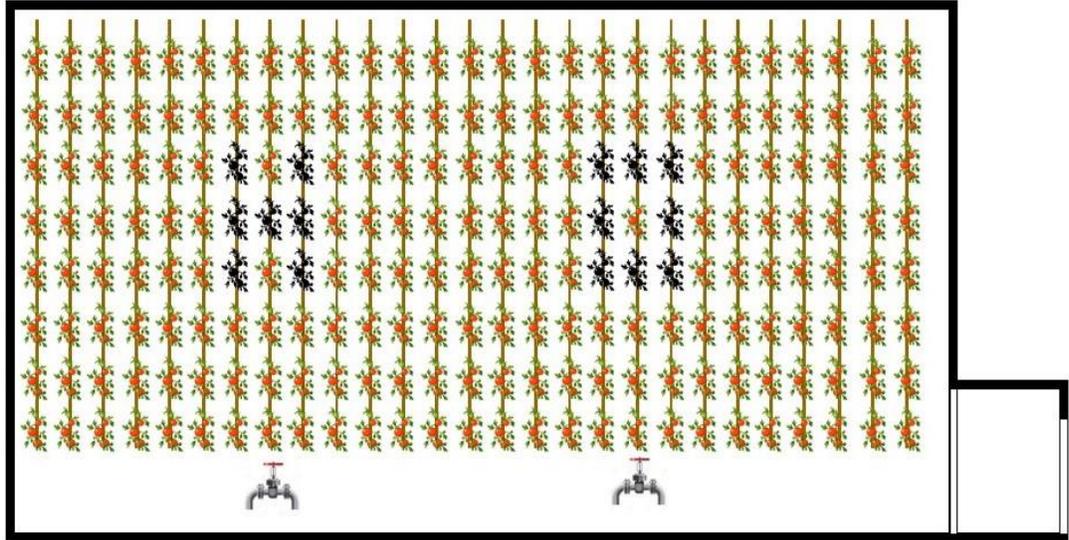
- Sistema de producción orgánica
- Extensión: 5,000 m²
- Orientación: Norte-Sur
- Tipo de ventilación: Pasiva con ventanas frontales de cierre automático
- Cubierta: Doble capa de plástico



Válvulas de riego. Sistema de 2 válvulas



Plantas de muestreo. Selección de 15 plantas distribuidas en las 2 válvulas de riego.



b

Especificaciones:

- Sistema de producción convencional
- Extensión: 5,000 m²
- Orientación: Norte-Sur
- Tipo de ventilación: Pasiva con ventanas frontales de cierre automático
- Cubierta: Doble capa de plástico



Válvulas de riego. Sistema de 3 válvulas



Plantas de muestreo. Selección de 15 plantas distribuidas en las 3 válvulas de riego.

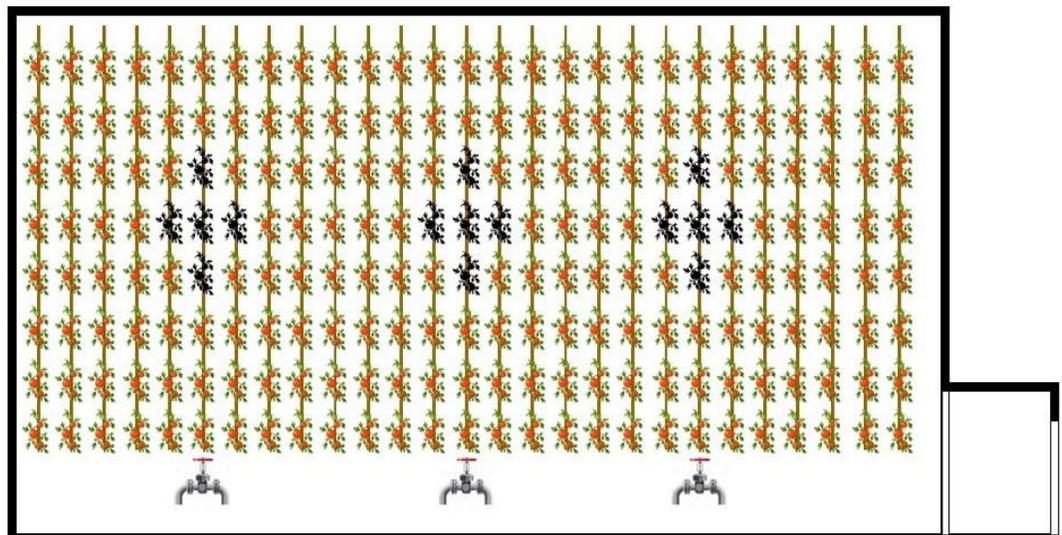


Fig. 4. Especificaciones de los invernaderos orgánico (a), convencional (b) y selección de plantas para el muestreo.

5.1.1. Sistema de fertilización y riego en los cultivos convencional y orgánico.

El suministro de nutrientes se realizó a través de un sistema de riego por goteo. En el que la solución contenía disueltos las sales de los nutrientes inorgánicos requeridas para el cultivo convencional y los nutrientes requeridos y autorizados para el cultivo orgánico (Tabla 5). Estas soluciones fueron aplicadas de acuerdo con los requerimientos de nutrientes y agua para el desarrollo de la planta y para evitar el estrés hídrico que pudiera presentarse durante los ciclos diarios de temperatura.

Tabla 5. Composición nutrimental de la solución nutritiva utilizada en el sistema de riego en los invernaderos de cultivo convencional y orgánico..

Convencional		Orgánico	
Fertilizante	Concentración g L ⁻¹	Fertilizante	Concentración g L ⁻¹
Ca (NO-3) ₂	123	CaCl ₂	10
CaCl ₂	9	K ₂ SO ₄	33
Ca (EDTA)	2	Elementos	mL L⁻¹
KNO-3	26	Cobre (Cu)	0.22
KCl	5	(Hierro) Fe	8.5
K ₂ SO ₄	33	Magnesio (Mn)	1.7
MgSO ₄	48	Zinc (Zn)	0.9
KH ₂ PO ₄	21	Boro (B)	3
Quelsel Mix	3.5	Molibdeno (Mo)	0.44
Newquel Zn 14%	0.405	Tierra fértil 5-7-1 (NPK)	50
Newquel Mn 13%	0.14		
Quelsel Fe 6%	1		

De manera complementaria a estas soluciones, se aplicaron durante el ciclo de cultivo formulaciones comerciales descritos en la Tabla 6. Dicha aplicación fue de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Tabla 6. Lista de productos complementarios de apoyo a la nutrición de plantas de tomate de los diferentes sistemas de cultivo orgánico y convencional

Aplicaciones	Semana 4		Semana 8		Semana 22		Semana 41	
	Org	Conv	Org	Conv	Org	Conv	Org	Conv
Bio Pak F ®								
Microsoil ®								
Amifol K ®								
Cabrio C ®								
Agroclean ®								
Virkon ®								
Rally®								
Key plex ®								
Serenade soil ®								
Previcur ®								
Delfan foliar ®								
Trianium ®								
Bactiva ®								
Ácido peracético ®								
Mil Stop ®								
Umbral ®								
Kumulus ®								

5.1.2 Registro de parámetros de crecimiento de la planta y rendimiento del cultivo.

La variedad ‘Merlice es una planta de tomate con crecimiento indeterminado, por ello los registros de crecimiento se llevarán a cabo de la siguiente forma:

En cada periodo de muestreo (semanas 4, 8, 22 y 41) y para cada una de las 15 plantas de cada invernadero, se registraron parámetros como; diámetro del tallo (mm), área foliar (cm²), altura de la planta (cm), número de hojas y número de frutos de tomate. En cuanto al rendimiento de la planta, estos datos fueron proporcionados por el invernadero.

5.1.3. Toma de Muestras para registro de parámetros poscosecha del fruto.

Se colectaron racimos de tomate (convencionales y orgánicos) en la etapa de madurez 3 (*Turning*) de acuerdo con la carta de color de estados de madurez de tomate señalados en THE VISUAL AIDS de la USDA (USDA, 2023).

Los frutos cosechados se depositaron en cajas de cartón (50 x 38 x 10 cm) y fueron llevados al Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas, donde se seleccionaron 30 frutos, los cuales se marcaron y pesaron para ser almacenados durante 20 días a 12 °C (HR 90%). Después de 0, 5, 10, 15 y 20 días de almacenamiento, se tomaron muestras de 5 frutos de cada sistema, para su registro de peso, color, firmeza, acidez titulable y sólidos solubles.

5.2. Métodos

5.2.1. Composición de la solución nutritiva del agua de riego en sistemas hidropónicos orgánico y convencional.

Se tomaron muestras del agua del sistema de riego en los puntos de entrada de cada planta y la salida de cada sistema de producción durante cada semana de evaluación (4,8,22,41), Se analizaron cationes, aniones y microelementos. Para la evaluación de cationes: Nitratos (NO_3^-), fueron determinados mediante espectrofotometría (Cataldo et al., 1975); fósforo de fosfatos y fosfato diácido (H_2PO_4^-) determinados mediante el método Peech- Morgan (Lunt et al., 1951); sulfatos (SO_4^-) por el método turbidimétrico (Rodríguez et al., 2010); bicarbonatos (HCO_3^-) determinados mediante titulación (Pauss et al., 1990) y cloruros (Cl^-) mediante el método de Mohr (Belcher et al., 1957). Así mismo los aniones: sodio (Na^+), potasio (K^+), calcio (Ca^{+2}) y magnesio (Mg^{+2}) se determinaron por solubilidad (Ranke et al., 2009) y amonio (NH_4^+) se determinó por el método EDTA/fenol (Jeong et al., 2013). Para la evaluación de los microelementos: Hierro (Fe^{+2}), Zinc (Zn^+), Cobre (Cu^{+2}) y Manganeso (Mn^{+4}) se determinaron mediante espectrometría de absorción atómica (Heghedus-Mindru et al., 2014) y el contenido de Boro (B^{+3})

mediante azometina- H (Endo et al., 2013). Todos los resultados de las soluciones nutritivas fueron expresados en mMol L⁻¹.

5.2.2. Metabolitos nitrogenados inorgánicos en sustrato y raíz.

5.2.2.1. Contenido de nitrato (NO₃⁻).

El contenido de nitratos en sustratos y raíz se cuantificó espectrofotométricamente como lo describieron Cataldo et al., (1975); y Yu et al., (2016). Este método se basa en la formación de un cromóforo por la nitración del ácido salicílico en un medio altamente ácido que es leído a 410 nm a pH 12. Tres réplicas de 1 g de sustrato fresco, de ambos sistemas de cultivo, se trituraron en un mortero con nitrógeno líquido; el triturado se mezcló en un tubo Falcon (50 mL) con 6 mL de amortiguador de fosfato-KOH a pH 8.2 (NaH₂PO₄ 0.01M, EDTA 0.01M, cisteína 0.005M). La mezcla se homogenizó empleando un ULTRA TURRAX (IKA®, Modelo T 25, Alemania) a 10 000 rpm durante 1 min. Las muestras homogenizadas se centrifugaron a 30,000 g durante 15 min. 50 µL, del sobrenadante se mezclaron con 200 µL de ácido salicílico al 5% (p/v) y 750 µL de H₂SO₄ concentrado; la mezcla se incubó 30 min a temperatura ambiente. Después, se añadieron 9500 µL de NaOH 2M, se incubó 30 min a temperatura ambiente para formar el cromóforo correspondiente. Los cromóforos formados se cuantificaron por absorbancia empleando un espectrofotómetro LAMBDA 365 UV/Vis (PerkinElmer) a una longitud de onda de 410 nm.

Para el cálculo de la concentración de NO₃⁻ en la muestra, se construyó una curva de calibración de KNO₃ a partir de una solución stock de 10 mg mL⁻¹. Se calculó el volumen correspondiente para preparar 10 mL de solución de las siguientes concentraciones: 5, 100, 200, 300, 500 µg NO₃⁻ mL⁻¹. 50 µL de estas soluciones fueron tratadas como se describió en el párrafo anterior, se leyó su absorbancia a 410 nm. Con la concentración de NO₃⁻ de cada tubo y la absorbancia, se construyó la curva de calibración la cual fue ajustada mediante una regresión lineal. La absorbancia de cada muestra fue interpolada a su correspondiente concentración a

través de la ecuación de la recta de la curva de calibración. Los resultados fueron expresados como mg de $\text{NO}_3^- \text{g}^{-1}$ PF.

El contenido de NO_3^- en raíz se determinó siguiendo la misma metodología descrita en los párrafos anteriores utilizando 125 mg de raíz.

5.2.2.2. Cuantificación del contenido de amonio (NH_4^+).

Se siguió la metodología descrita por Xiong et al., (2018) y Bräutigam et al., (2007). La cual se basa en que el NH_4^+ forma mono cloramina al reaccionar con hipoclorito de sodio en condiciones alcalinas. Dicha mono cloramina reacciona con fenol y nitroprosiato, como catalizador, formando así un derivado indofenol, de color azul que absorbe a 625 nm. Tres réplicas de 1 g de sustrato fresco, de ambos sistemas de cultivo, se trituraron en un mortero con nitrógeno líquido; el triturado se mezcló en un tubo Falcon (50 mL) con 8 mL de agua destilada y se homogenizó en un ULTRA TURRAX (IKA®, Modelo T 25, Alemania) a 10 000 rpm por 1 min. Las muestras homogeneizadas se centrifugaron a 12,000 g durante 10 min a 4 °C. 3 mL de sobrenadante se mezclaron con 500 μL de solución de hipoclorito de sodio 1% (v/v) y 500 μL de fenol al 1% (p/v) en presencia de nitro prusiato de sodio 0.01% (p/v); y NaOH 0.5% (p/v); seguido de una incubación a 37 °C durante 30 min. Después se añadieron 5900 μL de agua destilada seguidos de 100 μL de solución de tartrato de potasio y sodio 8%, EDTA 2% y NaOH 0.7%.

La cloramina formada se cuantificó por absorbancia empleando un espectrofotómetro LAMBDA 365 UV/Vis (PerkinElmer ®) a una longitud de onda de 625 nm.

La cuantificación de NH_4^+ en las muestras se obtuvo mediante una curva de calibración construida a partir de una solución stock de 10 mg $\text{NH}_4\text{Cl mL}^{-1}$. Se calculó el volumen correspondiente para preparar 10 mL de solución de las siguientes concentraciones: 1, 2, 4, 6, 8 y 10 $\mu\text{g NH}_4\text{Cl mL}^{-1}$. 3mL de estas soluciones fueron tratadas como se describió en el párrafo anterior y sus absorbancias leídas a 620 nm fueron registradas para después construir la curva de

calibración de concentración de NH_4^+ y absorbancia. Las absorbancias de las muestras fueron interpoladas a su correspondiente concentración de NH_4^+ a través de la ecuación de la recta de la curva de calibración. Los resultados fueron expresados como mg de NH_4^+ g^{-1} PF.

Para el contenido de NH_4^+ en raíz se siguió la misma metodología establecida para el sustrato utilizando 125 mg.

5.2.2.3. Contenido de nitritos (NO_2^-).

El contenido de este metabolito se cuantificó espectrofotométricamente siguiendo, los procedimientos descritos por diferentes autores Hageman & Hucklesby, (1971); Kim & Seo, (2018); Ren et al.,(2017). Donde el NO_2^- del medio de reacción y mediante el ensayo de Griess se forma un cromóforo por la reacción del NO_2^- en condiciones ácidas con ácido sulfanílico y posterior acoplamiento con 1-naftilamina formándose un complejo colorido que absorbe a 540 nm. Se pesaron por triplicado 0.5 g de sustrato, de ambos sistemas; se trituraron en un mortero con nitrógeno líquido y en un tubo Falcon (50 mL) se mezclaron con 20.0 mL de solución amortiguadora de fosfato-KOH a pH 7.4 (NaH_2PO_4 25mM, EDTA 0.001M, cisteína 0.005M). Estas mezclas se homogenizaron en un ULTRA TURRAX (IKA®, Modelo T 25, Alemania) a 10 000 rpm por 1 min. Las muestras se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 min a 4 °C. 400 μL de sobrenadante, se mezclaron con 1200 μL de solución amortiguadora de fosfato (NaH_2PO_4 0.01M), a pH 7.5 seguido de una incubación a 30 °C durante 30 min. Después de la incubación, se añadieron 1000 μL de ácido sulfanílico al 1% (p/v) en ácido clorhídrico 3M y 1000 μL de 1-naftilamina 0.2% (p/v) en alcohol etílico anhidro absoluto, seguido de una incubación a temperatura ambiente durante 20 min. Los cromóforos formados se cuantificaron por absorbancia a una longitud de onda de 540 nm empleando un espectrofotómetro (LAMBDA 365 UV/Vis, PerkinElmer ®).

El contenido de NO_2^- en la muestra se obtuvo a partir de una curva de calibración construida a partir de una solución stock de KNO_2 0.01M. Con esta se prepararon

una serie de tubos para preparar 10 mL de solución con las siguientes concentraciones: 1, 50, 100, 150 y 200 μM KNO_2 . 400 μL de cada solución se mezclaron con 1200 μL de solución amortiguadora de fosfato a pH 7.5, se incubaron 30 min a 30 °C; se añadieron 1000 μL de ácido sulfanílico al 1% (p/v) en ácido clorhídrico 3M y 1000 μL de 1-naftilamina 0.2% (p/v) en alcohol etílico anhidro, seguido de una incubación por 20 min a temperatura ambiente. Los cromóforos formados se cuantificaron por espectrofotometría a 540 nm en un espectrofotómetro (LAMBDA 365 UV/Vis, Los datos de absorbancia y concentración de nitritos fueron graficados y la ecuación de la regresión lineal fue utilizada para calcular las concentraciones de NO_2^- en las muestras. Los resultados fueron expresados como mg de $\text{NO}_2^- \text{g}^{-1}$ PF.

5.2.3. Determinación de las actividades enzimáticas asociada al metabolismo del nitrógeno en plantas de tomate.

5.2.3.1. Actividad de Nitrato reductasa (NR) en sustrato y raíz.

Se determinó siguiendo la metodología descrita por (Schinner et al., 1996). La metodología se basa en la liberación de NO_2^- en la muestra usando KNO_3 como sustrato. Dado que en la muestra el NO_2^- es rápidamente transformado a amonio por la acción de la nitrito reductasa (NiR) fue necesario inhibir esta enzima mediante la adición de una solución 2,4-dinitrofenol y así el NO_2^- liberado por la NR fue extraído con solución de KCl.

Preparación del extracto enzimático. Se pesaron por triplicado 5 g de sustrato, de ambos sistemas, se trituraron y homogenizaron en un tubo Falcon (50ml) con 4.0 mL de solución 2,4-dinitrofenol 0.09 mM, 1.0 mL de KNO_3 25.0 mM y 5.0 mL de agua destilada. La mezcla de extracción se incubó en agitación constante en un agitador orbital (FE-315, Felisa) a 25 °C durante 24 hrs. Después de la incubación, se añadieron 10 mL de KCl 4 M, se filtraron con papel filtro Whatman #1. El filtrado (extracto enzimático crudo) se conservó a 4 °C hasta su análisis (dentro de 24 hrs).

Determinación de actividad NR. El NO_2^- liberado en la muestra posterior a la incubación, se midió siguiendo la metodología descrita en el apartado 5.2.2.3.

Como muestras control se utilizaron muestras independientes por triplicado de 5 g de sustrato para obtener el extracto enzimático, pero estas se incubaron a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ por 24 hrs. Posterior a la incubación las muestras fueron tratadas como lo descrito anteriormente.

Para la cuantificación de la actividad de NR, se construyó una curva de calibración a partir de una solución stock de $1000\text{ }\mu\text{g}$ de NaNO_2 . Se calculó el volumen correspondiente para preparar 10 mL de solución de las siguientes concentraciones: 0, 0.2, 0.4, 0.8, 1 y $1.4\text{ }\mu\text{g NaNO}_2\text{ mL}^{-1}$ $400\text{ }\mu\text{L}$ de estas soluciones fueron tratadas conforme al apartado 5.2.1.3. Las absorbancias de las muestras fueron interpoladas a su correspondiente concentración a través de la ecuación de la recta de la curva de calibración.

La actividad enzimática se expresó como la diferencia entre las absorbancias obtenidas en las muestras control y en las muestras incubadas a $25\text{ }^\circ\text{C}$. Los resultados fueron expresados como $\text{mg de NO}_2^- \text{ g}^{-1}$ de proteína hr^{-1} .

La actividad de NR en raíz se determinó siguiendo la metodología de Hageman & Hucklesby, (1971); Kim & Seo, (2018). El NO_2^- liberado por la enzima es llevado a la formación de un cromóforo con ácido sulfanílico y 1-naftilamina cuya absorbancia se registra a 540nm con la cual se registra en contenido de NO_2^- .

Muestras por triplicado de 200 mg de raíz de ambos sistemas, se trituraron en un mortero con nitrógeno líquido y en un tubo Falcon 50 mL se mezclaron con 8 mL de solución amortiguadora de fosfatos (NaH_2PO_4 25mM , EDTA 1.0mM y cisteína 5.0mM). a $\text{pH } 7.4$. Se homogenizaron en ULTRA TURRAX (IKA®, Modelo T 25, Alemania) a $10\text{ }000\text{ rpm}$ por 1 min . Los homogeneizados se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 min a 4°C . $400\text{ }\mu\text{L}$ de sobrenadante, se mezclaron con la mezcla de reacción (KNO_3 0.1M , $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 0.1M y $400\text{ }\mu\text{L}$ de una solución de NADH 2mg mL^{-1} a $\text{pH } 7.5$. La mezcla se incubó a $30\text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 min . Después de la incubación, se añadieron $1000\text{ }\mu\text{L}$ de ácido sulfanílico 1% (p/v) en ácido clorhídrico

3 M y 1000 μ L de 1-naftilamina 0.2% (p/v) en alcohol etílico anhidro absoluto, seguido de una incubación a temperatura ambiente durante 20 min. Los cromóforos formados se cuantificaron por absorbancia a una longitud de onda de 540 nm usando un espectrofotómetro (LAMBDA 365 UV/Vis a (PerkinElmer ®)).

La cuantificación del NO_2^- formado por la actividad de NR se midió utilizando la curva de calibración de nitritos descrita en la sección 5.2.2. 3.

Los resultados fueron expresados como actividad específica y se expresaron como $\text{mg NO}_2^- \text{g}^{-1} \text{proteína hr}^{-1}$.

5.2.3.2. Determinación de la actividad de Glutamina sintetasa (GS) en sustrato y raíz.

La actividad de GS se determinó siguiendo la metodología de Iqbal et al., (2020); y Wang et al., (2014). La cual se basa en la formación de γ -glutamihidroxamato en presencia de glutamato, hidroxilamina, magnesio y ATP. El γ glutamihidroxamato al reaccionar con cloruro férrico permite el desarrollo de un color azul que se cuantifica en un espectrofotómetro.

Preparación de extracto enzimático. Muestras por triplicado de 0.5 g de sustrato, de ambos sistemas, se trituraron en un mortero con nitrógeno líquido. El triturado se transfirió a un tubo Falcon (50mL) se mezcló con 20 mL de solución amortiguadora de fosfato- (NaH_2PO_4 25 mM, EDTA 0.001M, cisteína 0.005M) a pH 7.4 La mezcla se homogenizó en un ULTRA TURRAX (IKA®, Modelo T 25, Alemania) a 10 000 rpm por 1 min. Las muestras homogenizadas se centrifugaron a 8000 rpm por 10 min a 4 °C.

Actividad de GS. 700 μ L del extracto enzimático se mezclaron con 1600 μ L de solución amortiguadora de reacción (Tris 0.1M, MgSO_4 80mM, glutamato de sodio 20mM, cisteína 20mM, EDTA 2mM, clorhídrido de hidroxilamina 80mM) a pH 7.4. Adicionalmente, se añadieron 700 μ L de solución de ATP 40mM, se incubó 15 min a 25 °C. Se adicionaron 1000 μ L de reactivo cromogénico (ácido tricloroacético

0.2M, cloruro férrico (III) 0.37M y HCl 0.6M). Las mezclas se incubaron 15 min a 25 °C; seguido de una centrifugación a 5000 rpm por 10 min. El sobrenadante resultante se analizó usando un espectrofotómetro (LAMBDA 365 UV/Vis a (PerkinElmer ®)) a una longitud de onda de 540 nm.

La actividad específica de GS se calculó como unidades de actividad UGS definida como el cambio en la absorbancia en una magnitud de 0.001 unidades de absorbancia por minuto.

Los resultados se expresaron como UGS mg^{-1} proteína min^{-1} .

Para la determinación de la actividad de GS en raíz se siguió la misma metodología descrita para sustrato, utilizando 200 mg de raíz y 8 mL de solución amortiguadora de fosfato.

5.2.3.3. Determinación de actividad de Proteasa (PRT) en sustrato.

La actividad de proteasa se determinó según lo descrito por Kandeler (1996). utilizando caseína como sustrato. Las proteasas de la muestra hidrolizan el sustrato después de 2 h de incubación a 50 °C. Los aminoácidos liberados se extraen y el sustrato remanente se precipita con ácido tricloroacético. Los aminoácidos aromáticos como la tirosina (Tyr) reaccionan con el reactivo de Folin Ciocalteu en medio alcalino formándose un complejo azul cuya absorbancia se determina en un espectrofotómetro a 700 nm.

Digestión proteolítica de caseína por las muestras. Tres réplicas de 1.5 g de sustrato de cada sistema, se trituraron en un mortero con nitrógeno líquido y en un tubo Falcon (50 mL) se mezclaron con 7.5 mL de solución amortiguadora Tris 0.05M pH 8.1 y 7.5 mL de caseína 2%. La mezcla se homogenizó en un ULTRA TURRAX (IKA®, Modelo T 25, Alemania) a 10 000 rpm por 1 min. Las muestras homogenizadas se incubaron a 50 °C por 2h. Posterior a la incubación, se agregaron 5 mL de ácido tricloroacético 0.92M. Las muestras fueron filtradas con filtro Whatman # 1. El filtrado se conservó a 4 °C hasta su análisis (no más de 4h).

Cuantificación de la actividad de proteasas PRT. Se mezcló 1 mL del filtrado de la digestión de la caseína con 1.5 mL de reactivo alcalino (Na_2CO_3 5% (p/v), NaOH 0.1M, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.5% (p/v), $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1% (p/v)) y 1.0 mL de reactivo fenol Folin- Ciocalteu. Se incubaron a temperatura ambiente durante 90 min. La tirosina liberada en la mezcla de reacción se cuantificó por absorbancia a una longitud de onda de 700 nm, usando un espectrofotómetro (LAMBDA 365 UV/Vis a (PerkinElmer ®)).

Como control se utilizaron muestras independientes por triplicado de 1.5 g de sustrato bajo el mismo procedimiento descrito anteriormente, sin la adición de de caseína.

La actividad de proteasa se expresó como equivalentes de tirosina generados por gramo de muestra y unidad de tiempo (h) de incubación utilizando una curva estándar de diferentes concentraciones de tirosina y la siguiente expresión:

$$PRT = \frac{Tm - Tc}{Ms t}$$

Donde Tm fueron los equivalentes de tirosina en la muestra y Tc, los equivalentes de tirosina en el control, Ms es el peso de la muestra y t es el tiempo de incubación.

Los equivalentes de tirosina fueron calculados mediante la construcción de una curva de calibración, a partir de una solución stock de $400 \mu\text{g Tyr mL}^{-1}$. A partir de esta solución madre, se calculó el volumen necesario para preparar 10 mL de diferentes soluciones con las siguientes concentraciones: 10, 20, 30, 40, 50, 60 $\mu\text{g Tirosina mL}^{-1}$. 1 mL de estas soluciones fueron tratados como se describió anteriormente y medidas sus absorbancias a 700 nm. Con estos datos se construyó la curva de calibración y los datos fueron ajustados por una regresión lineal de una recta con intersección en el origen.

Los datos de absorbancias de las muestras y controles fueron interpoladas a su correspondiente concentración a través de la ecuación de la recta de la curva de

calibración. Los resultados de actividad de PRT se expresaron como mg tyr g^{-1} proteína hr^{-1} .

5.2.3.4. Actividad de Nitrito reductasa (NiR) en sustrato y raíz.

Se determinó siguiendo la metodología de (Lu et al., 2022; Silveira et al., 2001). Se basa en la cuantificación de NO_2^- liberado en la mezcla de reacción, determinando la actividad como la diferencia de concentración de NO_2^- antes y después de una incubación a $30\text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 hrs.

Extracto enzimático. Se pesaron por triplicado 1 g de sustrato, se trituraron en un mortero con nitrógeno líquido y en un tubo Falcon (50 mL), se mezclaron con 30 mg de CaCO_3 , 3 mL solución NaNO_2 0.03M, 3 mL solución glucosa 0.028M y 3 mL de agua destilada. Esta mezcla fue homogenizada en un ULTRA TURRAX ((IKA®, Modelo T 25, Alemania) a 10,000 rpm por 1 min. En este punto se realizó la determinación de la concentración inicial de NO_2^- de acuerdo con el apartado 5.2.1.3. Posterior a la determinación inicial el homogenizado se incubó en agitación constante usando un agitador orbital (FE-315 Felisa) durante 24 hrs a $30\text{ }^\circ\text{C}$. Después de la incubación se añadieron 3.2 mL de solución KCl 4M, se filtró mediante filtro Whatman #1 (125mm). El filtrado se centrifugó a 8000 rpm por 10 min a $4\text{ }^\circ\text{C}$. El sobrenadante se recuperó y se conservó a $4\text{ }^\circ\text{C}$.

Actividad de NIR. 400 μL del sobrenadante fueron utilizados para la determinación del NO_2^- generado siguiendo la metodología descrita en el apartado 5.2.1.3.

Para la cuantificación de NO_2^- liberado en las muestras se construyó una curva de calibración a partir de una solución stock NaNO_2 0.01 M. Se calculó el volumen correspondiente para preparar 10 mL de solución de las siguientes concentraciones: 1, 45, 90, 135 y 180 $\mu\text{M NaNO}_2\text{ mL}^{-1}$ 400 μL de estas soluciones fueron tratados como se describió anteriormente. Las absorbancias de las muestras fueron interpoladas a su correspondiente concentración a través de la ecuación de la recta de la curva de calibración. La actividad de NIR fue calculada restando la actividad

inicial a la actividad final presentada en las muestras. Los resultados fueron expresados como $\text{mg de NO}_2 \text{ g}^{-1}$ de proteína hr^{-1} .

Para la actividad de NiR en raíz, la actividad fue estimada, esto debido a la disponibilidad de las muestras. De tal forma que la estimación se realizó basada en el producto de esta enzima (NH_4^+) y el sustrato (NO_2^-). Los resultados fueron expresados como $\text{mg NH}_4^+ / \text{mg NO}_2^-$.

5.2.4. Determinación del contenido de proteína total en sustrato y raíz.

Se determinó de acuerdo con lo descrito por (Bradford, 1976) y se siguieron las instrucciones del fabricante del reactivo de Bradford de SigmaAldrich (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

Se pesaron por triplicado 0.5 g de sustrato, de ambos sistemas; se trituraron en un mortero con nitrógeno líquido y en un tubo Falcon (50 mL) se mezclaron con 20.0 mL de solución amortiguadora de fosfato-KOH a pH 7.4 (NaH_2PO_4 25mM, EDTA 0.001M, cisteína 0.005M). Estas mezclas se homogenizaron en un ULTRA TURRAX (IKA®, Modelo T 25, Alemania) a 10 000 rpm por 1 min. Las muestras se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 min a 4°C. Se recuperó el sobrenadante y se conservó a 4 °C.

Determinación de proteína. 120 μL del sobrenadante, se mezcló con 130 μL del reactivo de Bradford. La mezcla se homogenizó por 30 segundos y se incubó a temperatura ambiente por 30 minutos.

La proteína en las muestras se determinó por la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm utilizando un lector de microplacas (iMark™. Bio-rad Laboratories Inc., Germany).

Para la cuantificación de proteína se construyó una curva de calibración a partir de una solución stock de albumina bovina de 10 mg mL^{-1} . Se calculó el volumen correspondiente para preparar 10 mL de solución de las siguientes concentraciones:

1, 10, 20, 30, 40, 50, 60 µg albumina bovina mL⁻¹. Las absorbancias de las muestras fueron interpoladas a su correspondiente concentración a través de la ecuación de la recta de la curva de calibración. Los resultados fueron expresados como mg de albúmina bovina g⁻¹ PF.

5.2.5. Determinación de Nitrógeno total (NT) en sustrato.

Para la determinación de nitrógeno total en sustrato se siguió la metodología, con modificaciones, de (FAO, 2021). Se empleó un sistema Micro-Kjeldahl equipado con un microdigestor MDK-6 (Novatech) y un destilador rápido (Novatech).

Se pesaron por triplicado 0.1 g de sustrato previamente secado a 105 °C durante 72 hr (Rawangkul et al., 2010). Para la digestión de la muestra se utilizaron 3 mL de H₂SO₄ concentrado y para la digestión se adicionaron 10 mL de agua destilada al matraz de la digestión y en el destilador se agregaron 10 ml de NaOH 50%. El sulfato de amonio generado en la digestión fue recolectado usando ácido bórico 2% con indicador Shiro Tashiro. Para la titulación se utilizó HCl 0.02N. El contenido de nitrógeno (N) se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$N = \frac{(V1 - V0) \times c(H+) \times MN}{m} (g MS)$$

Donde:

V1 es el volumen en mililitros de HCl usados en la titulación de la muestra.

V0 es el volumen en mililitros de HCl usados en la titulación del control.

c(H+) es la concentración de H+ en la solución de HCl (0.02M).

MN es la masa molar del N (14.0067).

m es el peso de la muestra en gramos.

g MS son los gramos de materia seca.

Los resultados fueron expresados como mg N g⁻¹ PF.

5.2.6. Rasgos morfológicos de la planta y vida de anaquel del fruto de tomate hidropónico convencional y orgánico.

5.2.6.1. Análisis de rasgos fisiológicos de la planta de tomate.

Para estimar el efecto de la metabolización del nitrógeno sobre los rasgos fisiológicos de la planta en ambos de sistemas de cultivo, se evaluaron el largo de la planta, área foliar, diámetro del tallo, número de hojas, número de frutos y el rendimiento final del cultivo.

5.2.6.1.1. Largo de la planta.

El largo de la planta se realizó con el uso de una cinta métrica. La medición se realizó desde la base del tallo, hasta la punta apical del mismo. Los resultados fueron expresados en cm.

5.2.6.1.2. Área foliar.

El área superficial total de la hoja se midió contemplando la suma del área superficial de los folíolos que componen la hoja compuesta en su totalidad. Para cada muestreo (semana 4, 8, 22 y 41) de ambos sistemas de producción, se recolectó la sexta hoja de la planta, considerando como la primera hoja a la más cercana a la punta apical del tallo. Posteriormente fueron almacenadas para evitar deshidratación y transportadas al laboratorio para su análisis. Posteriormente, se separó cada uno de los folíolos del raquis desde la base del peciolo. Una vez separados, los folíolos y el raquis fueron puestos sobre un fondo blanco y se tomaron imágenes de la superficie adaxial con una cámara digital. Las imágenes fueron almacenadas en formato jpg y posteriormente fueron analizadas para la determinación del área de cada uno de los folíolos y el raquis con el software ImageJ 1.45 usando una escala de 2 cm para la calibración de este (para más información, consultar guía de usuario: <https://imagej.net/ij/docs/user-guide-USbooklet.pdf>). Se consideró como área total la suma del área de cada uno de los folíolos y del raquis de la hoja compuesta.

5.2.6.1.3. Diámetro del tallo.

La determinación del diámetro de tallo se realizó en la sección del nudo de la séptima hoja de la planta, considerando como la primera hoja a la más cercana a la punta apical del tallo. La medición se realizó con ayuda de un vernier digital y los resultados fueron expresados en mm.

5.2.6.1.4. Número de hojas y número de frutos.

La determinación del número de hojas se llevó a cabo de acuerdo con las prácticas de los invernaderos. En los cuales se contabilizan únicamente las hojas que presentan un completo desarrollo, el cual es acompañado por la completa formación de un anillo basal en el área del nudo que conecta el peciolo con el tallo.

Respecto al conteo de número de frutos, se contabilizaron aquellos que presentaron un completo amarre en el racimo.

5.2.6.2. Parámetros de vida de anaquel del fruto de tomate.

La comparación de vida de anaquel de los frutos de tomate procedentes de cultivos orgánico y convencional se realizó a través del registro de la pérdida fisiológica de peso, firmeza, color, cuantificación de sólidos solubles totales, acidez.

5.2.6.2.1. Firmeza y % de pérdida de peso.

Siguiendo la metodología establecida por (Rendón-Ducoing, 2022), se seleccionaron 5 tomates de cada sistema de producción, a los cuales se les determinó la firmeza mediante una prueba de compresión empleando un texturómetro (BROOKFIELD[®], Modelo CT3 25K, Estados Unidos de América) equipado con una celda de carga de 25 kg fuerza. Se utilizó una sonda cilíndrica de acrílico de 50.8 mm de diámetro, a una velocidad de 1 mm s⁻¹ y 10% de deformación en el diámetro del fruto. La firmeza se expresó como la fuerza necesaria para causar una compresión del 10% en el diámetro del fruto y los resultados se expresaron en Newtons (N).

5.2.6.2.2. Color.

El parámetro de color, se determinó siguiendo la metodología establecida por (López Camelo & Gómez, 2004a). Empleando un espectrofotómetro de reflectancia Minolta (Minolta Osaka-Light source D65 CM-600D), utilizando un iluminante D65 y un observador a 2 °. Las coordenadas de color CIELab se registraron en tres puntos de la zona ecuatorial del fruto. Con los valores obtenidos de L*, a* y b* se calculó el cambio de color ΔE utilizando la siguiente expresión:

$$\Delta E = \sqrt{(L_2 - L_1)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2}$$

Donde:

ΔE es la diferencia de color del fruto respecto del día cero.

L, es la luminosidad durante los diferentes muestreos (L2) o el día de comparación (L1)

a* denota coloraciones que van de verdes a rojos.

b* denota coloraciones que van de amarillos a azules.

5.2.6.2.3. Sólidos solubles y acidez

Se pesaron, por triplicado, 3 g de tomate, se añadieron 30 mL de agua destilada y se homogenizaron en un ULTRA TURRAX (IKA®, Modelo T 25, Alemania) a 10 000 rpm por 1 minuto; posteriormente se centrifugó a 10 000 rpm durante 1 min. Se tomaron 10 ml del extracto y se tituló hasta obtener un pH de 8.2 utilizando una solución de NaOH 0.01 N. Siguiendo la siguiente fórmula se calculó el porcentaje de acidez.

$$\% \text{ acidez titulable} = \frac{V * N * meq}{V \text{ muestra}}$$

Donde:

V es el volumen gastado de solución de NaOH.

N es la normalidad de la solución de NaOH (0.01N).

V muestra es el volumen de muestra y meq son los miliequivalentes de ácido cítrico (0.064).

La determinación de sólidos solubles totales se evaluó siguiendo la metodología de (Rendón-Ducoing, 2022). Del extracto descrito anteriormente, se depositó una gota sobre un refractómetro electrónico (HANNA INSTRUMENTS®, Modelo HI96801, Rumania). Y los resultados fueron expresados en porcentaje de sólidos solubles totales o grados Brix.

5.2.7. Análisis estadístico.

Los resultados fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar los efectos del nitrógeno sobre los sistemas de cultivo (convencional y orgánico). Así mismo, se realizó una comparación de medias utilizando la prueba de Tukey <0.05 utilizando el programa JMP 8.0 (2008 SAS Institut Inc.)

6. Resultados y discusión.

6.1. Composición mineral de las soluciones nutritivas del cultivo hidropónico de tomate orgánico y convencional.

Desde el punto de vista de composición, las soluciones utilizadas en ambos sistemas estuvieron formadas por los mismos aniones, cationes y microelementos. No obstante, el contenido de estos nutrientes fue diferente en cada sistema de producción. La suma de aniones, cationes y microelementos de la solución nutritiva suministrada al sistema orgánico durante las cuatro semanas evaluadas fue mayor en comparación con la aplicada en el sistema convencional. Siendo notablemente mayor en la semana 41. Estos análisis parecen dar evidencia que en el sistema orgánico hubo posiblemente un exceso de nutrientes en comparación con el sistema convencional.

De manera particular y para los fines de este proyecto, el anión de mayor importancia fue el nitrato (NO_3^-) y este fue suministrado en una mayor proporción en el sistema orgánico (~2 ppm en las semanas 2 y 8 y hasta 5 ppm en la semana 41); no obstante, en la semana 22 el contenido fue menor en el sistema orgánico (1.3 ppm). Estas diferencias en la nutrición pueden tener diferencias importantes en la fisiología de la planta como se señalará en posteriores apartados.

También otros aniones como PO_4 , SO_4 y Cl^- también mostraron diferencias (Tabla 7), por ejemplo, el Cl^- en el sistema orgánico fue notablemente mayor durante las cuatro semanas de muestreo (~53% mayor). Así mismo los fosfatos y bicarbonatos fueron mayores en el sistema orgánico. También un mayor contenido de sulfatos se observó en la solución de riego orgánico, a excepción de la semana 22 que el contenido fue menor.

De igual forma, los cationes sodio (Na^+), potasio (K^+), calcio (Ca^{+2}) y amonio (NH_4^+) mostraron diferencias de concentración en las dos soluciones nutritivas.

Tabla 7. Análisis de soluciones nutritivas. Entrada= solución suministrada; salida= drenaje de la solución.

Parámetros físicos	Semana 4						Semana 8						Semana 22						Semana 41					
	Orgánico		Convencional		Orgánico		Convencional		Orgánico		Convencional		Orgánico		Convencional		Orgánico		Convencional		Orgánico		Convencional	
	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida	Entrada	Salida
Aniones (-)	mMol*L-1																							
Nitros NO ₃	10.78	4.29	8.7	8.5	12.01	4.6	10.1	10.1	11.55	9.3	12.8	11.1	17.54	17.7	12.3	17.4								
Fosforo de fosfatos	2.51	1.89	2.2	2	3.91	1.24	1.95	1.64	2	1.24	1.82	1.44	3.71	2.87	1.31	3.2								
Fosfato diácido H ₂ PO ₄	2.57	1.86	2.25	2.54	4	1.26	1.99	1.68	2.04	1.26	1.86	1.47	3.79	2.94	1.34	3.27								
Sulfatos SO ₄ ²⁻	5.4	6.9	5	9.5	3.65	11.25	6.8	10.5	5.9	6.8	4.2	7.5	4.2	4.9	3.2	7								
Bicarbonatos HCO ₃ ⁻	3.2	1.6	1.4	1.2	4	1.8	1.2	1.2	4.2	0.6	0.4	1.2	4	0.8	0.8	0.8								
Cloruros Cl ⁻	9.6	6.4	4	7.2	10.6	10.4	4.8	7.4	9.4	5.8	5	7	10.2	5.6	4.6	8.2								
Suma de aniones	36.95	27.94	26.35	37.24	37.91	40.56	31.69	41.38	38.79	30.56	28.46	35.77	43.93	36.84	25.44	43.67								
Cationes (+)																								
Sodio Na ⁺	10.7	7.53	5.05	10.96	10.13	18.75	5.22	10.18	11.22	7.74	5.7	10.31	11.09	7.92	6	11.44								
Potasio K ⁺	7.75	8.16	5.96	8.47	6.85	6.78	8.34	10.05	6.8	7.67	8.24	9.11	9.65	8.47	7.57	10.49								
Calcio Ca ²⁺	5.71	3.72	5.39	6.19	7.74	3.97	6.11	6.41	7.71	5.26	5.02	4.99	8.41	7.54	3.87	7.24								
Magnesio Mg ²⁺	2.14	2.35	1.89	3	1.64	3.46	2.55	4.07	1.81	2.1	2.22	3.09	2.3	2.47	1.69	3.5								
Amonio NH ₄ ⁺	2.8	0.12	0.77	0.16	2.14	0.09	0.76	0.21	2.02	0.06	0.11	0.04	1.91	0.19	0.96	0.1								
Suma de cationes	36.96	27.93	26.34	37.97	37.89	40.46	30.89	41.41	39.09	30.21	28.52	35.61	44.08	36.58	25.65	43.49								
Microelementos																								
Hierro Fe ²⁺	27.94	4.48	44.05	44.95	16.48	5.01	36.89	54.8	20.95	15.04	5.5	53.72	55.34	79.87	43.34	90.08								
Zinc Zn ⁺	8.41	8.41	14.53	20.03	5.35	9.33	16.06	18.2	3.36	4.89	10.4	14.37	12.54	18.96	8.41	15.14								
Cobre Cu ²⁺	2.21	0.79	1.42	1.89	1.58	0.63	1.57	2.05	1.73	1.1	1.26	1.42	1.58	2.36	1.1	1.73								
Manganeso Mn ²⁺	16.38	2.37	16.38	8.01	9.65	0.18	18.2	14.2	7.64	2.37	12.02	4.37	13.29	14.02	9.1	9.83								
Boro B ³⁺	214.61	128.58	119.33	180.39	198.89	219.7	123.03	141.54	139.68	139.69	94.36	116.56	148.01	123.03	83.26	156.34								

De particular interés para este proyecto, el contenido de amonio. Este catión también mostró contenidos mayores en la solución nutritiva del cultivo orgánico (aprox. 1 ppm). Este aspecto puede tener una importancia singular en la fisiología del cultivo por sus posibles efectos tóxicos en el desarrollo de la planta.

La mayor disponibilidad de NO_3^- en la solución nutritiva del sistema orgánico podría facilitar una mayor disponibilidad de NO_3^- en el sustrato de crecimiento. A su vez, una mayor disponibilidad en el sustrato podría facilitar una mayor capacidad de absorción de dicho metabolito en el sistema radicular. Sin embargo, la capacidad de absorción de NO_3^- en el sistema radicular no solo depende de una mayor disponibilidad de dicho metabolito. Se ha demostrado que la concentración de iones Cl^- regula en gran medida la capacidad de absorción de nitratos, esto al competir por la disponibilidad de transportadores de estos, los cuales de igual manera tienen la capacidad de absorber el Cl^- disponible en el medio de crecimiento (M. Wang et al., 2014). Durante dicho mecanismo de transporte, una mayor concentración de Cl^- limita la capacidad de absorción de NO_3^- pero a bajas concentraciones las facilita (Peinado-Torrubia et al., 2023). e incrementa la eficiencia de absorción del nitrógeno (Rosales et al., 2020). También, se ha demostrado que la concentración de Cl^- puede impactar en la asimilación de otros nutrientes como el Ca^{+2} . Un nivel ligeramente mayor de Cl^- también puede promover la absorción de cationes Ca^{+2} por un balance de cargas (Bugbee, 2004).

El contenido de Na^+ fue notablemente mayor en la, solución de riego del sistema orgánico (4-6 ppm) durante las cuatro semanas de muestreo (Tabla 7) comparada con el sistema convencional. El K^+ en cambio durante la semana 4 en el sistema orgánico fue mayor (23.09%), sin embargo, para las semanas 8 y 22 disminuyó su concentración hasta un 12%, volviendo a incrementar en la semana 41, siendo 21% mayor en comparación con el sistema convencional. En cuanto al Ca^{+2} , la menor concentración se evidenció en la semana 4, sin embargo, comparado con el sistema convencional, la concentración fue 5.6% mayor en el orgánico; durante las

posteriores semanas (8, 22 y 41) la concentración fue mayoritaria en el sistema orgánico, siendo la semana 41 donde se evidenció la mayor concentración (53.98%) comparada con el sistema convencional.

El catión NH_4^+ como metabolito clave de este estudio, fue en donde se evidenció un porcentaje elevado en la concentración, siendo 72.5%, 64.48%, 94.55% y 49.73% mayor en las semanas 4, 8, 22 y 41 respectivamente comparado con el sistema convencional. Por otro lado, los cationes: Na^+ , K^+ y Ca^{+2} podrían estar influyendo mayoritariamente en la disponibilidad de compuestos nitrogenados en el sustrato de crecimiento, tal como el NH_4^+ . Ya que se ha demostrado que el Ca^{+2} puede restringir la absorción de NH_4^+ , conduciendo a una reducción en la concentración de N en la planta (Bonomelli et al., 2021) y a su vez, el Ca^{+2} también puede suprimir la absorción de Na^+ , ya que se ha observado que en presencia de exceso de Ca^{+2} las raíces absorben preferentemente K^+ sobre Na^+ y esto impacta directamente en la calidad del fruto (Lee et al., 2017).

Así mismo, se ha demostrado que el NH_4^+ influye en la absorción y la acumulación de K^+ ya que al ser cationes similares en tamaño y carga suelen competir por el transporte a la célula a través de los canales de K^+ o por canales catiónicos no específicos (Hoopen et al., 2010). Además, se ha comprobado que altas concentraciones de NH_4^+ ($0.1 - 0.5 \text{ mMol L}^{-1}$) pueden provocar un efecto de toxicidad en los cultivos (Britto & Kronzucker, 2002; Shilpha et al., 2023). La concentración de dicho metabolito en la solución nutritiva suministrada en los invernaderos de este estudio supera el rango mencionado. Sin embargo, en el sistema convencional la proporción $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ fue mayor que en el sistema orgánico, lo que podría aminorar el efecto de toxicidad, esto debido a que la absorción de NO_3^- en hojas y raíz alcaliniza el pH apoplástico, mientras que el NH_4^+ lo acidifica, por lo tanto, el NO_3^- podría neutralizar la acidificación causada por el exceso de amonio (Hachiya et al., 2012). Caso contrario con el sistema orgánico donde la proporción $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ es menor y el exceso de NH_4^+ supera los 2 mMol L^{-1} .

¹ en las semanas 4, 8, 22 y en la semana 41: 1.91 mMol L⁻¹ (Tabla 7). Como se muestra en las siguientes secciones, la mayor disponibilidad de NO₃⁻ y NH₄⁺, así como de los iones que regulan su absorción evaluados en la solución nutritiva del sistema orgánico, pueden influir de manera significativa en su disponibilidad en el sustrato de crecimiento, así como en la capacidad de absorción en el sistema radicular como se discutirá en las siguientes secciones.

La comparación de las composiciones de los nutrientes en las salidas (drenajes) de los invernaderos, muestra que en el sistema convencional hubo un proceso de concentración; el contenido de aniones totales de estas salidas siempre fue mayor que el contenido registrado en las entradas; mientras que en el sistema orgánico esto solo ocurrió en las semanas 8 y 41 mientras que en las semanas 4 y 22 el contenido de estos iones disminuyó (Tabla 7). Estos datos señalan que las plantas de ambos sistemas de cultivo no aprovechan el total de los nutrientes que le son suministrados en ambos sistemas de producción.

Para tener una idea clara de que está ocurriendo en cada sistema, es necesario calcular los contenidos totales de los aniones suministrados con el sistema de riego a los que habría que restar la sumatoria de los contenidos totales de esos iones en los drenajes más los contenidos de esos mismos aniones en el sustrato con lo cual se podría estimar los aniones que son absorbidos por las plantas. Estas estimaciones podrían compararse y con ello poder estimar lo que absorbe la planta en cada sistema de cultivo.

6.2. Contenido de Nitrógeno total (NT) en sustrato de sistema hidropónico orgánico y convencional.

El análisis de varianza del contenido de nitrógeno total en los sustratos de los sistemas de producción orgánico y convencional a nivel general, en cada semana de muestreo e interacción sistema de producción*semana de muestreo se concentra en la Tabla 8. Tanto el sistema de cultivo, la semana de muestreo y la interacción de estos factores fueron altamente significativas.

Tabla 8. Comparación de medias del contenido del nitrógeno total en sustratos para el cultivo de tomate orgánico y convencional en base fresca.

Factor	Nivel de significancia ($p \leq 0.05$)
Sistema de cultivo	0.0017*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Cont de NT (mg NT g ⁻¹ PF)
Orgánico, Semana 41	2.52 ± 0.029 a
Convencional, Semana 41	2.41 ± 0.030 b
Convencional, Semana 8	1.77 ± 0.036 c
Orgánico, Semana 4	1.40 ± 0.019 d
Orgánico, Semana 8	1.30 ± 0.019 e
Orgánico, Semana 22	1.30 ± 0.025 e
Convencional, Semana 4	1.03 ± 0.037 f
Convencional, Semana 22	1.02 ± 0.029 f

La comparación general de medias del nitrógeno total (NT) en sustrato (Tabla 8) de ambos sistemas de producción durante las cuatro semanas, indicó que los sustratos del sistema orgánico mostraron un contenido de NT significativamente mayor (1.63 mg NT g⁻¹ PF) que el registrado para los sustratos del sistema convencional (1.55 mg NT g⁻¹ PF). Comparando las cuatro semanas de desarrollo, los contenidos de NT cambiaron durante las semanas de muestreo, registrándose los mayores

contenidos en la semana 41 (2.46 mg NT g⁻¹ PF) y los menores contenidos se registraron en las semanas 4 y 22 (1.02 mg NT g⁻¹ PF).

Dado que la interacción de factores sistema de cultivo*semana de muestreo fue altamente significativa; la Tabla 8 muestra la comparación de medias de esas interacciones. En la semana 41, ambos sistemas de cultivo mostraron los valores más altos (Fig. 5). Antes de esa semana, los contenidos de NT fueron y dependientes del sistema de cultivo; en el sistema orgánico se registraron los valores más bajos en las semanas 4, 8 y 22 sin registrarse diferencias estadísticas entre ellas; mientras que, en el cultivo convencional, las semanas 4 y 22 registraron los valores más bajos (incluso frente al sistema orgánico) y la semana 8 mostró valores estadísticamente más altos pero menores a los valores registrados en la semana 41.

Los datos registrados señalan que en el sustrato de crecimiento orgánico en las semanas 4 y 22 hubo una mayor disponibilidad de nitrógeno total comparado con el sistema convencional; mientras que en la semana 22, el sistema convencional mostró mayor disponibilidad de NT. Para el sistema orgánico, los altos contenidos de NT de la semana 41 parecen explicarse con el mayor aporte de nitratos en la entrada de la solución nutritiva; no obstante, en el sistema convencional esto no lo explica pues el contenido de nitratos en la solución nutritiva de entrada fue muy parecido a las otras semanas registradas. Estos datos parecen indicar que la capacidad del cultivo para aprovechar el nitrógeno disponible en el sustrato disminuye con la edad del cultivo.

En los estados de desarrollo más activos (semanas 4 y 22), el cultivo orgánico mostró mayor disponibilidad de NT lo cual parece explicarse por los mayores aportes de nitratos suministrados por el sistema de riego.

No obstante, los registros de la semana 8 señalan una mayor disponibilidad de NT en el sustrato del sistema convencional, aunque los aportes de nitratos en el sistema de riego orgánico fueron mayores. Estos datos sugieren cambios en el metabolismo

del nitrógeno de las plantas durante el ciclo de cultivo que a su vez parece estar influido por el sistema de cultivo.

La disponibilidad de literatura para la comparación de datos de NT en sistemas hidropónicos convencionales y orgánicos es prácticamente nula, pues las comparaciones se hacen en cultivos en suelo. No obstante, los datos de Yan et al., (2012) del contenido de NT en el suelo del cultivo de hortalizas bajo invernadero son notablemente menores a los registrados en este trabajo. El cultivo intensivo que supone la hidroponía para lograr rendimientos mayores explica parcialmente estas mayores disponibilidades de nitrógeno, no obstante, también pueden indicar menor uso eficiente del nitrógeno (NUE) y mayores pérdidas de estos al medio ambiente.

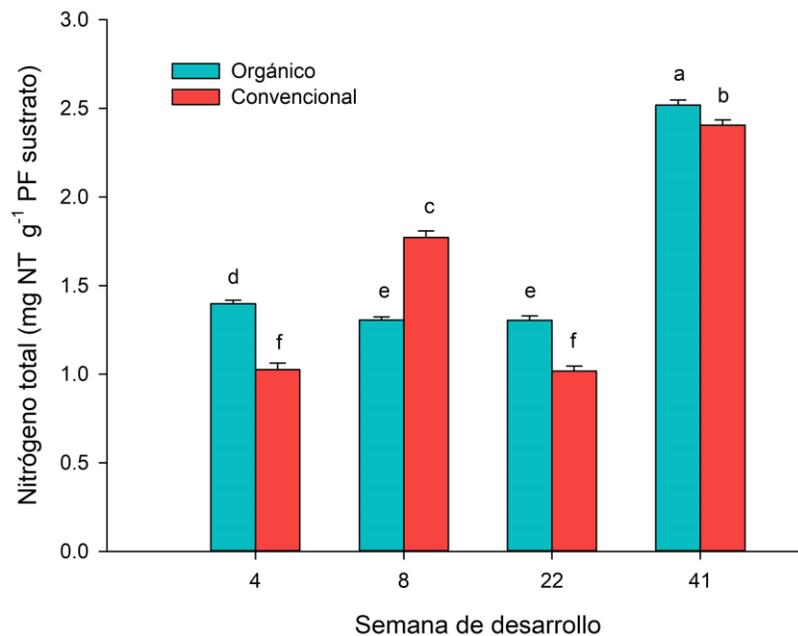


Fig. 5. Cambios en el contenido de NT en sustrato hidropónico orgánico y convencional. Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=15). Tukey ($p \leq 0.05$).

6.3. Disponibilidad de compuestos nitrogenados inorgánicos en sistemas hidropónico orgánico y convencional.

6.3.1. Cambios en el contenido de NO₃ en sustrato y raíz.

El análisis de varianza del contenido de nitratos en sustratos de los sistemas de producción orgánico y convencional mostró diferencias estadísticas significativas entre los sistemas de cultivo; entre las semanas de muestreo y la interacción sistema de producción*semana de muestreo (Tabla 9).

Tabla 9. Comparación de medias del contenido de NO₃ en sustratos de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.0004*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Cont. de NO ₃ ⁻ (mg NO ₃ ⁻ g ⁻¹ PF sustrato)
Orgánico, Semana 41	2.42 ± 0.065 a
Convencional, Semana 41	2.30 ± 0.064 a
Convencional, Semana 8	1.70 ± 0.086 b
Orgánico, Semana 4	1.007 ± 0.046 c
Convencional, Semana 4	0.85 ± 0.052 d
Orgánico, Semana 22	0.78 ± 0.073 d
Convencional, Semana 22	0.75 ± 0.036 d
Orgánico, Semana 8	0.72 ± 0.087 d

La comparación general entre los sustratos de ambos sistemas de cultivo señaló que el sustrato del sistema convencional tuvo un mayor contenido de nitratos (1.40 mg NO₃ g⁻¹ PF) respecto del sustrato de cultivo orgánico (1.23 mg NO₃ g⁻¹ PF).

Respecto de las semanas de muestreo, el contenido de NO₃ en la semana 41 fue estadísticamente mayor (2.36 mg NO₃ g⁻¹ PF) seguida por la semana 8 (1.21 mg

$\text{NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) y los menores contenidos se registraron en las semanas 4 y 22 ($0.76-0.92$) los cuales fueron estadísticamente similares.

El análisis estadístico de la interacción sistema de cultivo*semana, señaló que en la semana 41 para ambos sistemas de cultivo se registraron los valores más altos de NO_3^- ($2.42 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$ y $2.30 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) en los sustratos sin diferencias significativas entre ellos. A estos valores, les siguió la semana 8 del sistema convencional ($1.70 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$), aunque los contenidos más bajos se registraron en la semana 8 del cultivo orgánico ($0.72 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) y en las semanas 22 y 4 de ambos sistemas de cultivo ($0.78 - 1.00 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) (Tabla 9). El mayor contenido de NO_3^- suministrados por los sistemas de riego y su comparación con los registrados en los sustratos parece indicar que en los sustratos hay un menor contenido de este metabolito. Estos datos sugieren un transporte activo desde el a la raíz. Por ello es importante describir el contenido de este metabolito en la raíz.

La comparación estadística global de datos del contenido de NO_3^- en la raíz, también señaló diferencias altamente significativas entre los sistemas de cultivo, las semanas de muestreo y en la interacción sistema de cultivo*semana (Tabla 10). En promedio de las cuatro semanas de evaluación, las raíces de plantas cultivadas en el sistema orgánico mostraron un contenido estadísticamente mayor de NO_3^- ($3.38 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) respecto del registrado en el sistema convencional ($2.33 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$). A su vez, comparando las cuatro semanas evaluadas de ambos sistemas de cultivo, las semanas 4 y 8 mostraron los contenidos mayores ($3.43 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$ y $3.16 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) pero estadísticamente similares; en la semana 22 se registró un contenido estadísticamente menor ($2.56 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) y finalmente la semana 41 mostró el valor estadísticamente más bajo ($2.23 \text{ mg NO}_3^- \text{ g}^{-1} \text{ PF}$). La interacción sistema de cultivo*semana de muestreo permitió identificar diferencias sustantivas entre los sistemas de cultivo y semana de muestreo o desarrollo. La Tabla 10 muestra el ANOVA para el contenido de NO_3^- en raíz de plantas de tomate 'Merlice' cultivados en hidroponía en ambos sistemas de cultivo.

Tabla 10. . Comparación de medias del contenido de NO₃⁻ en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.0001*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Cont. de NO₃⁻ (mg g⁻¹ PF raíz)
Orgánico, Semana 4	5.086 ± 0.266 a
Orgánico, Semana 8	3.215 ± 0.102 b
Convencional, Semana 8	3.110 ± 0.104 b
Orgánico, Semana 22	2.733 ± 0.038 c
Orgánico, Semana 41	2.414 ± 0.071 d
Convencional, Semana 22	2.385 ± 0.051 d
Convencional, Semana 41	2.043 ± 0.0371 e
Convencional, Semana 4	1.781 ± 0.081 f

En la semana 4 del cultivo orgánico, se observaron los contenidos de NO₃⁻ mayores (5.10 mg NO₃⁻ g⁻¹ PF) mientras que, en esa misma semana, el cultivo convencional registró los valores más bajos (1.78 mg NO₃⁻ g⁻¹ PF). En la semana 8, ambos sistemas mostraron altos contenidos estadísticamente similares (3.22 mg NO₃⁻ g⁻¹ PF y 3.11 mg NO₃⁻ g⁻¹ PF, para cultivo orgánico y convencional, respectivamente) y en las semanas 22 y 41 ambos sistemas mostraron valores bajos (de 2.04 mg NO₃⁻ g⁻¹ PF a 2.73 mg NO₃⁻ g⁻¹ PF) sin diferencia estadística entre ellas.

La representación gráfica del contenido de nitratos en sustratos y en raíz de ambos sistemas de cultivo (Fig. 6a y 6b), permite observar que en el sistema orgánico hubo un notable transporte activo de este metabolito desde el sustrato a la raíz. Este transporte fue muy fuerte en la semana 4 y disminuyó a medida que transcurrió el ciclo de cultivo. En la semana 41 el transporte activo de este metabolito a la raíz se mantuvo igual que en la semana 22 provocando una acumulación de este en el

sustrato. Este comportamiento fue diferente en el sistema convencional, en el cual y durante las semanas 4 y 8, hubo un incremento en la acumulación de nitratos en sustratos y raíz. En la semana 22, el transporte activo de este metabolito pareció incrementarse provocando una disminución en el sustrato y un incremento en la raíz. En la semana 41, se disminuyó el transporte activo del metabolito a la raíz y se incrementó su acumulación en el sustrato. El proceso de transporte y acumulación de nitratos en la raíz ya ha sido descrito en otras investigaciones. (Muratore et al., 2021) señalaron que la absorción de nitratos esta mediado por proteínas transportadoras de nitratos NRT1 (de baja afinidad) y NRT2 (de alta afinidad) y que su actividad está regulada estrictamente por la disponibilidad de sustrato, el estado de desarrollo de la planta y el estado nutricional de la misma. Bajo condiciones de nutrición limitada, se induce la expresión de estos transportadores y de enzimas de la absorción de NO_3^- seguido de una rápida desregulación (Wang et al., 2018) e incluso de la expresión de transportadores de este metabolito desde el interior de la célula al medio externo (Segonzac et al., 2007) lo cual parece explicar el incremento en el contenido de NO_3^- en el sustrato en la semana 41 para ambos sistemas de cultivo.

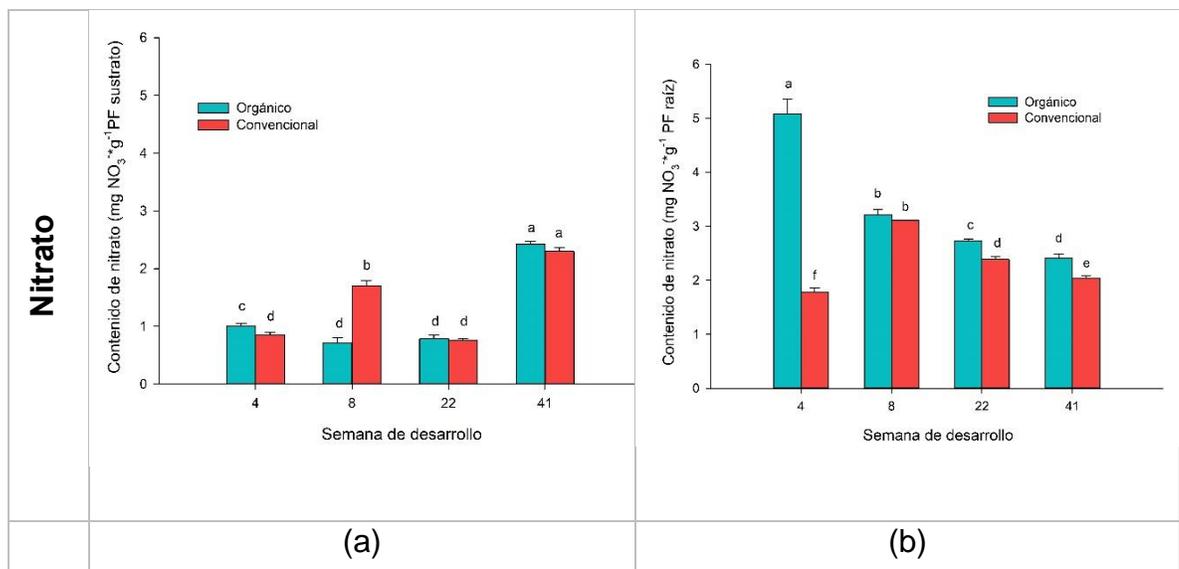


Fig. 6. Contenido de nitrato en sustrato (a) y raíz (b) de sistema hidropónico orgánico y convencional. Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=15). Tukey ($p \leq 0.05$).

Los datos de contenido de nutrientes en las soluciones nutritivas y de nitrógeno total en sustratos señalan una mayor disponibilidad de nutrientes en el sistema de cultivo orgánico comparada con el cultivo convencional. Es muy probable que esta disponibilidad tuviera efectos en los sistemas de transporte del metabolito la cual seguramente también está influida por la semana de desarrollo o el estado de desarrollo en que se encuentre el cultivo y también y por el sistema de producción.

6.3.2. Cambios en el contenido de NO₂ en sustrato y raíz.

Considerando que los nitratos son la principal fuente de N en la planta y estos son reducidos por la enzima nitrato reductasa (NR) a NO₂⁻, se describen los cambios de este metabolito tanto en sustrato y raíz tomando en cuenta la ruta primaria de cambios de estos metabolitos.

El análisis estadístico general del contenido de nitritos en el sustrato de ambos sistemas de cultivo y durante las diferentes semanas de desarrollo del cultivo, indicó que el sistema de cultivo no indujo diferencias estadísticas significativas en este metabolito (Tabla 11); No obstante, en la semana 4 de desarrollo se observó un contenido significativamente mayor de nitritos (0.014 mg NO₂⁻ g⁻¹ PF) y que estos disminuyeron a medida que transcurrió el desarrollo del cultivo registrándose el menor contenido en la semana 41 (0.005 mg NO₂⁻ g⁻¹ PF).

Tabla 11. Comparación de medias del contenido de NO₂⁻ en sustratos de crecimiento de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.0745
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0022*
Interacción Sist. cultivo *semana	Cont de NO ₂ ⁻ (mg NO ₂ ⁻ g ⁻¹ PF sustrato)
Convencional, Semana 4	0.0143 ± 0.0008 a
Orgánico, Semana 4	0.0139 ± 0.0008 a

Orgánico, Semana 8	0.0133 ± 0.0004 a
Convencional, Semana 8	0.0104 ± 0.0006 b
Convencional, Semana 22	0.0079 ± 0.0002 c
Orgánico, Semana 22	0.0071 ± 0.0001 d
Orgánico, Semana 41	0.0062 ± 0.0003 e
Convencional, Semana 41	0.0052 ± 0.00009 f

La interacción sistema de cultivo*semana también mostró diferencias significativas, observándose los mayores contenidos de nitritos en la semana 4 de ambos sistemas de cultivo y en la semana 8 del sistema orgánico (Tabla 11). Después de esos altos registros, hubo un continuo descenso del contenido de este metabolito hasta la semana 41 en la que se registraron los menores contenidos en ese sustrato para ambos sistemas de cultivo.

La presencia de NO_2^- en los sustratos de ambos sistemas de cultivo fue baja debido a que este metabolito solo procede de la actividad enzimática de nitrato reductasa de microorganismos que reducen el NO_3^- aportado en la solución nutritiva del sistema convencional (Bowsher et al., 2008).

Con el objeto de dar una idea de la dinámica de movimiento de este metabolito en el sustrato de ambos sistemas de cultivo, habría que establecer los cambios en la raíz. El análisis estadístico general del contenido de NO_2^- en la raíz, mostró diferencias altamente significativas tanto por efecto del sistema de cultivo, la semana de desarrollo y la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo (Tabla 12).

Tabla 12. Comparación de medias del contenido de NO₂⁻ en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.0001*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Cont de NO₂⁻ (mg NO₂⁻ g⁻¹ PF raíz)
Orgánico, Semana 22	0.0356 ± 0.001 a
Orgánico, Semana 8	0.0355 ± 0.001 a
Orgánico, Semana 4	0.0318 ± 0.0005 b
Convencional, Semana 22	0.0232 ± 0.001 c
Orgánico, Semana 41	0.0231 ± 0.0004 c
Convencional, Semana 41	0.0229 ± 0.0007 c
Convencional, Semana 8	0.0180 ± 0.0004 d
Convencional, Semana 4	0.0171 ± 0.0003 d

En promedio de las cuatro semanas evaluadas, el sistema orgánico mostró valores estadísticamente mayores (0.032 mg NO₂⁻ g⁻¹ PF) respecto del registrado en el sistema convencional (0.020 mg NO₂⁻ g⁻¹ PF). En cuanto al efecto de las semanas de desarrollo, la semana 22 mostró los valores más altos (0.029 mg NO₂⁻ g⁻¹ PF), seguidos por la semana 8 (0.021 mg NO₂⁻ g⁻¹ PF) y las semanas 4 y 41 mostraron los valores más bajos estadísticamente (0.023 mg NO₂⁻ g⁻¹ PF y 0.024 mg NO₂⁻ g⁻¹ PF).

Respecto de las interacciones sistema de cultivo*semana de desarrollo, se registraron los valores más altos de NO₂⁻ en el sistema orgánico en las semanas 4, 8 y 22. Los valores más bajos fueron registrados en el sistema convencional en las semanas 8 y 4 (Tabla 12). Estos datos claramente muestran que el sistema de cultivo orgánico en la semana 4 a la 22 hay un mayor contenido de NO₂⁻, debido principalmente a una mayor actividad metabólica en el sistema orgánico respecto a

lo mostrado por el sistema convencional. Este aspecto es abordado en la sección de actividades enzimáticas del metabolismo del nitrógeno.

Los cambios del contenido de este metabolito en el sustrato y la raíz mostraron diferencias importantes (Fig. 7a y 7b). Los contenidos de este metabolito fueron notablemente menores en el sustrato en comparación con los valores registrados en la raíz. Así mismo es importante resaltar que en las raíces del sistema orgánico superaron al sistema convencional. Estos datos sugieren dos cosas: a) la actividad metabólica de transformación de nitratos a nitritos es más alta en el interior de la raíz respecto de aquella que se presenta en el sustrato y b) que el sistema orgánico propició una mayor generación de nitritos.

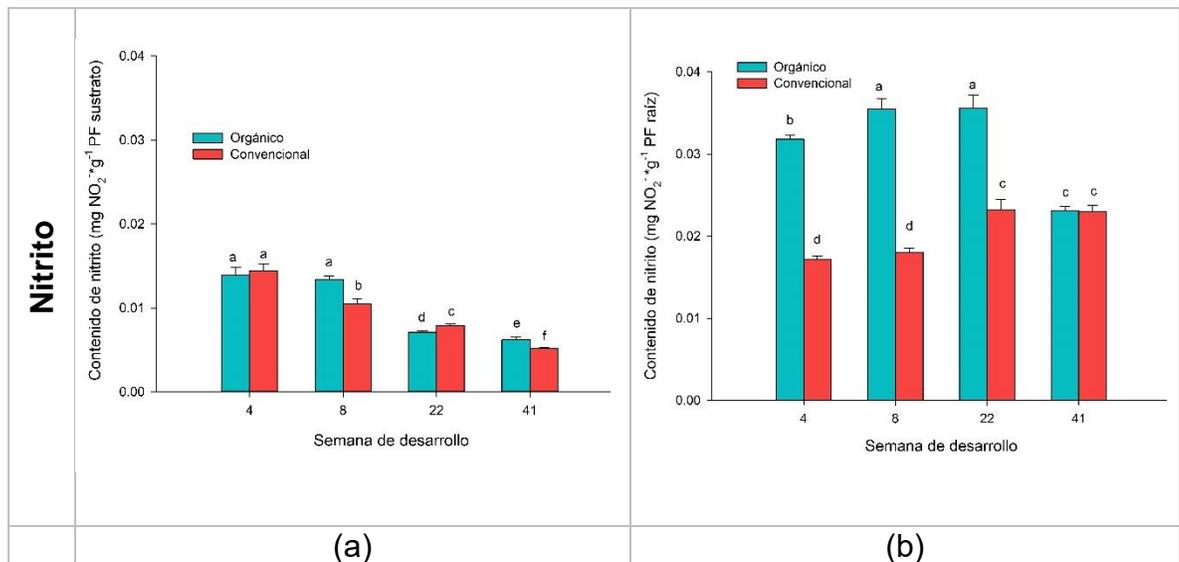


Fig. 7. Contenido de nitrito en sustrato (a) y raíz (b) de sistema hidropónico orgánico y convencional. Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=15). Tukey ($p \leq 0.05$).

El mayor aporte de nutrientes (especialmente de nitratos) que se suministró a las plantas de producción orgánica, indicado en la sección de soluciones nutritivas, propició un mayor transporte de nitratos a la raíz y esto posiblemente indujo su transformación a nitritos. Bowsher et al., 2008, señalaron que el transporte NO₃ a

través de la membrana, está regulado por las concentraciones de este catión y por tanto esto influye en la cantidad de sustrato para la formación de nitritos en el interior de las células de la raíz. Bajo este concepto, al tenerse mayores concentraciones de nutrientes en el sistema orgánico esto propició una mayor producción de nitritos en esas raíces.

Con estos resultados se evidencia que, a diferencia del sistema convencional, el sistema orgánico está teniendo una concentración de NO_2^- en la raíz en las semanas de mayor demanda de nutrientes. Lo cual, impactará directamente en el rendimiento final y en la calidad del cultivo. Ya que de acuerdo con (Allègre et al., 2004), la concentración de nitrito en raíz aireada y anóxica de tomate es de 0.08 - 0.12 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco de raíz. De tal forma que en este estudio la concentración de NO_2^- determinada en raíz orgánica fue de 0.67 $\mu\text{mol g}^{-1}$ de peso fresco de raíz, lo que equivale alrededor de 6 veces más la concentración a lo reportado por (Allègre et al., 2004). Dicha concentración de NO_2^- en raíz podría ser una de las causas que podría impactar sobre el rendimiento y la calidad final del fruto.

La disminución en el contenido de nitritos puede estar relacionada tanto a procesos de amonificación o su proceso inverso (Daims et al., 2016). Esto señala que el NO_2^- no permanece fijo en el sustrato, por ello se podría justificar los bajos contenidos determinados en el sustrato. Así mismo, dicha disminución evidencia la posible transformación hasta NH_4^+ o NO_3^- como se mencionó anteriormente. Dichas transformaciones las llevan a cabo la nitrato reductasa (NR), nitrito reductasa (NiR), glutamina sintetasa (GS) y proteasa (PRT). La actividad de estas enzimas se describe en la siguiente sección.

6.3.3. Cambios en el contenido de NH_4^+ en sustrato y raíz.

Tanto el factor sistema de cultivo, como las semanas de desarrollo y la interacción sistema de cultivo*semana de cultivo tuvieron efectos altamente significativos. En

comparación de los sistemas de cultivo y en promedio de las cuatro semanas, se evidenció que, el sistema de cultivo orgánico tenía un contenido de NH_4^+ estadísticamente mayor ($0.024 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) que el registrado por el cultivo convencional ($0.021 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$).

La comparación entre las cuatro semanas de desarrollo evaluadas indicó que las semanas 41 y 8 mostraron los mayores contenidos ($0.034 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$ y $0.033 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$ respectivamente), mientras que la semana 22 mostró los contenidos más bajos ($0.006 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) y la semana 4 mostró contenidos intermedios entre estos dos conjuntos ($0.017 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$). No obstante, la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo mostró diferencias significativas que deben ser observadas.

Los resultados de interacción del sistema de cultivo* semana de desarrollo (Tabla 13) mostraron que los valores más altos se presentaron en el sistema orgánico, siendo la semana 41 la semana con mayor contenido de NH_4^+ ($0.040 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$). Mientras que, en el sistema convencional, la semana con mayor contenido de NH_4^+ fue la semana 8 ($0.036 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$). Así mismo, la semana 22 fue la semana con el menor contenido de NH_4^+ sin una diferencia significativa entre sistemas de producción ($0.0061 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$ y $0.0056 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$ en el sistema orgánico y convencional respectivamente) (Tabla 13).

Tabla 13. Comparación de medias del contenido de NH_4^+ en sustrato de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia ($p \leq 0.05$)
Sistema de cultivo	0.0009*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Cont. de NH_4^+ ($\text{mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$ sustrato)
Orgánico, Semana 41	0.040 ± 0.001 a
Convencional, Semana 8	0.036 ± 0.001 b

Orgánico, Semana 8	0.029 ± 0.001 c
Convencional, Semana 41	0.028 ± 0.001 c
Orgánico, Semana 4	0.021 ± 0.001 d
Convencional, Semana 4	0.012 ± 0.0009 e
Orgánico, Semana 22	0.0061 ± 0.0006 f
Convencional, Semana 22	0.0056 ± 0.0002 f

Ambos sistemas de cultivo presentaron subidas y bajadas del contenido de NH_4^+ durante las semanas de desarrollo. Un primer pico de contenido relativamente alto se observó en la semana 8 y otro en la semana 41. A este pico le antecedió y le siguieron los picos de menor concentración en las semanas 4 y 22. Finalmente en la semana 41, se volvieron a registrar incrementos en ambos sistemas, aunque el sistema orgánico fue el que registro el mayor incremento (Fig. 8a). Para tener una mejor comprensión de lo que ocurre en todo el sistema, es necesario analizar los contenidos de este metabolito en la raíz.

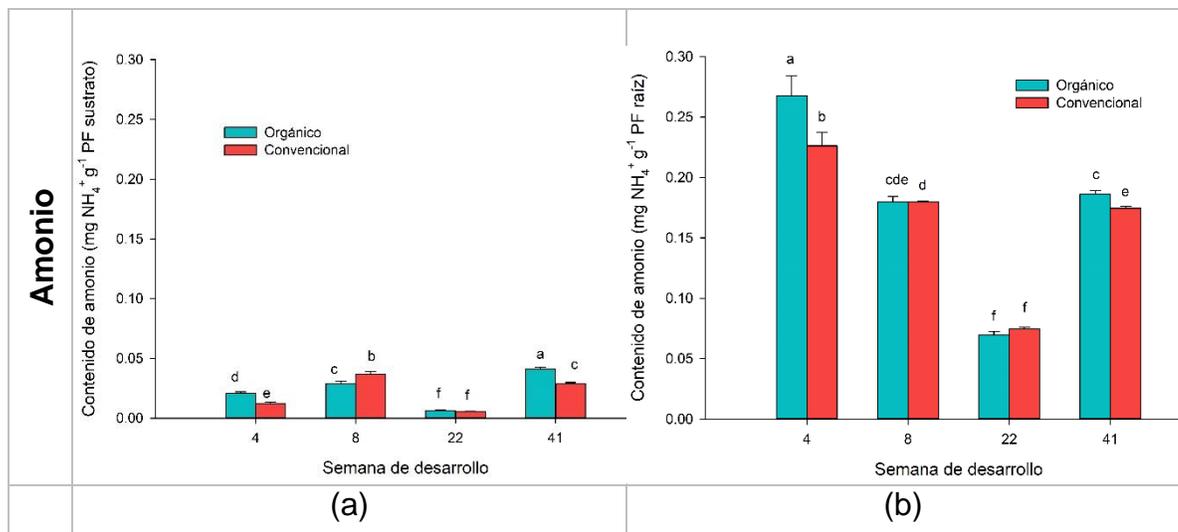


Fig. 8. Cambios en el contenido de amonio en sustrato (a) y raíz (b) de sistema de cultivo de tomate hidropónico orgánico y convencional. Los datos reflejan la media ± error estándar (n=15). Tukey ($p \leq 0.05$).

El contenido de NH_4^+ en las raíces de ambos sistemas de cultivo y durante el ciclo de desarrollo presentó diferencias estadísticas importantes. En promedio de las cuatro semanas, las raíces del sistema orgánico mostraron contenidos de NH_4^+ mayores ($0.175 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) que las registradas por las raíces del sistema convencional ($0.163 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$). Respecto de los cambios observados durante las semanas de desarrollo; en la semana 4 se registraron los valores más altos ($0.247 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) y en la semana 22 los valores más bajos ($0.072 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$). Mientras que en la semana 8 y 41 se registraron valores intermedios.

Los resultados de la interacción del sistema de cultivo*semana de desarrollo permitieron establecer diferencias claras entre el sistema de cultivo y las semanas de desarrollo (Tabla 14). Las raíces del sistema orgánico mostraron los valores más altos en la semana 4 ($0.268 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) que disminuyeron hasta sus valores más bajos en la semana 22 ($0.074 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$) y se incrementaron nuevamente en la semana 41 ($0.186 \text{ mg NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ PF}$). El sistema convencional mostró un comportamiento parecido, pero con registros menores que el sistema orgánico; alto contenido de amonio en la semana 4 y disminución hasta la semana 22 y un incremento final en la semana 41.

El mayor contenido de amonio en la raíz respecto de lo registrado en el sustrato, en ambos sistemas, señala el proceso de transporte de este metabolito.

Tabla 14. Comparación de medias del contenido de NH_4^+ en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia ($p \leq 0.05$)
Sistema de cultivo	0.0279*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0144*
Interacción Sist. cultivo *semana	Cont. de NH_4^+ ($\text{mg g}^{-1} \text{ PF}$ raíz)
Orgánico, Semana 4	0.267 ± 0.017 a
Convencional, Semana 4	0.226 ± 0.011 b
Orgánico, Semana 41	0.186 ± 0.003 c

Convencional, Semana 8	0.180 ± 0.0005 d
Orgánico, Semana 8	0.180 ± 0.004 cde
Convencional, Semana 41	0.174 ± 0.002 e
Convencional, Semana 22	0.074 ± 0.002 f
Orgánico, Semana 22	0.069 f

La representación gráfica de los contenidos de NH_4^+ en el sustrato y el sistema radicular se muestra en las Fig. 8a y 8b. El contenido de amonio fue notablemente menor que lo registrado en la raíz. Esto puede indicar dos aspectos metabólicos de este metabolito: a) menor capacidad de amonificación en el sustrato y alta capacidad de amonificación en la raíz y b) una alta capacidad de transporte de amonio desde el sustrato hasta la raíz. Esto último debido a que el transporte de NH_4^+ se lleva a cabo tanto por canales no catiónicos, así como por medio de transportadores y acuaporinas (Liu et al., 2017; Shilpha et al., 2023).

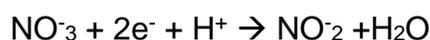
Además, cabe resaltar que, en la sección de la composición de las soluciones, se indicó una concentración notablemente mayor de amonio en la solución nutritiva orgánica, comparada con la suministrada por la solución del cultivo convencional (Tabla 7). De tal forma que dicha concentración también podría estar influenciando el contenido de NH_4^+ en la raíz.

6.2. Actividad enzimática asociada al metabolismo del nitrógeno en sistema hidropónico orgánico y convencional.

6.2.1. Cambios en la actividad de nitrato reductasa (NR) en sustrato y raíz.

Esta enzima es clave en el metabolismo primario del nitrógeno puesto que inicia las transformaciones del nitrato y que terminarán en la formación de moléculas más complejas (aminoácidos, clorofila, bases nitrogenadas, ácidos nucleicos etc).

De forma global la reacción que lleva a cabo esta enzima es la siguiente (Kuypers et al., 2018):



La enzima NR, mostró cambios importantes en los sustratos y en la raíz de las plantas de tomate cultivadas en ambos sistemas de cultivo y durante las cuatro semanas de desarrollo evaluadas.

El análisis de varianza de los resultados de esta actividad en los sustratos mostro un efecto altamente significativo del sistema de cultivo, las semanas de desarrollo y de la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo (Tabla 15).

Tabla 15. Comparación de medias de actividad de NR en sustrato de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.0001*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Actividad de NR (mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹ sustrato)
Orgánico, Semana 22	40.68 ± 1.172 a
Convencional, Semana 8	31.48 ± 1.872 b
Orgánico, Semana 8	27.46 ± 1.154 c
Convencional, Semana 22	27.09 ± 0.774 c
Orgánico, Semana 41	25.25 ± 2.633 c
Orgánico, Semana 4	19.41 ± 0.423 d
Convencional, Semana 41	17.94 ± 1.258 d
Convencional, Semana 4	14.33 ± 0.788 e

En promedio de las cuatro semanas evaluadas, el sustrato del sistema orgánico mostró una mayor actividad (28.21 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹) respecto del sistema convencional que mostró una actividad menor (22.71 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹). Respecto a la comparación de las cuatro semanas de desarrollo, el valor de actividad más alto se registró en la semana 22 (33.89 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹) y la semana 4 mostró las actividades más bajas (16.87 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹); en tanto que las semanas 8 y 41 mostraron valores intermedios.

La interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo, señaló que el sistema orgánico en la semana 22 mostró los valores más altos de actividad, seguidos por los registrados en la semana 8 del sistema convencional y los valores de menor actividad se registraron en la semana 4 de ambos sistemas y 41 del sistema convencional (Tabla 15 y Fig. 9a)

Estas actividades señalan que a nivel sustrato, se presenta un proceso de reducción de los nitratos muy dinámico que participa en la disminución de los nitratos del sustrato y que se acopla al proceso de transporte activo de nitratos desde el sustrato a la raíz provocando los bajos contenidos de nitratos en el sustrato, (Fig. 6a), el cual se ha descrito en la sección de contenido de nitratos (sección 6.3.1). También explica, parcialmente, la formación de nitritos en el mismo sustrato (Fig. 7a). De acuerdo con Bowsher et al., (2008), Gupta, (2019) y Silveira et al., (2001). La actividad de la NR, es inducible por varios factores, de los cuales destaca la disponibilidad de nitratos. Los cambios observados en el contenido de nitratos en el sustrato (Fig. 6a) durante las semanas 4, 8 y 22 del sistema convencional parecen explicar las actividades registradas de esta enzima, pero no explica la relativamente baja actividad registrada en la semana 41 con la alta presencia de nitratos. En el sistema orgánico, los cambios en la actividad NR solo se correspondió en la semana 4 con los contenidos de nitratos en el sustrato, pero no se correlacionaron en las semanas 8 y 22 en las que se registraron altas actividades de NR, pero bajos contenidos de nitratos. Mientras que, en la semana 41 se registraron altos contenidos de nitratos, pero una actividad enzimática relativamente baja. (Fig. 6a y Fig 9a).

Estos datos indican que a nivel de sustrato hay diferencias importantes en el metabolismo de los nitratos en los dos sistemas estudiados. Márquez-Quiroz et al., (2014) en ensayos in vitro de la actividad de NR con muestras de hojas de tomate Saladette, observaron que los extractos enzimáticos obtenidos de muestras con fertilización orgánica a través de vermicomposta indujo mayores actividades de NR

en comparación con aquellas muestras obtenidas de fertilización convencional. Esto coincide que lo observado en este trabajo.

A efecto de dar un panorama general de lo que ocurre con la actividad de NR tanto en sustrato como raíz; se analizó los cambios de esta enzima en la raíz.

El análisis de varianza de los datos de actividad de NR en raíz, (Tabla 16), señaló efectos altamente significativos del sistema de cultivo, de las semanas de desarrollo y de la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo.

Tabla 16. Comparación de medias de la actividad de NR en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.0001*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Actividad de NR (mg NO₂ g⁻¹ proteína hr⁻¹ raíz)
Orgánico, Semana 41	6079.97 ± 22.31 a
Convencional, Semana 41	3167.64 ± 47.47 b
Orgánico, Semana 4	815.50 ± 72.02 c
Orgánico, Semana 8	525.84 ± 106.89 d
Orgánico, Semana 22	437.56 ± 10.29 d
Convencional, Semana 8	325.68 ± 28.27 e
Convencional, Semana 4	241.77 ± 10.09 f
Convencional, Semana 22	208.92 ± 65.28 f

La actividad de NR en las raíces de ambos sistemas mostraron actividades notablemente mayores que las registradas en los sustratos (Fig. 9a y 9b). Esto señala que el metabolismo de reducción de los nitratos en el interior de las células radiculares es mucho más importante y seguramente se debe a los mayores

contenidos de nitratos (Fig 6a) que indujeron su actividad como lo estableció Wang et al., (2018).

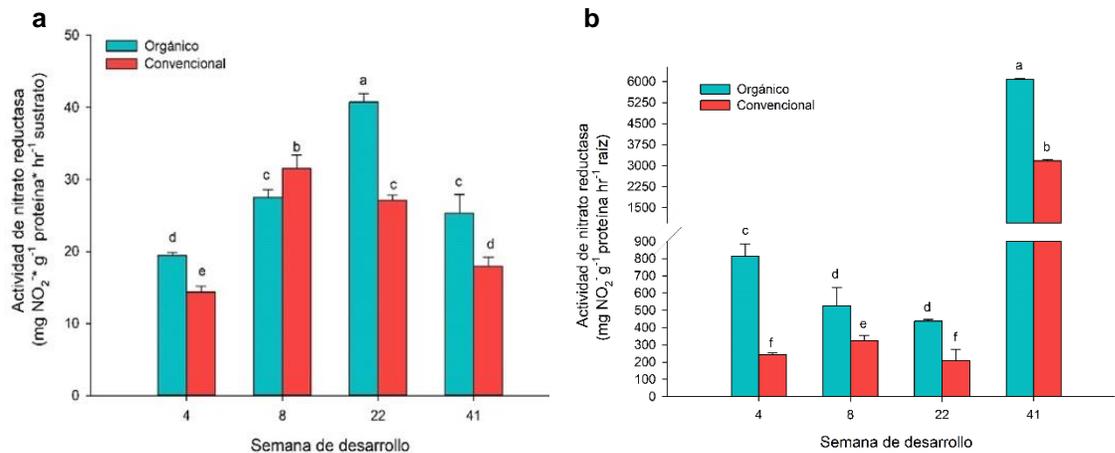


Fig. 9. Cambios en la actividad de nitrato reductasa (NR) en sustrato (a) y raíz (b). Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=15). Tukey ($p \leq 0.05$).

Los resultados muestran una mayor actividad de NR en la raíz del sistema orgánico (1964.7 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹) respecto a lo observado en el sistema convencional (986.0 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹).

De igual forma, la semana de desarrollo tuvo diferencias significativas; en comparación de las cuatro semanas evaluadas, en la semana 41 se registraron los valores más altos (4623.8 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹) y en las semanas 8 y 22 se registraron los valores más bajos (425,7 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹ y 323.2 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹ respectivamente) y en la semana 4 se registraron valores intermedios (528.6 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹).

Marquez-Quiróz et al., (2014) señalaron mayores actividades de NR al final del ciclo de cultivo de tomate Saladette (105 días) en comparación con muestras en procesos de floración y fructificación (77 días). Esto parece coincidir con lo observado en este estudio a las 41 semanas de desarrollo en las que las plantas ya habían sido

“descabezadas” o podadas en su zona de floración. Esto sugiere posibles acciones de fitohormonas que indujeron esa respuesta y que no fueron consideradas en este trabajo.

La interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo mostró diferencias significativas (Tabla 16). En la semana 41, las raíces del sistema orgánico mostraron valores muy altos de actividad a la que le siguió los valores de esa misma semana (41) en el sistema convencional. Después de la semana 41, los valores de actividad son notablemente menores, no obstante, el sistema orgánico mostró valores comparativamente más altos respecto de los mostrados en el sistema convencional en las semanas 22, 8 y 4 (Tabla 16 y Fig. 6b).

Dentro de las semanas 4,8 y 22, el decremento de los contenidos de nitratos en la raíz, (Fig. 6b), parece explicar la disminución de la actividad de la nitrato reductasa; lo cual estaría de acuerdo con lo señalado por varios autores en el sentido que la actividad de esta enzima está directamente regulada por el contenido de nitratos en el medio (Gupta, 2020; Hachiya & Sakakibara, 2016). No obstante, es pertinente resaltar que el contenido de nitratos en ambos sistemas fue muy parecido pero la actividad NR fue menor en el sistema convencional. Lo anterior sugiere que el sistema de cultivo orgánico afecta de manera significativa el metabolismo del nitrógeno al interior de la raíz.

Los valores altos de actividad de esta enzima en la semana 41 del sistema orgánico, parecen estar explicados por el alto suministro de nitratos aportado en la solución nutritiva al final del ciclo de cultivo (Tabla 7). No obstante, en el sistema convencional se mantuvo el contenido de nitratos en la solución nutritiva y aun así se registró una alta actividad. Esto parece indicar que además de los aportes de nitratos, puede haber otros factores como el paso de una forma inactiva (asociada al estado de fosforilación de la enzima o ligado proteínas) el estado de desarrollo del cultivo influye también en esta actividad (Gupta 2020).

Las altas actividades de NR en las muestras de 41 semanas de desarrollo, pudieran explicarse debido al proceso de senescencia de los tejidos. El cual puede explicarse mediante algunos mecanismos referidos en la literatura.

Botrel & Kaiser, (1997) estudiando el estado de activación de la NR en raíces de plántulas de cebada establecieron que la forma inactiva de esta enzima es cuando está fosforilada y esta situación se presenta cuando la raíz se encuentra en condiciones aeróbicas y es parcialmente desfosforilada (activada) en condiciones de anoxia o bajo ambientes de pH ligeramente ácidos; así mismo también establecieron que los bajos aportes de azúcares provocan la disminución de su actividad.

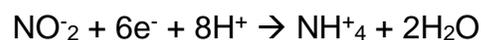
Dado que el tomate cv “Merlice” es una variedad indeterminada que alcanza longitudes de tallo que superan los 8 m y que mediante la poda de hojas solo se mantienen aquellas hojas que aportan fotosintatos a los frutos quedando la raíz muy alejada de los suministros de carbohidratos; es posible que durante las últimas semanas de desarrollo del cultivo se presente cierta deficiencia de carbohidratos en la raíz que reduzca la actividad de la NR, por fosforilación, lo cual podría explicar las disminuciones de actividad después de la semana 8.

Durante las últimas semanas del cultivo y debido al proceso de senescencia, es posible se presente una degradación de las membranas de la vacuola facilitando la salida de los nitratos de reserva al citosol, provocando su acidificación (Lillo et al., 2004) reactivando el pool de la NR y generando una alta actividad en la semana 41.

Aunque el contenido de NO_3^- explica de manera directa las actividades de la nitrato reductasa; también es posible que se estén presentando los mecanismos de inactivación/reactivación asociados a los procesos de senescencia celular los cuales incluyen procesos de fosforilación/desfosforilación de la NR.

6.2.2. Cambios en la actividad de nitrito reductasa (NiR) en sustrato y raíz.

Esta enzima utiliza como sustrato el NO_2^- generado por la nitrato reductasa para transformarlo en NH_4^+ mediante la siguiente reacción (Kuypers et al., 2018):



El análisis de varianza de los datos de actividad de NiR en sustrato, (Tabla 17), señaló efectos altamente significativos del sistema de cultivo, de las semanas de desarrollo y de la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo.

Tabla 17. Comparación de medias de la actividad de NiR en sustratos de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia ($p \leq 0.05$)
Sistema de producción	0.0001*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*

Interacción Sist. cultivo *semana	Actividad de NiR ($\text{mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1} \text{ sustrato}$)
Convencional, Semana 41	17.38 ± 0.275 a
Orgánico, Semana 22	10.40 ± 0.092 b
Orgánico, Semana 41	9.32 ± 0.084 c
Convencional, Semana 8	7.70 ± 0.125 d
Orgánico, Semana 4	6.50 ± 0.050 e
Orgánico, Semana 8	6.03 ± 0.065 f
Convencional, Semana 22	5.45 ± 0.048 g
Convencional, Semana 4	4.64 ± 0.098 h

En promedio de las cuatro semanas de desarrollo, la actividad de esta enzima en sustrato fue mayor en el sistema convencional ($8.79 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$) respecto de la actividad registrada para el sistema orgánico ($8.063 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$).

Respecto del efecto de las semanas de desarrollo, la actividad de esta enzima se incrementó significativamente a medida que transcurrió el ciclo de cultivo; En la semana 4 se registró la menor actividad ($5.56 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$), le siguió la semana 8 ($6.86 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$), la semana 22 ($7.93 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$) y la más alta se registró en la semana 41 ($13.35 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$).

La interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo, también mostró efectos altamente significativos. El sistema convencional en la semana 41 registro los valores más altos ($17.38 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$) y este mismo sistema también mostró los valores más bajos en las semanas 22 y 4 ($5.45 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$ y $4.68 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$). El sistema orgánico, registro sus valores más altos en la semana 22 ($10.41 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$) y sus valores más bajos en las semanas 4 y 8 ($6.49 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$ y $6.02 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ proteína hr}^{-1}$) sin diferencia entre esos dos valores (Tabla 17).

De acuerdo con trabajos desarrollados por otros autores. Baloff et al., (2016), reportó que, la actividad de esta enzima está ligada a la presencia de nitratos en el medio, aunque este metabolito no sea el sustrato directo. Esta observación se soporta si se comparan las actividades de esta enzima (Fig. 10a y 10b) con los contenidos de nitratos en sustratos y raíz (Fig. 6a y 6b).

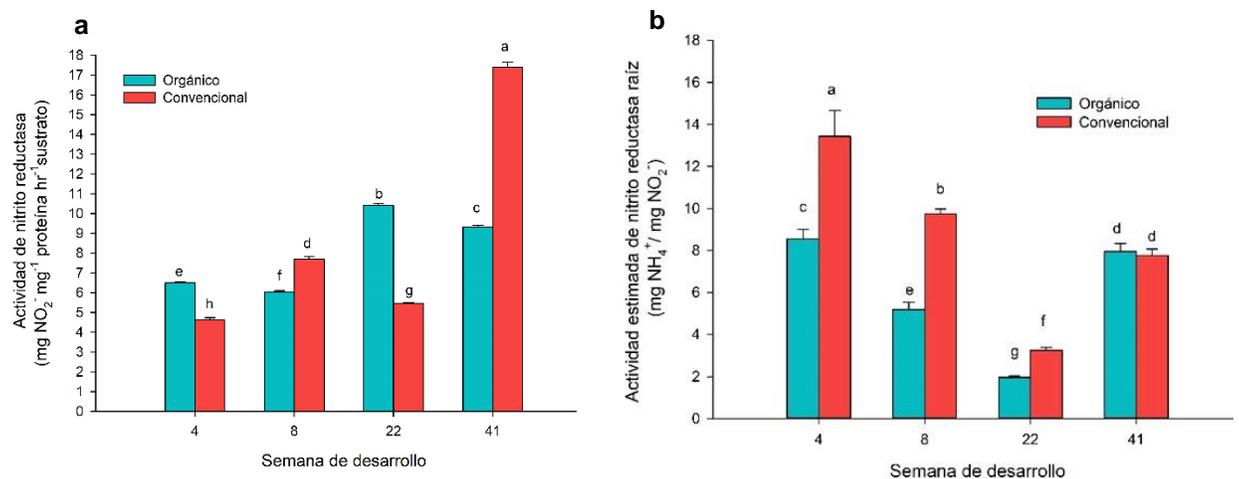


Fig. 10. Cambios en la actividad de nitrito reductasa en sustrato (a) y raíz (b). de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional. Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=15). Tukey ($p \leq 0.05$).

Durante el desarrollo de los cultivos, la actividad de esta enzima en sustrato tendió a incrementarse en ambos sistemas de cultivo, aunque en el sistema orgánico esa tendencia no alcanzó los valores máximos registrados en el sistema convencional (Fig. 10a). Estas actividades podrían sugerir una producción creciente de amonio en el sustrato; no obstante, esta tendencia no fue observada (Fig. 8a). Estos datos podrían señalar un transporte muy activo del amonio hacia la raíz.

La anterior observación, podría estar soportada por los trabajos de Ruzicka et al., (2010) que indicaron un rápido transporte del amonio a la raíz en plantas de tomate a las que se les administró 6.5 y 65 μg de NH_4^+ y que ese rápido transporte se debió a la expresión incrementada de los genes de los transportadores de amonio AMT1 y AMT2 los cuales se expresaron de acuerdo con la concentración de amonio aplicada; para baja concentración el AMT1 y para la alta concentración el AMT2.

Lo anterior soporta los resultados de una baja acumulación de amonio en el sustrato. No obstante, si se compara la tendencia de incremento de la actividad NiR en sustrato (Fig. 10a) con los contenidos de nitritos en el mismo sustrato (Fig. 8b) se observa una correlación directa de consumo de nitritos y la actividad de la enzima NiR.

Para tener una idea global de la actividad metabólica de esta enzima en el sistema sustrato raíz se señala el comportamiento que tuvo esta enzima en la raíz, así como como el amonio generado.

El análisis de varianza de los datos de actividad de NiR en raíz, (Tabla 18), también señaló efectos altamente significativos del sistema de cultivo, de las semanas de desarrollo y de la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo.

De manera general, y como se observó en sustrato también las actividades de nitrato reductasa en la raíz del sistema convencional fueron significativamente mayores

(8.6 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹) respecto de las actividades registradas en el sistema orgánico (5.9 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹).

Respecto del efecto de las semanas de desarrollo; en la semana 4 se registraron los valores de actividad más altos (11.0 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹) mientras que los valores más bajos, (2.6 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹), se registraron en la semana 22 y las semanas 8 y 41 mostraron valores de actividad intermedios, pero estadísticamente similares (7.9 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹ y 7.7 mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹).

Los valores de la actividad de NiR estimados en raíz por la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo se concentran en la Tabla 18.

Tabla 18. Comparación de medias de la actividad de NiR en raíz de tomate cv 'Merlice' bajo cultivo por hidroponía orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.0001*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Actividad de NiR (mg NO₂⁻ g⁻¹ proteína hr⁻¹ raíz)
Convencional, Semana 4	13.43 ± 1.21 a
Convencional, Semana 8	9.76 ± 0.225 b
Orgánico, Semana 4	8.54 ± 0.451 c
Orgánico, Semana 41	7.95 ± 0.383 d
Convencional, Semana 41	7.76 ± 0.310 d
Orgánico, Semana 8	5.18 ± 0.340 e
Convencional, Semana 22	3.25 ± 0.129 f
Orgánico, Semana 22	1.96 ± 0.083 g

Un aspecto que resalta de comparar las actividades de esta enzima en el sustrato y la raíz (Fig. 10a y 10b) es que, aunque los valores de actividad se encuentran

dentro de los rangos de valores estimados en ambos ambientes; las tendencias fueron diferentes, mientras en el sustrato la tendencia fue incrementar, en la raíz la tendencia fue a disminuir durante el ciclo de desarrollo. Aunque el sistema convencional mostró los valores más altos que el sistema orgánico hasta la semana 22. Pero esta correlación no se observó en la raíz. Si se consideran los nitritos como los sustratos de esta enzima se esperaría que estos disminuyeran durante el ciclo de cultivo y no ocurrió de esta forma. Esto parece sugerir que los nitritos generados en la raíz exceden la capacidad de reducción de ellos a amonio por la nitrito reductasa.

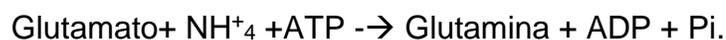
Se ha señalado, que la enzima nitrato reductasa (NR) tiene actividades laterales en las que puede catalizar la conversión de nitritos generados por la misma enzima a óxido nítrico (NO) el cual es canalizado para vías de señalización o su eliminación al ambiente (Lillo et al., 2004). La cuantificación de estos metabolitos no fue considerada en el presente trabajo.

Bonomelli et al., (2021) muestran datos en que a niveles altos de NH_4^+ en la solución nutritiva o ambiente radicular tiene efectos negativos en el desarrollo de plantas de tomate e inducen la deficiencia de calcio. Hay niveles de NH_4^+ (2–4 mM NH_4^+) que causan toxicidad, en tomate. estos autores señalan que dicha toxicidad podría deberse a una limitada capacidad de asimilación.

Los resultados aquí obtenidos sugieren la necesidad de realizar evaluaciones más detalladas para precisar los cursos que siguen los nitritos en el desarrollo del cultivo.

6.2.3. Cambios en la actividad de glutamina sintetasa (GS) en sustrato y raíz.

Esta enzima utiliza el NH_4^+ generado por la nitrato reductasa para que por una reacción de aminación el ácido glutámico se transforme en glutamina mediante la siguiente reacción (Jiang et al., 2023; Liaw et al., 1995; Wei et al., 2021).



Estas actividades pueden realizarse tanto en sustrato como en los tejidos de planta desde la raíz hasta sus hojas. A nivel sustrato, la comunidad microbiana tiene un gran aporte en estos procesos; por ello las actividades en sustrato que aquí se describen serán el resultado de la composición química y microbiológica que dichos ambientes tengan.

El análisis de varianza de los datos de actividad de GS en sustrato, (Tabla 19), no identificó efectos significativos de los sistemas de producción, pero si hubo efectos altamente significativos de las semanas de desarrollo y de la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo.

El sistema de cultivo no tuvo un efecto significativo en la actividad de esta enzima en sustrato. En promedio de las cuatro semanas de desarrollo, en el sistema convencional se registró una actividad de 365.61 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹. Mientras que en el sistema orgánico esta actividad fue de 359 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹

Tabla 19. Comparación de medias de la actividad de GS en sustratos de crecimiento de tomate orgánico y convencional en base fresca.

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.3528
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Cont de GS (UGS g⁻¹ proteína min⁻¹ sustrato)
Convencional, Semana 41	853.16 ± 17.34 a
Orgánico Semana 22	579.71 ± 10.48 b
Orgánico, Semana 41	465.02 ± 5.40 c
Convencional, Semana 22	250.70 ± 3.69 d
Convencional, Semana 4	208.40 ± 8.28 e
Orgánico, Semana 4	200.02 ± 4.71 e
Orgánico, Semana 8	192.66 ± 12.94 e
Convencional, Semana 8	150.20 ± 3.16 f

Respecto del efecto de las semanas de desarrollo, la actividad de esta enzima mostró cambios altamente significativos; los valores más altos se registraron en la semana 41 (659.09 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹), a esta le siguió el valor registrado en la semana 22 (415.19 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹), después en la semana 4 la actividad fue de 204.21 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹. La semana 8 registró la menor actividad (171.43 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹).

La interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo, también mostró efectos altamente significativos. El sistema convencional en la semana 41 registro los valores más altos (853.16 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹) y este mismo sistema también mostró los valores más bajos en las semana 8 (150.19 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹) El sistema orgánico, registro sus valores más altos en la semana 22 (465.02 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹) y sus valores más bajos en las semanas 4 y 8 (200.02 y 192.66 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹ respectivamente) sin diferencia entre esos dos valores (Tabla 19 y Fig. 11a).

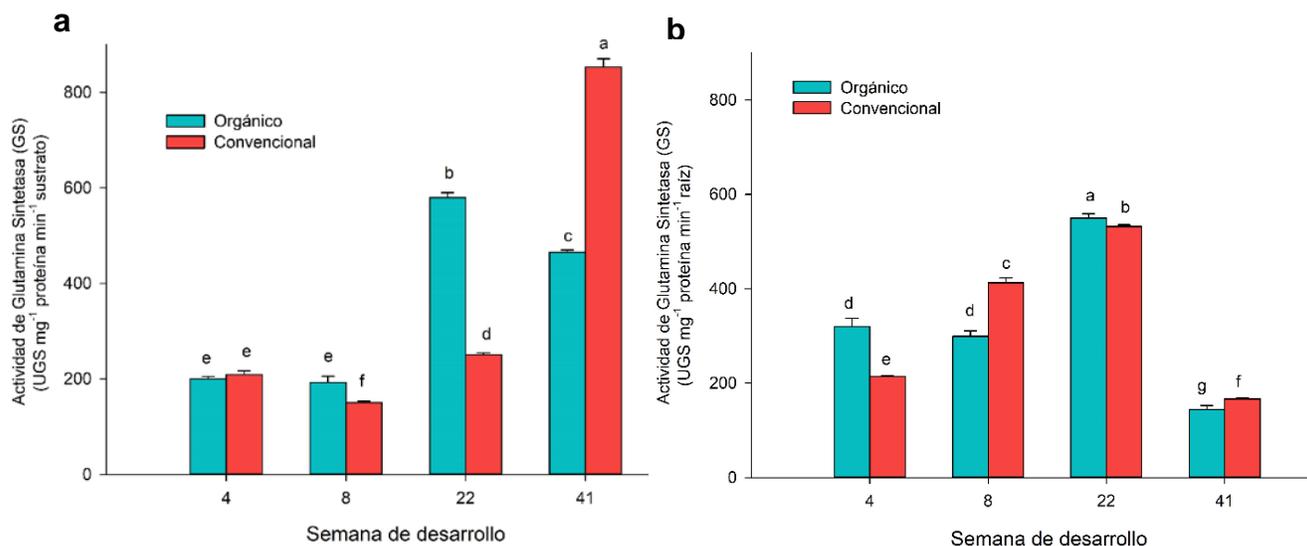


Fig. 11. Cambios en la actividad de Glutamina sintetasa (GS) en sustrato (a) y raíz (b). de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional. Los datos reflejan la media ± error estándar (n=15). Tukey (p ≤ 0.05).

En el sistema convencional, los suministros de amonio aportados por las solución nutritiva (Tabla 7) explican parcialmente las actividades registradas de GS hasta la semana 22; no obstante, no explican las altas actividades observadas en la semana 41; es posible que en el lapso de tiempo de la semana 22 hasta la 41 se presentaran cambios importantes en la microbiota del sustrato que incrementaron los ciclos de fijación de nitrógeno propiciando la formación de amonio y con este el correspondiente metabolismo hacia la formación de compuestos nitrogenados por los microorganismos presentes en el sustrato. Lo anterior, también pudiera ser la explicación para el sustrato orgánico, donde los cambios en la actividad GS se presentaron desde la semana 8. Esto sugiere que hay otras vías de aporte de sustrato para esta enzima como pudieran ser la microbiota asociada al sustrato.

En apoyo a estas observaciones, Resendiz-Nava et al., (2023) al estudiar los cambios de la microbiota en diferentes regiones de la planta de tomate cv 'Merlice' cultivada tanto sistema orgánico reportaron un considerable incremento en la abundancia relativa de las familias *Enterobacteriaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Pseudomonadaceae* *Rhizobiaceae*, *Rhodobacteraceae*, and *Xanthomonadaceae* en las cuales se encuentran varias especies de microorganismos fijadores de nitrógeno que eventualmente generarían el sustrato (NH_4^+) para esta enzima y explicando los incrementos de actividad mostrados en ese sistema.

Respecto del sistema convencional, también estos autores señalaron una mayor diversidad de familias lo cual también podría explicar la alta actividad de esta enzima en la semana 41.

Es muy posible que el cambio de actividad de GS en sustrato tenga alguna relación con la actividad que se presenta en interior de la raíz.

El análisis de varianza de los datos de actividad de GS en raíz, (Tabla 20), señaló efectos altamente significativos en las semanas de desarrollo y en la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo.

Sin mostrar diferencias significativas, en promedio de las cuatro semanas el sistema convencional registró una actividad de 365.61 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹ y el sistema orgánico 359 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹

Tabla 20. Comparación de medias de la actividad de GS en sistema radicular de tomate orgánico y convencional en base fresca.

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.6517
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*

Interacción Sist. cultivo *semana	Cont de GS (UGS g⁻¹ proteína min⁻¹ raíz)
Orgánico Semana 22	549.74 ± 9.17 a
Convencional, Semana 22	531.85 ± 3.72 b
Convencional, Semana 8	412.73 ± 10.07 c
Orgánico, Semana 4	319.67 ± 17.64 d
Orgánico, Semana 8	299.15 ± 11.70 d
Convencional, Semana 4	213.74 ± 1.85 e
Convencional, Semana 41	166.55 ± 1.81 f
Orgánico, Semana 41	144.06 ± 8.54 g

Respecto del efecto de las semanas de desarrollo, Se observaron incrementos significativos desde la semana 4 hasta la 22. En la semana 4 se registró una actividad de 266 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹; seguido de la semana 8 (355.94 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹); en la semana 22 continuó el incremento de actividad, registrándose 540 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹, siendo esta semana, donde se presentó la mayor actividad. Después de este máximo de actividad, se presentó la menor actividad registrada que correspondió a la semana 41 (155.307 UGS g⁻¹ proteína min⁻¹).

La interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo, también mostró efectos altamente significativos. Tanto el sistema convencional como el orgánico mostraron incrementos de esta actividad desde la semana 4 hasta la 22 (Tabla 21). Para

disminuir notablemente en la semana 41. Esta disminución contrasta con el incremento súbito mostrado en el sustrato (Fig. 11a y 11b)

Dado que uno de los sustratos de esta enzima es el amonio y este fue cuantificado en la raíz, estos dos resultados se pueden contrastar de forma gráfica (Fig. 8b y Fig. 11b). Dentro de las semanas 4 – 22, se observa que una baja actividad de GS se corresponde con altos contenidos de amonio, a su vez, una alta actividad se correlaciona con bajos contenidos de este metabolito. En la semana 41, también hubo una correlación similar baja actividad y alto contenido de amonio. Estos datos sugieren una interacción directa entre el sustrato y la actividad. No obstante, parece que el contenido del amonio tiene cierta independencia de la actividad de la enzima.

Estos datos parecen soportar lo observado por Liu et al., (2017) en raíces de plántulas de tomate donde observaron que la actividad de esta enzima estaba influida por la relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, donde una relación 50/50 inducía mayores actividades, mientras que relaciones 75/25 o 25/75 las disminuía. Estas relaciones pueden cambiar durante el cultivo dependiendo de las condiciones en que se desarrollen los microorganismos fijadores de N en el sustrato y por tanto del sistema de cultivo aplicado. Observaciones similares fueron descritas por Horchani et al., (2010) en plántulas de tomate 'Rio Grande' pero añaden que, bajo suministros continuos de amonio en la nutrición, este tiende a acumularse en la raíz y que en ese órgano si las concentraciones superan los 5 mM de amonio tuvieron efectos negativos en el crecimiento, así como la actividad de esta enzima. Estos datos podrían explicar los resultados obtenidos en este trabajo.

Dado que el sistema de nutrición orgánico incorporó mayores cantidades de amonio que el sistema convencional (Tabla 7), esto parece explicar porque se observan mayores acumulaciones de este metabolito en la raíz (Fig. 8b) y su efecto sobre la actividad de la enzima. A mayor concentración de amonio menor actividad de GS, No obstante, parece haber un efecto inhibitorio del amonio, por lo que, cuando disminuye el contenido de amonio en el sustrato, aumenta la actividad GS. Esto

sugiere que, en ambos sistemas, se alcanza una concentración de amonio que limita su actividad, tal como lo sugiere Horchani et al., (2010).

Los datos anteriores parecen sugerir que, entre los aportes de amonio y nitrato por las soluciones nutritivas y los aportes de este metabolito por el conjunto de microorganismos fijadores de nitrógeno en el sustrato, se rebasa la capacidad de esta enzima de fijar ese amonio en materia orgánica en la raíz. Es necesario realizar trabajos más específicos para demostrar esta propuesta y así tener un acercamiento más puntual del mecanismo de control general del metabolismo del nitrógeno en estos sistemas

La reducción de actividad de GS en la semana 41 podría estar asociado a un estado de senescencia de la planta, en la que se observa el cambio de removilización de nitrógeno, como lo sugieren Brugière et al., (2000) en hoja de tabaco. Esto también queda por confirmar puesto que se trata de órganos diferentes en su función biológica dentro de la planta.

6.2.4. Actividad de proteasa (PRT) en sustrato de crecimiento.

Esta enzima cataliza la hidrólisis o despolimerización de proteínas o polipéptidos en oligopéptidos y aminoácidos (Greenfield et al., 2021). El origen de estas enzimas en el sustrato puede ser diverso, pueden ser producidas por microorganismos presentes en el sustrato de crecimiento, esto siempre y cuando se produzcan las condiciones, como la presencia de metabolitos precursores de la actividad; o bien pueden ser excretadas por la propia planta. (Adamczyk, 2021; Greenfield et al., 2021)

El análisis de varianza de los datos de actividad de proteasas (PRT) en sustrato, (Tabla 21), señaló efectos altamente significativos del sistema de cultivo, de las semanas de desarrollo y de la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo.

Tabla 21. Comparación de medias de la actividad de PRT en sustrato de crecimiento de tomate orgánico y convencional en base fresca.

Factor	Nivel de significancia ($p \leq 0.05$)
Sistema de cultivo	0.0001*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción Sist. cultivo *semana	Actividad de PRT (mg tyr g ⁻¹ proteína hr ⁻¹)
Convencional, Semana 41	4464.01 ± 108.29 a
Orgánico, Semana 41	3669.77 ± 122.40 b
Orgánico, Semana 22	2915.98 ± 106.60 c
Orgánico, Semana 8	1525.24 ± 52.97 d
Convencional, Semana 22	1172.77 ± 46.45 e
Orgánico, Semana 4	772.94 ± 51.62 f
Convencional, Semana 8	706.63 ± 37.24 f
Convencional, Semana 4	221.49 ± 10.09 g

La actividad de proteasa en sustrato en promedio de las cuatro semanas evaluadas fue estadísticamente mayor en el sistema orgánico (2220.98 mg tyr g⁻¹ proteína hr⁻¹) comparado con el sistema convencional (1641.22 mg tyr g⁻¹ proteína hr⁻¹).

Respecto al efecto de las semanas de desarrollo, la actividad de esta enzima incrementó conforme a transcurrió el desarrollo del cultivo, registrándose en la semana 4 una actividad de 497 mg tyr g⁻¹ proteína hr⁻¹. seguido de la semana 8 (1115.94 mg tyr g⁻¹ proteína hr⁻¹). Durante la semana 22 la actividad continuó incrementando, determinándose 2044.37 mg tyr g⁻¹ proteína hr⁻¹. Finalmente, en la semana 41, se registró el pico de actividad más alto (4066.89 mg tyr g⁻¹ proteína hr⁻¹).

En la interacción sistema de cultivo*semana, en general se observó un incremento de esta actividad desde la semana 4 hasta la 41 (Tabla 21 y Fig. 12).

En estudios de esta actividad en suelo, la actividad de proteasas es de vital importancia ya que se indica que alrededor de la mitad del N del suelo se encuentra en forma de proteínas y solo una quinta parte se encuentra en forma de nitrógeno orgánico (Adamczyk, 2021). En este estudio de cultivo hidropónico, el aporte de materia orgánica que se suministra al sistema durante todo el ciclo de desarrollo influyó de manera directa en la actividad de esta enzima. Esto sugiere que el contenido de proteínas se incrementa y por ello también incrementa la actividad PRT (Fig. 12).

Los productos de la actividad de esta enzima, podrían ser absorbidos directamente por la raíz como péptidos o como aminoácidos como lo señalan varios autores (Adamczyk, 2021; Paungfoo-Lonhienne et al., 2008). En los que se han descrito la participación de amplia variedad de transportadores de aminoácidos como ATF, APC y UMAMIT (Yang et al., 2020). En tomate la absorción directa de aminoácidos ha sido evaluada por Ge et al., (2009) quienes confirmaron la absorción directa del aminoácido glicina.

De acuerdo con estos datos, es posible la asimilación directa de aminoácidos, pero no se sabe cuál es el efecto o la interacción de este transporte en el transporte de NO₃⁻ y NH₄⁺. Por ello, es necesario evaluar el papel de estos transportadores en la

raíz y y aportar conocimiento para definir su importancia en el metabolismo general del nitrógeno en este cultivo.

Se sabe que durante la senescencia de plantas, se incrementa el catabolismo de las proteínas (Brugière et al., 2000), pero no se sabe si dicho estado tenga un efecto a nivel de la rizosfera y que esto influya en la mayor actividad mostrada en la semana 41 (Fig. 12).

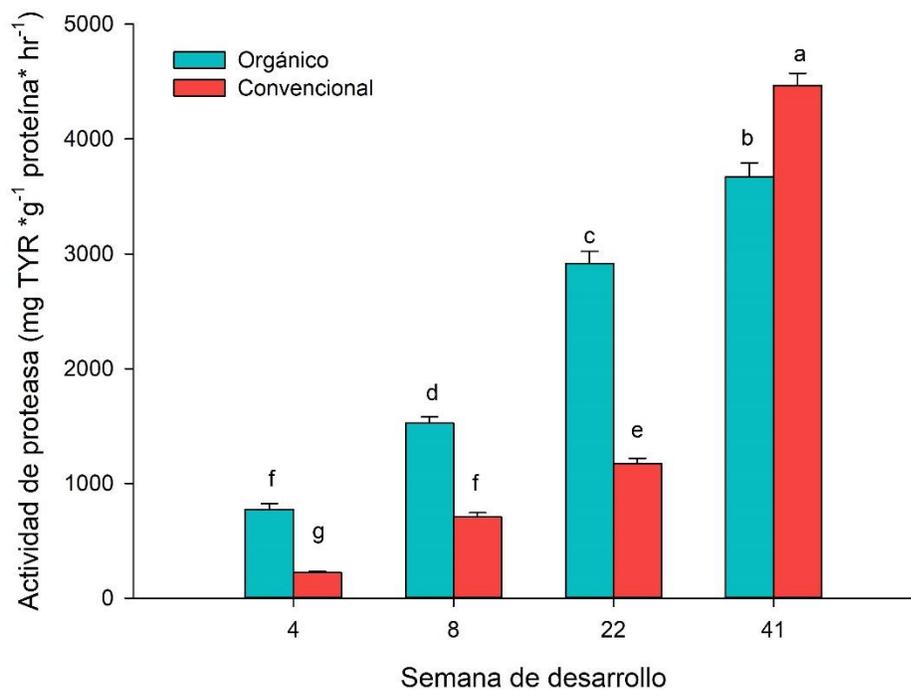


Fig. 12. Cambios en la actividad proteasa en sustrato de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional. Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=15). Tukey ($p \leq 0.05$).

6.3. Efecto del metabolismo del nitrógeno sobre los rasgos morfológicos de la planta.

De los parámetros fisiológicos evaluados en ambos sistemas de producción, el área foliar y el diámetro del tallo de la planta fueron los parámetros en donde se observó que el sistema de producción tuvo efectos significativos, por ello en este trabajo se presentan los resultados de ellos.

6.3.1. Área foliar.

El análisis de varianza de los datos de área foliar (Tabla 22), señaló efectos altamente significativos del sistema de cultivo, de las semanas de desarrollo y de la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo.

Tabla 22. Comparación de medias de área foliar de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia ($p \leq 0.05$)
Sistema de cultivo	0.0001*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*

Interacción Sist. cultivo * semana	Área foliar (cm ²)
Orgánico, Semana 22	1468.07 ± 73.53 a
Orgánico, Semana 8	1253.70 ± 64.54 b
Convencional, Semana 22	912.83 ± 51.07 c
Orgánico, Semana 41	764.50 ± 27.75 d
Convencional, Semana 8	730.75 ± 56.06 d
Convencional, Semana 41	560.49 ± 34.23 e
Orgánico, Semana 4	444.93 ± 27.29 f
Convencional, Semana 4	277.15 ± 15.47 g

El sistema de cultivo tuvo un efecto altamente significativo en el área foliar. En promedio de las cuatro semanas evaluadas, el sistema orgánico registró la mayor área foliar (982.80 cm²), comparado con el sistema convencional que registró un menor valor (620.309 cm²).

En cuanto a la semana de desarrollo esta también tuvo un efecto significativo. En la semana 4, el área foliar fue de 361.05 cm², en la semana 8 el área fue de 992.23 cm² y en la semana 22 se registró el mayor crecimiento (1190.46 cm²). No obstante, en la semana 41 el área disminuyó (662.50 cm²) (Fig. 13a).

Respecto a la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo, el sistema orgánico registró las mayores áreas en comparación al sistema convencional durante todo el ciclo de desarrollo del cultivo (Tabla 22). No obstante, ambos sistemas de cultivo mostraron un incremento del área foliar dentro de las semanas 4 y 22 aunque ese crecimiento fue mayor en el sistema orgánico. (Tabla 22 y Fig 13a).

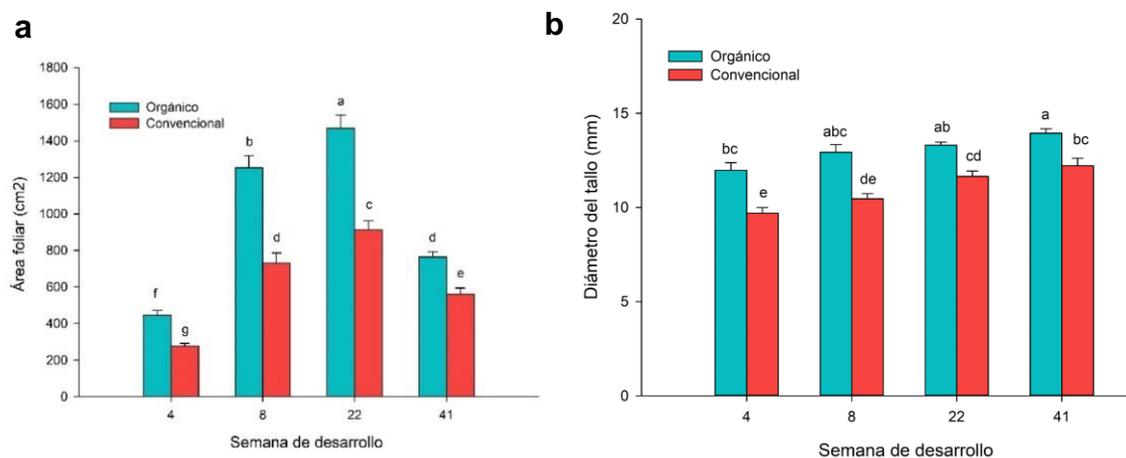


Fig. 13. Efecto del metabolismo del nitrógeno sobre los rasgos morfológicos de la planta. Área foliar (a); diámetro del tallo (b). Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=15). Tukey ($p \leq 0.05$)

6.3.2. Diámetro del tallo.

El análisis de varianza de los datos de diámetro del tallo (Tabla 23), señaló efectos altamente significativos del sistema de cultivo, de las semanas de desarrollo y de la interacción sistema de cultivo*semana de desarrollo.

Tabla 23. Comparación de medias de diámetro del tallo de plantas de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.0001*
Semana de desarrollo del cultivo	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0403*

Interacción	Diámetro del tallo (mm)
Sist. cultivo * semana	
Orgánico, Semana 41	13.94 ± 0.233 a
Orgánico, Semana 22	13.30 ± 0.167 ab
Orgánico, Semana 8	12.93 ± 0.407 abc
Convencional, Semana 41	12.22 ± 0.395 bc
Orgánico, Semana 4	11.97 ± 0.404 bc
Convencional, Semana 22	11.64 ± 0.282 cd
Convencional, Semana 8	10.46 ± 0.273 de
Convencional, Semana 4	9.70 ± 0.294 e

El sistema de cultivo tuvo un efecto sobre esta variable siendo el diámetro mayor en el sistema orgánico registrándose en promedio de las cuatro semanas un diámetro de 13.04 mm. Mientras que en el sistema convencional se registró un diámetro de 11.00 mm (Fig. 13b)

Durante las semanas de desarrollo, también se registró un efecto altamente significativo de esta variable, de manera lógica, el grosor se incrementó a medida que transcurrió el ciclo de cultivo. En la semana 4, se registraron los valores más pequeños (10.83) mm; a los que siguieron los registrados en la semana 8, 22 y 41 (11.70 mm; 12.47 mm y 13.08 mm, respectivamente).

Tomando en conjunto los efectos señalados en el área foliar y el diámetro de tallo (Fig. 13) de los sistemas de cultivo durante el ciclo de desarrollo se puede señalar lo siguiente: el mayor crecimiento de las hojas y del diámetro del tallo en el sistema orgánico podría ser atribuido a la alta concentración de NH⁺₄ suministrada en la

solución nutritiva (Tabla 7), así como del NH_4^+ disponible generado dentro del metabolismo de nitrógeno en sustrato y raíz. Esta aseveración está sustentada con lo reportado por Yang et al., (2020) en plántulas de arroz donde observaron que un incremento en los niveles exógenos de NH_4^+ , favorecieron el incremento en los niveles de NH_4^+ en raíz y tallo de la planta de arroz.

No obstante, el NH_4^+ es un metabolito que tiene múltiples acciones en diferentes rutas metabólicas como señalizador e inductor de cambios en la estructura de la planta en su conjunto y de manera particular en la raíz

Las altos suministros de NH_4^+ , pueden inducir el crecimiento vegetativo a través de la reacción reversible de la enzima NiR, la cual generaría NO_2^- a partir del NH_4^+ que es posteriormente metabolizado por la NR, generando así óxido nítrico, el cual se ha demostrado ejerce un efecto positivo en la expresión de genes asociados al desarrollo vegetativo (Podgórska et al., 2020; Simontacchi et al., 2015)

Además, el NH_4^+ está asociado a la producción de ROS. Se tiene evidencia que, la expansión de las células de las hojas requiere cambios en la estructura y contenido de la pared celular. Estos cambios están mediados por peroxidasas asociadas a gradientes de ROS. (Lee et al., 2013). Esto podría sugerir también una explicación al mayor mayor crecimiento vegetativo en el sistema orgánico. (Liu & von Wirén, 2017).

6.3.4. Número de racimos. El promedio de racimos fue de 6 racimos por planta. Sin encontrar diferencias entre sistemas de producción (Tabla 24).

6.3.5. Número de frutos. El promedio de frutos por planta fue de 24 frutos. Sin encontrar diferencias entre sistemas de producción (Tabla 24).

6.3.6. Altura de la planta. El sistema de producción no tuvo efecto sobre la altura de la planta. Siendo en promedio una altura de ~840 cm en ambos sistemas (Tabla 24).

Tabla 24. Rasgos morfológicos sin efecto del sistema de producción. Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=5). Tukey ($p \leq 0.05$).

	Orgánico				Convencional			
	Semana 4	Semana 8	Semana 22	Semana 41	Semana 4	Semana 8	Semana 22	Semana 41
Número de hojas por planta	4.222 \pm 0.099 d	7.556 \pm 0.179 c	10.444 \pm 0.131 b	14.333 \pm 0.172 a	5.889 \pm 0.217 cd	8.333 \pm 0.298 bc	10.667 \pm 0.479 b	14.222 \pm 0.302 a
Número de racimos por planta	Sin dato	Sin dato	8.000 \pm 0.086 c	8.333 \pm 0.086 b	Sin dato	Sin dato	7.778 \pm 0.099 d	8.889 \pm 0.131 a
Carga de la planta	Sin dato	Sin dato	34.222 \pm 0.348 b	33.889 \pm 0.248 bd	Sin dato	Sin dato	33.111 \pm 0.326 c	36.111 \pm 0.519 a

6.4. Efecto del metabolismo del nitrógeno sobre los parámetros de vida de anaquel del fruto de tomate.

En el presente estudio, se realizó una comparación de vida de anaquel de frutos procedentes de plantas de tomate 'Merlice' cultivadas en los mismos invernaderos donde estuvieron ubicados las plantas del estudio general. El procedimiento metodológico para realizarlo fue referido en la sección correspondiente.

Dadas las restricciones de acceso fitosanitario a los invernaderos de cultivo orgánico; la cantidad de frutos de esta condición también fue restringida y de forma automática también condicionó el número de frutos del sistema convencional, esto para obtener una muestra representativa para el conjunto de frutos a evaluar. Por lo que los resultados aquí descritos se refieren a un total de 25 frutos de cada sistema de cultivo con lo que la unidad experimental para cada periodo de muestreo fue de 1 fruto con 5 réplicas. Esto representó una fuerte limitante para analizar las

unidades experimentales que se recomiendan válidas para un estudio de poscosecha (10 frutos con tres replicas).

Por ello los resultados aquí informados corresponden a esas condiciones experimentales.

Los análisis estadísticos aquí incluidos se refieren a los parámetros de calidad que tuvieron significancia estadística. Durante los 20 días de almacenamiento a 12 °C, el sistema de cultivo tuvo un efecto significativo en el: porcentaje de pérdida de peso y en los valores del color de los frutos a^* y L^* de la escala de color CIElab.

Porcentaje de pérdida de peso. El análisis de varianza de los datos de porcentaje de pérdida de peso (Tabla 25), señaló efectos altamente significativos del sistema de cultivo, los días de almacenamiento y de la interacción sistema de cultivo*día de almacenamiento.

Tabla 25. Comparación de medias del porcentaje de pérdida de peso de frutos de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia ($p \leq 0.05$)
Sistema de cultivo	0.0001*
Día de almacenamiento	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0224*

Interacción	Porcentaje pérdida de peso (%)
Sist. cultivo * día de almacenamiento	
Convencional, Día 20	10.50 ± 0.830 a
Convencional, Día 15	8.35 ± 0.649 b
Orgánico, Día 20	7.72 ± 0.416 bc
Orgánico, Día 15	6.29 ± 0.346 bcd
Convencional, Día 10	5.58 ± 0.643 cd
Orgánico, Día 10	4.65 ± 0.256 de
Convencional, Día 5	3.22 ± 0.361 e
Orgánico, Día 5	2.71 ± 0.140 e

El sistema de cultivo tuvo un efecto significativo en la pérdida de peso. En promedio de los 20 días de almacenamiento, los frutos del sistema convencional mostraron una mayor pérdida de peso (5.53%). Mientras que los frutos provenientes del sistema orgánico perdieron solamente el 4.27%.

En cuanto a los días de almacenamiento, la pérdida de peso se incrementó conforme transcurrió el almacenamiento; en el día 5 hubo una pérdida de peso de 2.96%; el día diez 5.12 %; el día quince 7.32 % y día veinte 9.11%.

Respecto a la interacción sistema de cultivo*día de almacenamiento durante los 20 días de almacenamiento a 12 °C, se registró un alto porcentaje de pérdida de peso en ambos sistemas el cultivo, pero con mayor porcentaje en el sistema convencional (Tabla 25 y Fig. 14)

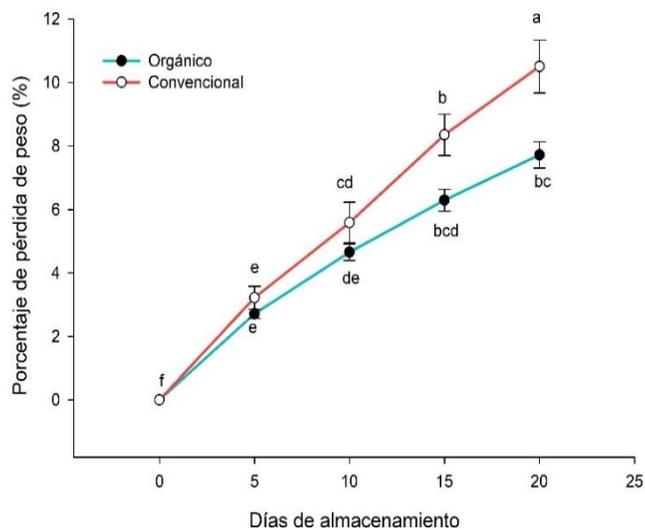


Fig. 14. Evolución de la pérdida de peso en frutos de tomate orgánico y convencional almacenados a 12°C. Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=5). Tukey ($p \leq 0.05$).

Con lo cual, se podría aseverar que los frutos del sistema convencional perdieron peso más rápidamente. De acuerdo con la literatura, la pérdida de peso de los frutos

es debido a la disminución en la turgencia y la firmeza; lo anterior se ha reportado en frutos con pérdida del contenido de agua a partir del 2 y 7% (Chilson et al., 2011). Lo cual concuerda con nuestro estudio ya que el porcentaje de pérdida de peso comenzó a incrementar alrededor del 5%.

Color: valores a*. El análisis de varianza de los datos de color: valores de a* (Tabla 26), señaló efectos altamente significativos del sistema de cultivo, de los días de almacenamiento y de la interacción sistema de cultivo*día de almacenamiento.

Tabla 26. Comparación de medias del color: valores a* de frutos de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia (p ≤ 0.05)
Sistema de cultivo	0.0001*
Día de almacenamiento	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*

Interacción	Color: a*
Sist. cultivo * día de almacenamiento	
Convencional, Día 15	24.84 ± 0.331 a
Convencional, Día 20	23.23 ± 0.451 b
Orgánico, Día 20	22.25 ± 0.500 c
Orgánico, Día 15	19.99 ± 0.351 d
Orgánico, Día 10	15.34 ± 0.80 e
Convencional, Día 10	15.21 ± 0.629 e
Convencional, Día 5	7.87 ± 0.484 f
Orgánico, Día 5	6.94 ± 0.749 f
Convencional, Día 0	1.37 ± 0.338 g
Orgánico, Día 0	0.38 ± 0.352 h

En la evaluación de este parámetro en promedio de las cuatro semanas, el valor de a* fue mayor en el sistema convencional (14.50) comparado con en el sistema orgánico que registró un valor de 12.83.

En cuanto a los días de almacenamiento considerando ambos sistemas de cultivo, se observó que el color cambió rápidamente del día 0 al 5 registrándose un valor de 7.40; el color continuó incrementando y en el día 15 se registró un valor de 22.42, el cual se mantuvo hasta el día 20.

Respecto a la interacción sistema de cultivo*día de almacenamiento, los valores más altos se evidenciaron en el día 15 y 20 de ambos sistemas de cultivo, sin embargo, el sistema convencional mostró valores más altos (24.84 y 23.23). Mientras que, en el sistema orgánico en los mismos días: 19.99 y 22.25. Durante esos días los frutos ya se encontraban en un estado de madurez completo. En el día 10 se registraron valores de 15.34 y 15.21 en el sistema orgánico y convencional respectivamente, sin diferencia significativa entre sistemas de cultivo. Durante el día 5 de igual forma no hubo diferencias entre sistemas de cultivo. Y durante el día 0, se registraron valores de 0.38 y 1.37 en el sistema orgánico y convencional respectivamente.

En la escala de color CIElab, el índice a^* indica valores de verde a rojo. Este se evidenció incrementado en el sistema convencional en un 11% comparado con el sistema orgánico (Fig 15a). De acuerdo con (Pandurangaiah et al., 2020), el valor de a^* , tiene una correlación positiva con el contenido de licopeno. Por lo tanto, se podría inferir que el valor alto de a^* en los frutos convencionales es debido a un mayor incremento en el contenido de licopeno.

Así mismo, el valor de a^* disminuido en el sistema orgánico podría estar asociado con valores disminuidos del contenido de licopeno. Dicha disminución podría estar atribuida a la actividad de enzimas participantes en la síntesis de carotenos, tal como la Fitoeno sintasa (*Psy1*) y β ciclasa (*L β cyc1*) (Sharpe et al., 2020). Sharpe et al., (2020) evidenciaron que un mayor contenido de licopeno (12%) encontrado en frutos de tomate orgánicos comparados con frutos convencionales se atribuía a una baja expresión de las ciclasas en la síntesis de carotenoides. De tal forma que

esta evidencia en la literatura podría darnos un acercamiento para justificar el menor valor de a^* encontrado en los frutos orgánicos.

Color: valores de L^* . El análisis de varianza de los datos de color: valores de a^* (Tabla 27), señaló efectos altamente significativos del sistema de cultivo, de los días de almacenamiento y de la interacción sistema de cultivo*día de almacenamiento.

Tabla 27. Comparación de medias del color: valores L^* de frutos de tomate cv 'Merlice' cultivados por hidroponía en sistemas orgánico y convencional.

Factor	Nivel de significancia ($p \leq 0.05$)
Sistema de cultivo	0.0001*
Día de almacenamiento	0.0001*
Sistema cultivo*semana	0.0001*
Interacción	Color: L^*
Sist. cultivo * día de almacenamiento	
Orgánico, Día 0	44.74 ± 0.413 a
Convencional, Día 0	43.98 ± 0.355 ab
Orgánico, Día 10	42.66 ± 0.551 ab
Convencional, Día 5	42.59 ± 0.346 c
Orgánico, Día 5	42.20 ± 0.490 b
Orgánico, Día 15	39.89 ± 0.548 d
Convencional, Día 10	39.56 ± 0.644 e
Convencional, Día 20	38.83 ± 0.320 e
Orgánico, Día 20	38.11 ± 0.522 f
Convencional, Día 15	33.94 ± 0.481 f

Este índice de luminosidad se evidenció mayormente en el sistema orgánico (41.52) (Fig. 15b). Mientras que en el sistema convencional se registraron valores de 39.78.

En cuanto a los días de almacenamiento, los valores disminuyeron conforme avanzaba el día de almacenamiento, a excepción del día 20 donde se registró un

aumento en el sistema convencional. En el día 0 se registraron valores de 44.36; en el día 5, 42.40. Para la mitad del periodo de almacenamiento se registró un valor de 41.11. A partir del día 15 se registró una disminución hasta 36.91 y luego en el día 20 un ligero aumento (38.47).

Respecto a la interacción sistema de cultivo*día de almacenamiento, los valores más altos de luminosidad en los frutos se registraron en los primeros días: 44.74 y 43.98 en frutos orgánicos y convencionales respectivamente. A partir del día 5, los frutos convencionales registraron valores disminuidos. En contra parte con los frutos orgánicos, que comenzaron a perder brillo a partir del día 10. Llegando al día 20 con valores de 38 sin diferencia entre sistemas de cultivo (Tabla 27 y Fig. 15b).

De acuerdo con (Chilson et al., 2011), frutos con valores altos de L^* serán frutos color rojo claro y en contra parte, valores bajos, serán frutos color rojo oscuro. De tal forma que en nuestro estudio los frutos provenientes del sistema convencional fueron frutos ligeramente color rojo oscuro y los frutos orgánicos fueron frutos color rojo claro. Lo cual concuerda con los valores altos (+11%) obtenidos de a^* en frutos convencionales, ya que se ha evidenciado que, cuando el color rojo comienza a sintetizarse, los valores de L^* se verán disminuidos, indicando un oscurecimiento en el color rojo (López Camelo & Gómez, 2004).

Por otro lado, en los parámetros de firmeza, grados Brix ($^{\circ}$ Brix), e índice de color Delta E (Tabla 28), el sistema de producción no tuvo un efecto sobre los frutos. Sin embargo, cabe resaltar que, aunque la diferencia evidenciada en firmeza no fue significativa, los valores que se determinaron en los frutos orgánicos fueron 13% mayores en comparación con los frutos convencionales. Dicha diferencia se evidenció a partir del día 5 ya que el valor en el día 0 no tuvo un efecto significativo. No obstante, a partir del día 5, la firmeza disminuyó más rápido en los frutos convencionales. Lo anterior se podría atribuir al porcentaje de pérdida de peso,

donde se observó que los frutos orgánicos pierden peso lentamente en comparación con los convencionales.

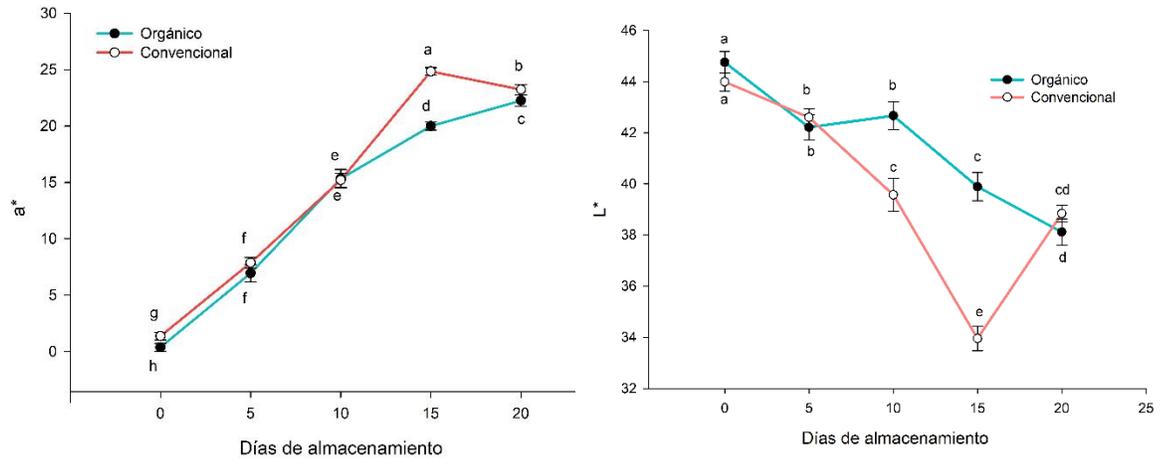


Fig. 15. Cambios en los valores de a^* (a) y L^* (b) en frutos de tomate orgánico y convencional. Los datos reflejan la media \pm error estándar (n=5). Tukey ($p \leq 0.05$).

Tabla 28. Parámetros de calidad evaluados en frutos de tomate orgánico y convencional.

Sistema de producción	Días de almacenamiento	Parámetro de calidad			
		Firmeza (N)	Color Delta E	Acidez titulable (%)	°Brix
Orgánico	Día 0	26.84 ± 2.73 ab	0	0.42 ± 0.02 b	0.25 ± 0.01 cde
	Día 5	23.07 ± 2.19 abc	9.60 ± 0.67 d	0.47 ± 0.01 ab	0.22 ± 0.01 e
	Día 10	19.90 ± 2.11 abcd	16.68 ± 0.84 c	0.53 ± 0.02 ab	0.34 ± 0.02 abc
	Día 15	14.62 ± 0.93 cd	21.74 ± 0.61 b	0.43 ± 0.007 b	0.34 ± 0.01 abc
	Día 20	14.50 ± 0.83 cd	24.23 ± 0.70 b	0.43 ± 0.01 ab	0.35 ± 0.01 a
Convencional	Día 0	29.76 ± 4.65 a	0	0.49 ± 0.06 ab	0.26 ± 0.01 bcde
	Día 5	18.45 ± 0.83 bcd	8.89 ± 0.67 d	0.52 ± 0.01 ab	0.25 ± 0.01 de
	Día 10	13.06 ± 0.65 cd	16.20 ± 0.72 c	0.53 ± 0.02 ab	0.31 ± 0.02 abcd
	Día 15	12.17 ± 1.42 d	26.20 ± 0.34 a	0.55 ± 0.01 a	0.35 ± 0.02 ab
	Día 20	12.57 ± 1.71 d	23.37 ± 0.55 b	0.49 ± 0.009 ab	0.39 ± 0.01 a

7. Conclusión.

Los resultados del presente trabajo permitieron identificar las siguientes conclusiones.

Los análisis de composición de las soluciones nutritivas aplicadas en ambos sistemas de producción, permitió señalar que, durante todo el ciclo de cultivo, el sistema orgánico recibió mayor cantidad de nutrientes respecto del sistema convencional. Destacándose una mayor aplicación de NO_3^- (15%) y NH_4^+ (70%). Adicionalmente, los análisis de los drenajes de ambos sistemas indican que la absorción de nutrientes, durante las cuatro semanas evaluadas, a excepción de la semana 8, se llevó a cabo de forma mayoritaria en el sistema orgánico, ya que la concentración de nutrientes en la solución de drenaje fue menor hasta en un 50% comparada con la solución de entrada. En contra parte con el sistema convencional donde la solución de drenaje en las cuatro semanas se evidenció en una concentración similar o incluso mayoritaria, lo que nos podría sugerir una posible concentración de nutrientes en el sustrato de crecimiento del sistema convencional. Este fenómeno en el sistema orgánico podría estar asociado a una mayor demanda de nutrientes por parte de microorganismos asociados al cultivo, de tal forma que estos microorganismos podrían estar asimilando y transformando principalmente el NO_3^- y NH_4^+ generando así mayores compuestos nitrogenados para la planta, los cuales no se están asimilando correctamente. Sin embargo, nuestros resultados no permiten generar una correlación concluyente entre la microbiota asociada al cultivo orgánico y la metabolización del nitrógeno.

Estas diferencias en los aportes de nutrientes evidenciaron un efecto importante en el metabolismo del nitrógeno en el sistema radicular. Ya que se confirma que el nitrógeno está en constante transformación y se encuentra involucrado en un ciclo dinámico en la rizosfera. En ambos sistemas de cultivo, esta dinamicidad sugirió un transporte activo de NO_3^- desde los sustratos de crecimiento hacia la raíz, lo cual generó una alta concentración de este metabolito al interior de la raíz (30%). A su vez, estas diferencias en el contenido de NO_3^- también provocaron diferencias en la

actividad de enzimas tal como la NR, ya que las mayores actividades se registraron en la raíz. Dicha actividad se propició debido al mayor contenido de NO_3^- suministrado, así como el disponible en raíz orgánica. No obstante, la actividad de la NR parece estar regulada por procesos de senescencia celular que propicia la salida de NO_3^- de la vacuola hacia el citosol, lo que pudo haber provocado una posible reactivación de la NR. Dicho evento se observó en la semana 41 de nuestro estudio.

En el sistema orgánico, la generación de NO_2^- por la NR y su posterior transformación a NH_4^+ en la raíz pareció superar la capacidad de la NiR para convertirlos a NH_4^+ . Ya que es posible que esos NO_2^- por medio de una regulación negativa de la NR fueran metabolizados para la formación de óxido nítrico. De tal forma que este óxido nítrico pudo ser el responsable del mayor crecimiento vegetativo (área foliar) evidenciado en el sistema orgánico.

En cuanto a los frutos, el sistema de cultivo mostró tener un efecto significativo sobre los parámetros de porcentaje de pérdida de peso, así como en color. Los frutos provenientes del sistema orgánico mostraron una tendencia de menor pérdida de peso, lo cual podría estar asociado a una mayor firmeza, parámetro en el cual no se observó una diferencia significativa; sin embargo, la firmeza de los frutos orgánicos fue ligeramente mayor (13 %). Lo cual a su vez podría estar relacionado a una mayor concentración de Ca^{+2} y NO_3^- suministrado y disponible en el sistema orgánico. En cuanto al color, el menor color rojo evidenciado en los frutos orgánicos está asociado directamente al contenido de licopeno. Sin embargo, dado el alto contenido de NH_4^+ evidenciado en el sistema orgánico, se podría estar interfiriendo en la actividad de enzimas clave de la síntesis de carotenos. No obstante, estos resultados encontrados en frutos no son concluyentes debido al número de frutos empleados. De tal forma que es necesario un análisis con un mayor número de frutos para corroborar los efectos del sistema de cultivo.

7. Referencias bibliográficas

- Adamczyk, B. (2021). Root-Derived Proteases as a Plant Tool to Access Soil Organic Nitrogen; Current Stage of Knowledge and Controversies. *Plants*, 10(4), 731. <https://doi.org/10.3390/plants10040731>
- Allègre, A., Silvestre, J., Morard, P., Kallerhoff, J., & Pinelli, E. (2004). Nitrate reductase regulation in tomato roots by exogenous nitrate: A possible role in tolerance to long-term root anoxia. *Journal of Experimental Botany*, 55(408), 2625-2634. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh258>
- Anas, M., Liao, F., Verma, K. K., Sarwar, M. A., Mahmood, A., Chen, Z.-L., Li, Q., Zeng, X.-P., Liu, Y., & Li, Y.-R. (2020). Fate of nitrogen in agriculture and environment: Agronomic, eco-physiological and molecular approaches to improve nitrogen use efficiency. *Biological Research*, 53(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s40659-020-00312-4>
- Balotf, S., Kavooosi, G., & Kholdebarin, B. (2016). Nitrate reductase, nitrite reductase, glutamine synthetase, and glutamate synthase expression and activity in response to different nitrogen sources in nitrogen-starved wheat seedlings. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 63(2), 220-229. <https://doi.org/10.1002/bab.1362>
- Belcher, R., Macdonald, A. M. G., & Parry, E. (1957). On mohr's method for the determination of chlorides. *Analytica Chimica Acta*, 16, 524-529. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)89979-1](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)89979-1)

- Bonomelli, C., de Freitas, S. T., Aguilera, C., Palma, C., Garay, R., Dides, M., Brossard, N., & O'Brien, J. A. (2021). Ammonium Excess Leads to Ca Restrictions, Morphological Changes, and Nutritional Imbalances in Tomato Plants, Which Can Be Monitored by the N/Ca Ratio. *Agronomy*, 11(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071437>
- Boschiero, M., De Laurentiis, V., Caldeira, C., & Sala, S. (2023). Comparison of organic and conventional cropping systems: A systematic review of life cycle assessment studies. *Environmental Impact Assessment Review*, 102, 107187. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2023.107187>
- Botrel, A., & Kaiser, W. M. (1997). Nitrate reductase activation state in barley roots in relation to the energy and carbohydrate status. *Planta*, 201(4), 496-501. <https://doi.org/10.1007/s004250050094>
- Bowsher, C., Tobin, A., & Steer, M. (2008). Nitrogen and Sulfur Metabolism. En *Plant Biochemistry* (1st ed., pp. 237-300). Garland Science.
- Bradford, M. M. (1976). *A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding*. 7.
- Bräutigam, A., Gagneul, D., & Weber, A. P. M. (2007). High-throughput colorimetric method for the parallel assay of glyoxylic acid and ammonium in a single extract. *Analytical Biochemistry*, 362(1), 151-153. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.12.033>

- Britto, D. T., & Kronzucker, H. J. (2002). NH₄⁺ toxicity in higher plants: A critical review. *Journal of Plant Physiology*, 159(6), 567-584. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-0774>
- Brugière, N., Dubois, F., Masclaux, C., Sangwan, R. S., & Hirel, B. (2000). Immunolocalization of glutamine synthetase in senescing tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaves suggests that ammonia assimilation is progressively shifted to the mesophyll cytosol. *Planta*, 211(4), 519-527. <https://doi.org/10.1007/s004250000309>
- Bugbee, B. (2004). NUTRIENT MANAGEMENT IN RECIRCULATING HYDROPONIC CULTURE. *Acta Horticulturae*, 648, 99-112. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.648.12>
- Caballero-Mellado, J., Onofre-Lemus, J., Estrada-de los Santos, P., & Martínez-Aguilar, L. (2007). The Tomato Rhizosphere, an Environment Rich in Nitrogen-Fixing Burkholderia Species with Capabilities of Interest for Agriculture and Bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(16), 5308-5319. <https://doi.org/10.1128/AEM.00324-07>
- Cataldo, D. A., Maroon, M., Schrader, L. E., & Youngs, V. L. (1975). Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 6(1), 71-80. <https://doi.org/10.1080/00103627509366547>
- Chen, K.-E., Chen, H.-Y., Tseng, C.-S., & Tsay, Y.-F. (2020). Improving nitrogen use efficiency by manipulating nitrate remobilization in plants. *Nature Plants*, 6(9), 1126-1135. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-00758-0>

- Chilson, D., Delgado, A., & Nunes, M. C. (2011). Shelf Life of Cluster Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) Stored at a Non-chilling Temperature and Different Relative Humidity Levels. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, *124*, 246-255.
- Coskun, D., Britto, D. T., Shi, W., & Kronzucker, H. J. (2017). Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition. *Nature Plants*, *3*(6), 17074. <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.74>
- Daims, H., Lückner, S., & Wagner, M. (2016). A New Perspective on Microbes Formerly Known as Nitrite-Oxidizing Bacteria. *Trends in microbiology*, *24*(9), 699-712. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.05.004>
- Endo, M., Yoshikawa, E., Nemoto, S., Takahashi, Y., Sakai, K., Mizuguchi, H., Sasaki, A., Sugawara, K., Sato, K., & Ihara, T. (2013). Simple and Rapid Determination of Boron in the Wastewater with Azomethine H Using Accelerating Effect of Ammonium Ion. *Journal of Water and Environment Technology*, *11*(4), 355-365. <https://doi.org/10.2965/jwet.2013.355>
- Eyhorn, F., Muller, A., Reganold, J. P., Frison, E., Herren, H. R., Lutikholt, L., Mueller, A., Sanders, J., Scialabba, N. E.-H., Seufert, V., & Smith, P. (2019). Sustainability in global agriculture driven by organic farming. *Nature Sustainability*, *2*(4), 253-255. <https://doi.org/10.1038/s41893-019-0266-6>
- Fan, S.-C., Lin, C.-S., Hsu, P.-K., Lin, S.-H., & Tsay, Y.-F. (2009). The Arabidopsis Nitrate Transporter NRT1.7, Expressed in Phloem, Is Responsible for Source-to-Sink Remobilization of Nitrate. *The Plant Cell*, *21*(9), 2750-2761. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.067603>

- FAO. (2021). *Standard operating procedure for soil nitrogen- Kjeldahl method*.
FAODocuments.
<https://www.fao.org/documents/card/es?details=CB3642EN>
- FAOSTAT. (2023). *Crops and livestock products*.
<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Galloway, J. N., Aber, J. D., Erisman, J. W., Seitzinger, S. P., Howarth, R. W.,
Cowling, E. B., & Cosby, B. J. (2003). The Nitrogen Cascade. *BioScience*,
53(4), 341-356. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2003\)053\[0341:TNC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0341:TNC]2.0.CO;2)
- Gaskell, M., & Smith, R. (2007). Nitrogen Sources for Organic Vegetable Crops.
HortTechnology, 17(4), 431-441.
<https://doi.org/10.21273/HORTTECH.17.4.431>
- Gatsios, A., Ntatsi, G., Yfantopoulos, D., Baltzoi, P., Karapanos, I. C., Tsirogiannis,
I., Patakioutas, G., & Savvas, D. (2021). Effects of Different Organic Soil
Amendments on Nitrogen Nutrition and Yield of Organic Greenhouse Tomato
Crop. *Nitrogen*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/nitrogen2030024>
- Ge, T., Song, S., Roberts, P., Jones, D. L., Huang, D., & Iwasaki, K. (2009). Amino
acids as a nitrogen source for tomato seedlings: The use of dual-labeled
(¹³C, ¹⁵N) glycine to test for direct uptake by tomato seedlings.
Environmental and Experimental Botany, 66(3), 357-361.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.05.004>

- Gianfreda, L. (2015). Enzymes of importance to rhizosphere processes. *Journal of soil science and plant nutrition*, 15(2), 283-306.
<https://doi.org/10.4067/S0718-95162015005000022>
- Greenfield, L. M., Puissant, J., & Jones, D. L. (2021). Synthesis of methods used to assess soil protease activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 158, 108277.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108277>
- Grunert, O., Robles-Aguilar, A. A., Hernandez-Sanabria, E., Schrey, S. D., Reheul, D., Van Labeke, M.-C., Vlaeminck, S. E., Vandekerckhove, T. G. L., Mysara, M., Monsieurs, P., Temperton, V. M., Boon, N., & Jablonowski, N. D. (2019). Tomato plants rather than fertilizers drive microbial community structure in horticultural growing media. *Scientific Reports*, 9(1), Article 1.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-45290-0>
- Gupta, K. J. (Ed.). (2020). *Nitrogen Metabolism in Plants: Methods and Protocols* (Vol. 2057). Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9790-9>
- Hachiya, T., & Sakakibara, H. (2016). Interactions between nitrate and ammonium in their uptake, allocation, assimilation, and signaling in plants. *Journal of Experimental Botany*, erw449. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw449>
- Hachiya, T., Watanabe, C. K., Fujimoto, M., Ishikawa, T., Takahara, K., Kawai-Yamada, M., Uchimiya, H., Uesono, Y., Terashima, I., & Noguchi, K. (2012). Nitrate Addition Alleviates Ammonium Toxicity Without Lessening Ammonium Accumulation, Organic Acid Depletion and Inorganic Cation Depletion in *Arabidopsis thaliana* Shoots. *Plant and Cell Physiology*, 53(3), 577-591.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcs012>

- Hageman, R. H., & Hucklesby, D. P. (1971). [45] Nitrate reductase from higher plants. En *Methods in Enzymology* (Vol. 23, pp. 491-503). Academic Press.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(71\)23121-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(71)23121-9)
- Heeb, A., Lundegårdh, B., Ericsson, T., & Savage, G. P. (2005). Effects of nitrate-, ammonium-, and organic-nitrogen-based fertilizers on growth and yield of tomatoes. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(1), 123-129.
<https://doi.org/10.1002/jpln.200420420>
- Heghedus - Mindru, G., Petru, N., Ducu Sandu, Sumalan, R., & Rusnac, L.-M. (2014). QUANTITATIVE DETERMINATION BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY FOR MICRO ELEMENTS OF MINERAL WATERS FROM ROMANIA. *Review on Agriculture & Rural Development*, 2, 2063-4803.
- Hernández, V., Hellín, P., Fenoll, J., & Flores, P. (2020). Impact of nitrogen supply limitation on tomato fruit composition. *Scientia Horticulturae*, 264, 109173.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109173>
- Hoopen, F. T., Cuin, T. A., Pedas, P., Hegelund, J. N., Shabala, S., Schjoerring, J. K., & Jahn, T. P. (2010). Competition between uptake of ammonium and potassium in barley and Arabidopsis roots: Molecular mechanisms and physiological consequences. *Journal of Experimental Botany*, 61(9), 2303-2315. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq057>
- Horchani, F., Hajri, R., & Aschi-Smiti, S. (2010). Effect of ammonium or nitrate nutrition on photosynthesis, growth, and nitrogen assimilation in tomato plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 8.

- Hsu, P.-K., & Tsay, Y.-F. (2013). Two Phloem Nitrate Transporters, NRT1.11 and NRT1.12, Are Important for Redistributing Xylem-Borne Nitrate to Enhance Plant Growth. *Plant Physiology*, 163(2), 844-856. <https://doi.org/10.1104/pp.113.226563>
- Iqbal, A., Zhun, W., Xiangru, W., Huiping, G., Hengheng, Z., Nianchang, P., Xiling, Z., & Meizhen, S. (2020). Growth and nitrogen metabolism are associated with nitrogen-use efficiency in cotton genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 149, 61-74. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.02.002>
- Jeong, H., Park, J., & Kim, H. (2013). Determination of NH_4^+ in Environmental Water with Interfering Substances Using the Modified Nessler Method. *Journal of Chemistry*, 2013, e359217. <https://doi.org/10.1155/2013/359217>
- Jiang, M., Zhao, D., Huang, L., Zeng, Y., Liu, J., Xiang, H., & Zheng, Y. (2023). The Role of Glutamine Synthetase in Regulating Ammonium Assimilation and Iron-Only Nitrogenase Expression in a Photosynthetic Diazotroph. *Microbiology Spectrum*, 11(2), e04953-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04953-22>
- Khmelevtsova, L. E., Sazykin, I. S., Azhogina, T. N., & Sazykina, M. A. (2022). Influence of Agricultural Practices on Bacterial Community of Cultivated Soils. *Agriculture*, 12(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/agriculture12030371>
- Kiba, T., Feria-Bourrellier, A.-B., Lafouge, F., Lezhneva, L., Boutet-Mercey, S., Orsel, M., Bréhaut, V., Miller, A., Daniel-Vedele, F., Sakakibara, H., & Krapp, A. (2012). The Arabidopsis Nitrate Transporter NRT2.4 Plays a Double Role

- in Roots and Shoots of Nitrogen-Starved Plants[C][W]. *The Plant Cell*, 24(1), 245-258. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.092221>
- Kim, J. Y., & Seo, H. S. (2018). In vitro Nitrate Reductase Activity Assay from Arabidopsis Crude Extracts. *Bio-Protocol*, 8(7), e2785. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2785>
- Kuypers, M. M. M., Marchant, H. K., & Kartal, B. (2018). The microbial nitrogen-cycling network. *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 263-276. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>
- Lee, J. Y., Rahman, A., Azam, H., Kim, H. S., & Kwon, M. J. (2017). Characterizing nutrient uptake kinetics for efficient crop production during *Solanum lycopersicum* var. Cerasiforme Alef. Growth in a closed indoor hydroponic system. *PLoS ONE*, 12(5), e0177041. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177041>
- Li, Z., Zeng, Z., Tian, D., Wang, J., Fu, Z., Zhang, F., Zhang, R., Chen, W., Luo, Y., & Niu, S. (2020). Global patterns and controlling factors of soil nitrification rate. *Global Change Biology*, 26(7), 4147-4157. <https://doi.org/10.1111/gcb.15119>
- Liang, G., & Zhang, Z. (2020). Reducing the Nitrate Content in Vegetables Through Joint Regulation of Short-Distance Distribution and Long-Distance Transport. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1079. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01079>
- Liaw, S., Kuo, I., & Eisenberg, D. (1995). Discovery of the ammonium substrate site on glutamine synthetase, A third cation binding site. *Protein Science*, 4(11), 2358-2365. <https://doi.org/10.1002/pro.5560041114>

- Lillo, C., Meyer, C., Lea, U. S., Provan, F., & Oltegal, S. (2004). Mechanism and importance of post-translational regulation of nitrate reductase. *Journal of Experimental Botany*, 55(401), 1275-1282. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh132>
- Lin, S.-H., Kuo, H.-F., Canivenc, G., Lin, C.-S., Lepetit, M., Hsu, P.-K., Tillard, P., Lin, H.-L., Wang, Y.-Y., Tsai, C.-B., Gojon, A., & Tsay, Y.-F. (2008). Mutation of the Arabidopsis NRT1.5 Nitrate Transporter Causes Defective Root-to-Shoot Nitrate Transport. *The Plant Cell*, 20(9), 2514-2528. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.060244>
- Liu, G., Du, Q., & Li, J. (2017). Interactive effects of nitrate-ammonium ratios and temperatures on growth, photosynthesis, and nitrogen metabolism of tomato seedlings. *Scientia Horticulturae*, 214, 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.09.006>
- López Camelo, A. F., & Gómez, P. A. (2004a). Comparison of color indexes for tomato ripening. *Horticultura Brasileira*, 22, 534-537. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362004000300006>
- López Camelo, A. F., & Gómez, P. A. (2004b). Comparison of color indexes for tomato ripening. *Horticultura Brasileira*, 22(3), 534-537. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362004000300006>
- Lopez-Delacalle, M., Camejo, D. M., García-Martí, M., Nortes, P. A., Nieves-Cordones, M., Martínez, V., Rubio, F., Mittler, R., & Rivero, R. M. (2020). Using Tomato Recombinant Lines to Improve Plant Tolerance to Stress Combination Through a More Efficient Nitrogen Metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2019.01702>

- Lu, Y., Li, D., Li, C., Sun, M., Wu, Z., & Sun, Z. (2022). The Effects of 3,5-Dimethylpyrazole on Soil Nitrification and Related Enzyme Activities in Brown Soil. *Agronomy*, 12(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/agronomy12061425>
- Lunt, H. A., Swanson, C. L. W., & Jacobson, H. G. M. (1951). The Morgan Soil Testing System. *Soil Science*, 71(1), 79.
- Márquez-Quiroz, C., López-Espinosa, S. T., Sánchez-Chávez, E., García-Bañuelos, M. L., De La Cruz-Lázaro, E., & Reyes-Carrillo, J. L. (2014). Effect of vermicompost tea on yield and nitrate reductase enzyme activity in saladette tomato. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, ahead, 0-0. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162014005000018>
- McLeod, L., & Flores, D. (2018). Mexico Tomato Annual Protected Agriculture Production Expanding. *Global Agricultural Information Network*. USDA, MX8025. [chrome-extension://efaidnbnmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/report/downloadreportbyfilename?filename=Tomato%20Annual_Mexico%20City_Mexico_5-30-2018.pdf](https://efaidnbnmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/report/downloadreportbyfilename?filename=Tomato%20Annual_Mexico%20City_Mexico_5-30-2018.pdf)
- Menegat, S., Ledo, A., & Tirado, R. (2022). Greenhouse gas emissions from global production and use of nitrogen synthetic fertilisers in agriculture. *Scientific Reports*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18773-w>
- Muratore, C., Espen, L., & Prinsi, B. (2021). Nitrogen Uptake in Plants: The Plasma Membrane Root Transport Systems from a Physiological and Proteomic Perspective. *Plants*, 10(4), 681. <https://doi.org/10.3390/plants10040681>

- Pandurangaiah, S., Sadashiva, A. T., Shivashankar, K. S., Rao, D. V. S., & Ravishankar, K. V. (2020). Carotenoid Content in Cherry Tomatoes Correlated to the Color Space Values L*, a*, b*: A Non-destructive Method of Estimation. *Journal of Horticultural Sciences*, 15(1), 27-34.
- Paśmionka, I. B., Bulski, K., & Boligłowa, E. (2021). The Participation of Microbiota in the Transformation of Nitrogen Compounds in the Soil—A Review. *Agronomy*, 11(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050977>
- Paungfoo-Lonhienne, C., Lonhienne, T. G. A., Rentsch, D., Robinson, N., Christie, M., Webb, R. I., Gamage, H. K., Carroll, B. J., Schenk, P. M., & Schmidt, S. (2008). Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(11), 4524-4529. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712078105>
- Pauss, A., Roza, A., Ledrut, M. -J., Naveau, H., & Nyns, E. -J. (1990). Bicarbonate determination in complex acid-base solutions by a back-titration method. *Environmental Technology*, 11(5), 469-476. <https://doi.org/10.1080/09593339009384887>
- Peinado-Torrubia, P., Álvarez, R., Lucas, M., Franco-Navarro, J. D., Durán-Gutiérrez, F. J., Colmenero-Flores, J. M., & Rosales, M. A. (2023). Nitrogen assimilation and photorespiration become more efficient under chloride nutrition as a beneficial macronutrient. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1058774. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1058774>

- Podgórska, A., Mazur, R., Ostaszewska-Bugajska, M., Kryzheuskaya, K., Dziewit, K., Borysiuk, K., Wdowiak, A., Burian, M., Rasmusson, A. G., & Szal, B. (2020). Efficient Photosynthetic Functioning of *Arabidopsis thaliana* Through Electron Dissipation in Chloroplasts and Electron Export to Mitochondria Under Ammonium Nutrition. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.00103>
- Pratt, L., & Ortega, J. M. (2019). *Agricultura protegida en México: Elaboración de la metodología para el primer bono verde agrícola certificado*. 73.
- Qiu, X.-M., Sun, Y.-Y., Ye, X.-Y., & Li, Z.-G. (2020). Signaling Role of Glutamate in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1743. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01743>
- Ranke, J., Othman, A., Fan, P., & Müller, A. (2009). Explaining Ionic Liquid Water Solubility in Terms of Cation and Anion Hydrophobicity. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(3), 1271-1289. <https://doi.org/10.3390/ijms10031271>
- Rawangkul, R., Khedari, J., Hirunlabh, J., & Zeghmati, B. (2010). Characteristics and performance analysis of a natural desiccant prepared from coconut coir. *ScienceAsia*, 36(3), 216. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2010.36.216>
- Regulation (EU) 2018/848 of the European Parliament and of the Council on organic production and labelling of organic products and repealing Council Regulation (EC) No. 834/2007. | UNEP Law and Environment Assistance Platform.*

- (2018). <https://leap.unep.org/en/countries/eu/national-legislation/regulation-eu-2018848-european-parliament-and-council-organic>
- Ren, B., Dong, S., Zhao, B., Liu, P., & Zhang, J. (2017). Responses of Nitrogen Metabolism, Uptake and Translocation of Maize to Waterlogging at Different Growth Stages. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1216. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01216>
- Rendón-Ducoing, M. G. R. (2022). *De B INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS*. 127.
- Resendiz-Nava, C. N., Alonso-Onofre, F., Silva-Rojas, H. V., Rebollar-Alviter, A., Rivera-Pastrana, D. M., Stasiewicz, M. J., Nava, G. M., & Mercado-Silva, E. M. (2023). Tomato Plant Microbiota under Conventional and Organic Fertilization Regimes in a Soilless Culture System. *Microorganisms*, 11(7), 1633. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071633>
- Rodríguez, I. A., Silva, R. M. P., & Reyes, A. M. (2010). *Determinación de sulfato por el método turbidimétrico en aguas y aguas residuales. Validación del método. XXII(3)*, 39-44.
- Rosales, M. A., Franco-Navarro, J. D., Peinado-Torrubia, P., Díaz-Rueda, P., Álvarez, R., & Colmenero-Flores, J. M. (2020). Chloride Improves Nitrate Utilization and NUE in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 442. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00442>
- Ruzicka, D. R., Barrios-Masias, F. H., Hausmann, N. T., Jackson, L. E., & Schachtman, D. P. (2010). Tomato root transcriptome response to a nitrogen-

- enriched soil patch. *BMC Plant Biology*, 10(1), 75.
<https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-75>
- Sainju, U. M., Ghimire, R., & Pradhan, G. P. (2019). Nitrogen Fertilization I: Impact on Crop, Soil, and Environment. En *Nitrogen Fixation*. IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.86028>
- Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., & Margesin, R. (1996). *Methods in Soil Biology*. Springer Berlin Heidelberg.
- Segonzac, C., Boyer, J.-C., Ipotesi, E., Szponarski, W., Tillard, P., Touraine, B., Sommerer, N., Rossignol, M., & Gibrat, R. (2007). Nitrate Efflux at the Root Plasma Membrane: Identification of an Arabidopsis Excretion Transporter. *The Plant Cell*, 19(11), 3760-3777. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.048173>
- Shaji, H., Chandran, V., & Mathew, L. (2021). Organic fertilizers as a route to controlled release of nutrients. En *Controlled Release Fertilizers for Sustainable Agriculture* (pp. 231-245). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819555-0.00013-3>
- Sharpe, R. M., Gustafson, L., Hewitt, S., Kilian, B., Crabb, J., Hendrickson, C., Jiwan, D., Andrews, P., & Dhingra, A. (2020). Concomitant phytonutrient and transcriptome analysis of mature fruit and leaf tissues of tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Oregon Spring) grown using organic and conventional fertilizer. *PLoS ONE*, 15(1), e0227429.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227429>

- Shilpha, J., Song, J., & Jeong, B. R. (2023). Ammonium Phytotoxicity and Tolerance: An Insight into Ammonium Nutrition to Improve Crop Productivity. *Agronomy*, 13(6), 1487. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061487>
- SIAP. (2023). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. Cierre de la producción agrícola. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Silveira, J. A. G., Matos, J. C. S., Cecatto, V. M., Viegas, R. A., & Oliveira, J. T. A. (2001). Nitrate reductase activity, distribution, and response to nitrate in two contrasting Phaseolus species inoculated with Rhizobium spp. *Environmental and Experimental Botany*, 46(1), 37-46. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(01\)00082-X](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(01)00082-X)
- Simontacchi, M., Galatro, A., Ramos-Artuso, F., & Santa-María, G. E. (2015). Plant Survival in a Changing Environment: The Role of Nitric Oxide in Plant Responses to Abiotic Stress. *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2015.00977>
- Sparacino-Watkins, C., Stolz, J. F., & Basu, P. (2014). Nitrate and periplasmic nitrate reductases. *Chem. Soc. Rev.*, 43(2), 676-706. <https://doi.org/10.1039/C3CS60249D>
- Tavallali, V., Esmaili, S., & Karimi, S. (2018). Nitrogen and potassium requirements of tomato plants for the optimization of fruit quality and antioxidative capacity during storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 755-762. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9689-9>
- Toor, R. K., Savage, G. P., & Heeb, A. (2006). Influence of different types of fertilisers on the major antioxidant components of tomatoes. *Journal of Food*

Composition and Analysis, 19(1), 20-27.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.03.003>

USDA. (2023). *Tomato Grades and Standards | Agricultural Marketing Service*.

<https://www.ams.usda.gov/grades-standards/tomato-grades-and-standards>

Wang, Cheng, Y.-H., Chen, K.-E., & Tsay, Y.-F. (2018a). Nitrate Transport, Signaling, and Use Efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 69(1), 85-122.

<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040056>

Wang, G., Ding, G., Li, L., Cai, H., Ye, X., Zou, J., & Xu, F. (2014). Identification and characterization of improved nitrogen efficiency in interspecific hybridized new-type *Brassica napus*. *Annals of Botany*, 114(3), 549-559.

<https://doi.org/10.1093/aob/mcu135>

Wang, M., Shen, Q., Xu, G., & Guo, S. (2014). New Insight into the Strategy for Nitrogen Metabolism in Plant Cells. In *International Review of Cell and Molecular Biology* (Vol. 310, pp. 1-37). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800180-6.00001-3>

Wang, Y.-Y., Cheng, Y.-H., Chen, K.-E., & Tsay, Y.-F. (2018b). Nitrate Transport, Signaling, and Use Efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 69(1), 85-122.

<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040056>

Wang, Y.-Y., & Tsay, Y.-F. (2011). Arabidopsis Nitrate Transporter NRT1.9 Is Important in Phloem Nitrate Transport. *The Plant Cell*, 23(5), 1945-1957.

<https://doi.org/10.1105/tpc.111.083618>

Wei, Y., Wang, L., Qin, B., Li, H., Wang, X., Zhang, Z., Zhu, X., Ma, X., & Wang, X. (2021). A New Perspective on the Role of Glutamine Synthetase in Nitrogen

- Remobilization in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 11083. <https://doi.org/10.3390/ijms222011083>
- Xiong, X., Chang, L., Khalid, M., Zhang, J., & Huang, D. (2018). Alleviation of Drought Stress by Nitrogen Application in *Brassica campestris* ssp. *Chinensis* L. *Agronomy*, 8(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/agronomy8050066>
- Yang, G., Wei, Q., Huang, H., & Xia, J. (2020). Amino Acid Transporters in Plant Cells: A Brief Review. *Plants*, 9(8), 967. <https://doi.org/10.3390/plants9080967>
- Yu, L.-H., Wu, J., Tang, H., Yuan, Y., Wang, S.-M., Wang, Y.-P., Zhu, Q.-S., Li, S.-G., & Xiang, C.-B. (2016). Overexpression of Arabidopsis NLP7 improves plant growth under both nitrogen-limiting and -sufficient conditions by enhancing nitrogen and carbon assimilation. *Scientific Reports*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/srep27795>
- Zhang, K., Wu, Y., & Hang, H. (2019). Differential contributions of NO₃⁻/NH₄⁺ to nitrogen use in response to a variable inorganic nitrogen supply in plantlets of two Brassicaceae species in vitro. *Plant Methods*, 15, 86. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0473-1>