

**TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN PARA ALCANZAR EL GRADO
DE INGENIERO AGRONOMO**

**“PRODUCCIÓN, CONTENIDO DE NITRATOS Y PROTEÍNA BRUTA
EN PLANTAS DE LECHUGA (*Lactuca sativa* L.) CRESPA Y
MANTECOSA, CON DOS DOSIS DE FERTILIZANTE Y CUATRO
ÉPOCAS DE CULTIVO”**

Autores:

Belcher, Brian Jorge

Ponce, Juan Pablo

Directora:

Ing. Agr. Teresa M. Sánchez

Tribunal de Evaluación:

Ing. Agr. Nilda B. Reinaudi

Dr. Héctor A. Paccapelo

Cátedra de Química III

Facultad de Agronomía

Universidad Nacional de La Pampa

2011

INDICE

RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	5
Planeamiento y problema:	9
Hipótesis:.....	9
Objetivos:	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
Características del agua de riego:	12
Tareas previas sobre el terreno	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
1. Contenido de nitratos expresados en mg kg^{-1} fresco	18
2. Porcentaje de proteína bruta	21
3. Rendimiento de materia verde expresado en kg m^{-2}	25
4. Porcentaje de materia seca.....	29
CONCLUSIONES.....	31
AGRADECIMIENTO	33
BIBLIOGRAFÍA.....	35

RESUMEN

Las frutas y hortalizas han sido parte de la alimentación humana desde el inicio de la historia. Con el avance en la ciencia de la nutrición, la imagen de las frutas y hortalizas ha aumentado notablemente y los profesionales de la salud, están recomendando activamente el consumo de las mismas. El contenido de nitratos (NO_3^-), en hojas de lechuga es un aspecto importante de su calidad, en relación con la salud del consumidor. Parte de los NO_3^- ingeridos pueden sufrir una reducción en el tracto gastrointestinal, produciendo nitritos (NO_2^-). Éstos pueden reaccionar con la hemoglobina produciendo metahemoglobina y con aminas primarias o secundarias provenientes de otros alimentos, formando *N* nitroso compuestos, considerados cancerígenos.

La Comunidad Económica Europea, ha establecido límites admisibles en hortalizas acumuladoras de este ion, tales como lechuga y espinaca. La Comisión Europea (CE) N° 563/2002 (FSIS 74/05), regula la cantidad de nitratos en lechuga con el fin de evitar problemas de salud del consumidor.

Con la finalidad de evaluar la acumulación de nitratos, el contenido proteico y producción en lechuga, se realizó un ensayo en las instalaciones de la huerta de la Facultad de Agronomía de la UNLPam., en Santa Rosa, La Pampa, Argentina, durante los años 2008-2009.

Se evaluaron dos variedades de lechuga: crespa y mantecosa, en distintas épocas de producción: invierno - primavera de 2008 y verano - otoño de 2009, con tres niveles de fertilización: 0, 50 y 100 kg ha^{-1} de urea.

Para nitratos se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la interacción variedad x estación y variedad x dosis. Para interacción variedad x estación los mayores niveles de nitratos se encontraron en primavera ($1082,11 \text{ mg kg}^{-1}$ fresco) y otoño ($1158,48 \text{ mg kg}^{-1}$ fresco) con la variedad mantecosa. Para la interacción variedad x dosis, se encontró un aumento en el contenido de nitratos al incrementarse la dosis de fertilizante. Dicho aumento fue significativo con respecto al testigo ($722,84 \text{ mg kg}^{-1}$ fresco) en variedad mantecosa con 50 y 100 kg ha^{-1} , mientras que para crespa fue con 100 kg ha^{-1} de urea. Los contenidos de NO_3^- encontrados en el presente estudio se encuentran por debajo de los límites establecidos por la CE.

Para la variable porcentaje de proteína bruta (% PB) se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para la interacción variedad x estación y dosis x estación. Para la interacción variedad x estación el mayor % PB correspondió a la variedad crespa en verano ($25,1 \%$) existiendo diferencias estadísticamente significativas con respecto a los demás tratamientos salvo al correspondiente a la misma variedad en invierno ($23,71 \%$). Para la interacción dosis x estación, los tratamientos con 50 kg ha^{-1} en verano y otoño y con 100 kg ha^{-1} en verano e invierno, difirieron significativamente del resto.

Para rendimiento expresado en kg de materia verde m^{-2} se obtuvieron diferencias significativas en las interacciones estación x variedad y estación x dosis, para la primera interacción los menores rendimientos fueron en ambas variedades en otoño y en crespa en invierno que difirieron del resto, el menor valor fue de $1,20 \text{ kg m}^{-2}$ en crespa de otoño y el mayor con $3,52 \text{ kg m}^{-2}$ para mantecosa de primavera. Para la interacción estación x dosis los menores rendimientos se obtuvieron en otoño con los 3 niveles de fertilización,

probablemente debido al estrés salino que sufrió el suelo, ya que le correspondió al cuarto cultivo y el agua de riego utilizada fue de calidad regular a mala.

INTRODUCCIÓN

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es un cultivo que en nuestro país se produce tanto a campo como bajo condiciones de invernadero. Datos del Censo Nacional Agropecuario 2002, registran que del total de superficie hortícola implantada a campo, un 13% corresponde a lechuga y, de la superficie bajo cubierta el 4% (INDEC, 2002).

En Argentina, ocupa el tercer lugar dentro de las hortalizas cultivadas después de la papa y el tomate. La producción total de lechuga es de 261.115,5 t, siendo las principales provincias productoras de esta hortaliza: Buenos Aires 100,911 t, Santa Fe 46.425 t, Mendoza 34.245 t y Córdoba 25.725 t (SAGPyA e INDEC, 2002).

Según estadísticas del INTA, se cultivan en nuestro país aprox. 40000 ha con un rendimiento promedio de 10000 kg ha⁻¹, lo que hace a una producción nacional de 400000 toneladas (Tortarolo, 1998).

Las frutas y hortalizas han sido parte de la alimentación humana desde el inicio de la historia. Con el avance en la ciencia de la nutrición, la imagen de las frutas y hortalizas ha aumentado notablemente y los profesionales de la salud, están recomendando activamente el consumo de las mismas.

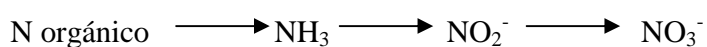
La lechuga es una hortaliza de poco desarrollo de masa verde con un sistema radical pequeño. El 70 % de sus nutrientes son absorbidos durante el último tercio de su ciclo y cerca del 80 % del N total, en las 3 semanas previa a la cosecha (Vigliola, 1988).

Jackson y Stivers (1993) señalaron que la respuesta de la distribución de las raíces de lechuga, a la disponibilidad del nitrógeno en los primeros 50 cm de suelo, sugiere que el

cultivo puede aumentar potencialmente su capacidad de absorción de N, en aéreas enriquecidas con nitratos. Sin embargo por debajo de esa profundidad las raíces no siguen la distribución del nitrógeno nítrico del suelo.

En la actualidad en Santa Rosa (La Pampa), existe una demanda insatisfecha tanto en calidad como en cantidad, ya que los productores abastecen solo el 9 % de la demanda local ($5,7 \text{ kg habitante}^{-1} \text{ año}^{-1}$). En lo referente a calidad el deterioro del producto alcanza un 50 % al segundo día de encontrarse en góndola para mercadería procedente de otra provincia. En cambio la merma local es de tan solo 15 % al segundo día de estar disponible al consumidor (datos obtenidos por estudiantes de Licenciatura en Administración de Negocios Agropecuarios. UNLPam, en 2003).

El contenido de nitratos en hojas de lechuga es un aspecto importante de su calidad, en relación con la salud del consumidor (Craddock, 1983). Los nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-), se encuentran naturalmente, como N inorgánico, formando parte del ciclo del N en el medio ambiente. El N orgánico, se descompone en amonio, por acción de los microorganismos presentes en el suelo o en el agua, oxidándolo a NO_2^- y NO_3^-



La presencia de NO_3^- en las plantas es una consecuencia del ciclo del N y se encuentran de modo natural en las verduras, en forma de N inorgánico en los fluidos celulares y en la savia, como precursor de la formación de proteínas. El contenido de nitratos en las plantas es comúnmente visto como resultado de un desequilibrio entre: la absorción neta y la tasa de asimilación (Cárdenas-Navarro *et al.*, 1999). Estudios realizados en cultivos de

hortalizas, se demuestra que el nivel de nitratos está influenciado por: factores genéticos, ambientales y agrícolas (Maynard *et al.*, 1976).

Las principales fuentes de ingestión de NO_3^- , son las hortalizas, las carnes curadas y el agua. Las hortalizas son una parte importante de la dieta y representan el 72 – 94 % del nitrato ingerido (Dich *et al.*, 1996). Parte de los NO_3^- ingeridos pueden sufrir una reducción en el tracto gastrointestinal, produciendo un compuesto más tóxico que son los NO_2^- .

Los NO_2^- pueden reaccionar con aminos primarias o secundarias provenientes de otros alimentos, como pescado, quesos y carnes o, formando compuesto denominado nitroso aminos. Éstos son considerados compuestos cancerígenos (Santamaría, 2006). Además los NO_2^- pueden reaccionar con la hemoglobina de la sangre, produciendo metahemoglobina que impide el transporte de O_2 (Mesinga *et al.*, 2003).

La Comunidad Económica Europea, ha establecido límites admisibles en plantas consideradas acumuladoras de este ion, tales como lechuga y espinaca (The EFSA, 2008).

El contenido de nitratos aceptable en la ingesta diaria corresponde a $3,65 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso vivo (Ministry of Agriculture, Food and Fisheries, 1999). Es decir, la ingesta de nitratos diaria de una persona con un peso corporal de 70 kg no debería superar los 259 mg. Las hortalizas, en particular, de hoja (lechuga, acelga, espinaca, amaranto, perejil) acumulan contenidos de nitratos mayores a otros tipos de alimentos (Hill, 1990). Cuando la absorción de nitrato excede a la asimilación, éstos se pueden acumular en las vacuolas de las células (Granstedt y Huffaker, 1982).

Asimismo, la acumulación de este ion en las hojas se incrementa cuando la planta es cultivada en condiciones restrictivas de luz (Blom-Zandstra, 1989). Así, la planta utilizaría más carbohidratos e iones nitratos como regulador osmótico (Streingröver *et al.*, 1993). Por lo anterior, la Comisión Europea ha legislado indicando los contenidos máximos de nitratos permitidos para lechuga cultivada en invernadero y al aire libre en diferentes épocas del año (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002), (Cuadro 1).

Cuadro 1. Contenidos máximos de nitrato en lechuga regulados por la Comisión Europea (CE) N° 563/2002 (1)

Tipo de cultivo	Período de cosecha ⁽²⁾	mg NO ₃ ⁻ kg ⁻¹ ⁽³⁾
Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.)	Cosechadas entre 1 octubre y 31 de marzo	
	. Lechugas cultivadas en invernadero	4500
	. Lechugas cultivadas al aire libre	4000
	Cosechadas entre 1 abril y 30 de septiembre	
	. Lechugas cultivadas en invernadero	3500
	. Lechugas cultivadas al aire libre	2500
Lechuga tipo "Iceberg"	. Lechugas cultivadas en invernadero	2500
	. Lechugas cultivadas al aire libre	2000

(1) Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002.

(2) Hemisferio Norte.

(3) Peso fresco.

Otoño - Invierno = 4500 mg NO₃⁻ kg⁻¹ fresco

Primavera- Verano = 2500 mg NO₃⁻ kg⁻¹ fresco

Por todo lo expuesto el contenido de nitratos se puede considerar un atributo de calidad en lechuga.

Planeamiento y problema:

En la actualidad el uso de fertilizantes en la producción hortícola es una práctica muy frecuente y de suma relevancia. La cantidad utilizada se incrementó notablemente debido al incremento en el número de productores y al área. Esto provocaría serios inconvenientes ya que al fertilizar con nitrógeno puede aumentar o superar los niveles admisibles de nitratos en la planta de lechuga, establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y según la norma establecida por la Comisión Europea (CE), además del riesgo de producir lixiviación y contaminación de aguas subterráneas.

Hipótesis:

- La fertilización nitrogenada aumenta el contenido de nitratos y de proteína bruta en plantas de lechuga.

Objetivos:

- Determinar el contenido de nitratos en dos variedades de lechuga: crespa y mantecosa, en distintas épocas de producción, con dos dosis de urea y su comparación con el testigo, con la finalidad de evaluar, si se encuentra dentro de los límites admisibles establecidos por la CE.

- Evaluar el contenido de proteína bruta.

- Determinar producción de materia verde.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en un macro-túnel dentro de las instalaciones de la huerta de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa (Foto 1). El diseño consistió en tres platabandas de 1 m de ancho por 24 m de largo y ubicado en dirección Norte-Sur como se observa en la Figura 1.



Foto 1. Foto del macro-túnel donde se realizó la experiencia con plantación de lechuga.

Sur		
M0 3	C2 2	M2 1
M1 2	C0 4	M0 2
C2 1	M1 1	C1 2
C1 1	M0 1	C0 1
C1 4	C2 4	M2 4
C0 2	C1 3	M1 4
M2 3	M0 4	C0 3
M1 3	M2 2	C2 3
Norte		

Figura 1. Plano del diseño del ensayo (estación otoño). C0 = Crespa Testigo; C1 = Crespa con 50 kg ha⁻¹ de UREA; C2 = Crespa con 100 kg ha⁻¹ de UREA; M0 = Mantecosa Testigo; M1 = Mantecosa con 50 kg ha⁻¹ de UREA; M2 = Mantecosa con 100 kg ha⁻¹ de UREA.

Las medidas del ensayo fueron las siguientes:

- Ancho del macro-túnel: 4 m.

- Largo del macro-túnel: 24 m.

- Cada tratamiento de 3 m de largo por 1 metro de ancho, distribuidos al azar dentro de las platabandas.

- Separación de 0,25 m entre platabandas y entre platabandas y lateral del macro- túnel.

- Los plantines fueron colocados con pan de tierra a tres bolillos, a 0,25 m entre si, y a los costados de las cintas de riego, separados de éstas a 0,10 m. Dichas mangueras de riego (2 por platabandas), separadas entre si a 0,50 m, quedando 4 líneas de lechuga determinando una densidad de 20 plantas por m².

El diseño estadístico fue completamente al azar, con 2 variedades de lechuga (crespa y mantecosa), 3 niveles de fertilización y 4 repeticiones, lo que hizo un total de 24 tratamientos.

Características del agua de riego:

El agua utilizada para el riego disponible en la huerta, es agua subterránea. Los parámetros más importantes para caracterizar la calidad de agua para riego fueron:

Conductividad Eléctrica (CE) 25 °C: 2.37 dS m⁻¹; pH: 8.10; Relación de adsorción de sodio (RAS): 11.8 y carbonato de sodio residual (CSR): 3.4 meq dm⁻³.

Según el diagrama de clasificación de aguas para riego (Riverside), el agua utilizada se clasifica como: C₄ S₃. Siendo C₄: “No apropiada para riego bajo condiciones ordinarias, pero puede utilizarse ocasionalmente. Se deben seleccionar cultivos tolerantes a sales”. S₃:

“Puede producir niveles tóxicos de sodio intercambiable en la mayor parte de los suelos, por lo que estos requerirán prácticas especiales de manejo como buen drenaje y adiciones de materia orgánica”. Con respecto al CSR se considera que las aguas que superan los 2.5 meq dm⁻³, no son buenas para riego (Richards, 1977).

Tareas previas sobre el terreno

Una semana previa al inicio del primer trasplante se aplicó por única vez guano de oveja compostado a razón de 10 dm³ m⁻² aproximadamente, con la finalidad de adicionar materia orgánica y nutrientes. El mismo fue incorporado con motocultivador a una profundidad de 0,30 m, y se aplicó también una dosis de 100 kg ha⁻¹ de fosfato de amonio a todo el macro-túnel.

Previo a cada trasplante se tomaron muestras de suelo. En el Cuadro 2 se presentan los análisis de suelo determinados en las cuatro estaciones del año, que a continuación se detallan: pH en pasta; conductividad eléctrica (CE) expresada en dS m⁻¹ ; % de materia orgánica (MO); fósforo (P) en ppm y calcio (Ca); magnesio (Mg); sodio (Na); potasio (K) y capacidad de intercambio catiónico (CIC), todos expresados en miliequivalentes /100 g de suelo (meq/100 g de suelo).

Cuadro 2. Características edáficas (0 - 0,20 m) de suelo donde se realizó la experiencia

Estación	pH pasta	CE (dS m ⁻¹)	MO (%)	P (ppm)	Cationes (meq/100g de suelo)				
					Ca	Mg	Na	K	CIC
PRIMAVERA	8,0	2,3	2,7	178,1	3,19	2,91	4,08	1,04	10,72
VERANO	7,8	8,9	3,0	206,5	3,12	3,08	5,2	2,04	10,24
OTOÑO	7,9	7,1	2,9	252,4	2,89	2,84	4,48	2,09	9,92
INVIERNO	7,9	2,3	2,5	177,5	3,74	3,78	4,88	2,38	13,44

Se realizaron 4 cultivos; uno por cada estación del año.

El primer trasplante fue en invierno 2008; el 2° en primavera, y el 3° y 4° en verano y otoño 2009.

En el Cuadro 3 se presenta un resumen de fechas de trasplante, aplicación de fertilizantes, insecticidas, fungicidas y fechas de cosecha. Durante todas las épocas, el cultivo se mantuvo libre de malezas, el desmalezado se realizó en forma manual.

Cuadro 3. Fechas de realización de las principales labores culturales, durante el desarrollo del trabajo

Labores	E S T A C I Ó N			
	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Trasplante	20/9/08	23/01/09	01/05/09	14/06/08
1° Aplicación urea	06/10/08	09/02/09	18/05/09	30/06/08
2° Aplicación urea	21/10/08	24/02/09	01/06/09	15/07/08
Aplicación Fungicida	06/10/08	-----	05/06/09	06/08/08
Aplicación Insecticida	-----	20/02/09	-----	-----
Cosecha	15/11/08	12/3/09	28/7/09	3/9/08

Las dosis de fertilizantes agregadas fueron de 50 y 100 kg ha⁻¹ de urea, fraccionadas en dos aplicaciones. La mitad de cada dosis se adicionó a los 15 días del transplante y la otra mitad a los 30 días.

A los 15 días del transplante:

- tratamiento 1: 25 kg ha⁻¹

- tratamiento 2: 50 kg ha⁻¹

A los 30 días posteriores al transplante se aplicaron las 2 dosis restantes de urea.

- tratamiento 1: 25 kg ha⁻¹

- tratamiento 2: 50 kg ha⁻¹

En el momento de la cosecha, se cortaron cada una de las parcelas con la finalidad de evaluar la producción y se tomó una planta representativa de cada parcela para realizar las determinaciones químicas.

A cada planta se le determinó el peso fresco, luego se procedió a estabilizar cada muestra. Para ello, se colocó en estufa (Foto 2) con circulación de aire a 60 °C, hasta peso constante y se registró el peso seco.



Foto 2. Plantas de lechuga colocadas en estufa con circulación de aire, para ser secadas y luego acondicionadas.

Cada muestra se molió con molinillo tipo Willey y se acondicionaron para sus posteriores determinaciones químicas.

Las determinaciones químicas a realizadas fueron: determinación de nitratos por método espectrofotocolorimétrico (Cataldo *et al.*, 1975) con equipo Metrolab 1700 y proteína bruta por método de Kjeldahl (Volonteri y Jonas 1981).

Para cada variable se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para un diseño en bloques al azar. Se consideraron en el análisis los factores variedad de lechuga y

fertilización y la interacción de ambos factores. En base a los resultados, los valores medios se analizaron con pruebas de diferencias de medias de Tukey ($p \leq 0,05$). Se utilizó el software estadístico InfoStat (InfoStat, 2008).

En la Figura 2 se presentan las temperaturas medias mensuales para los años 2008-2009, período en que se realizó el ensayo.

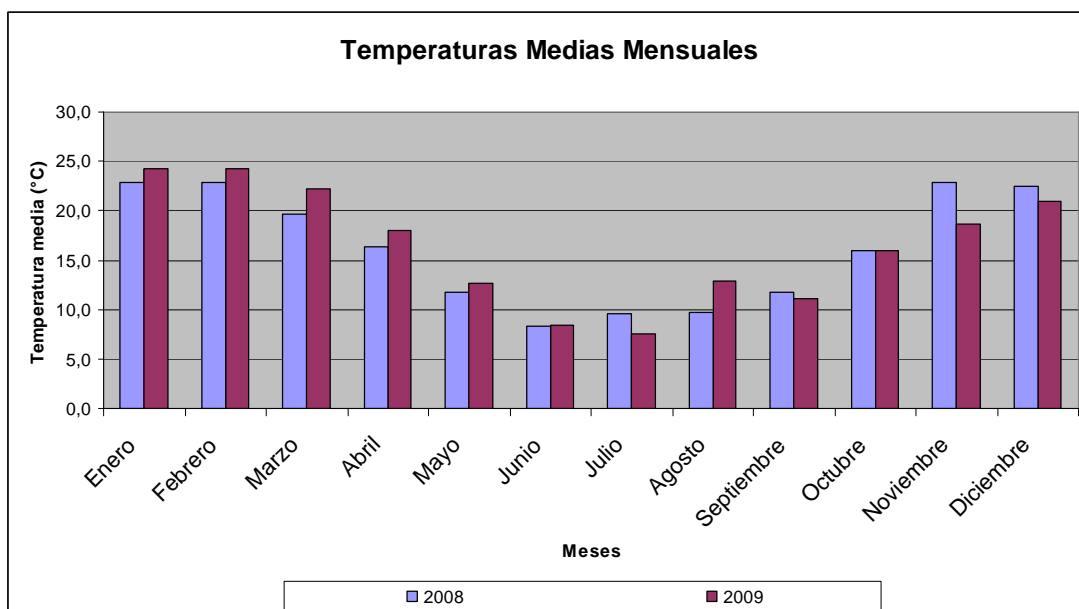


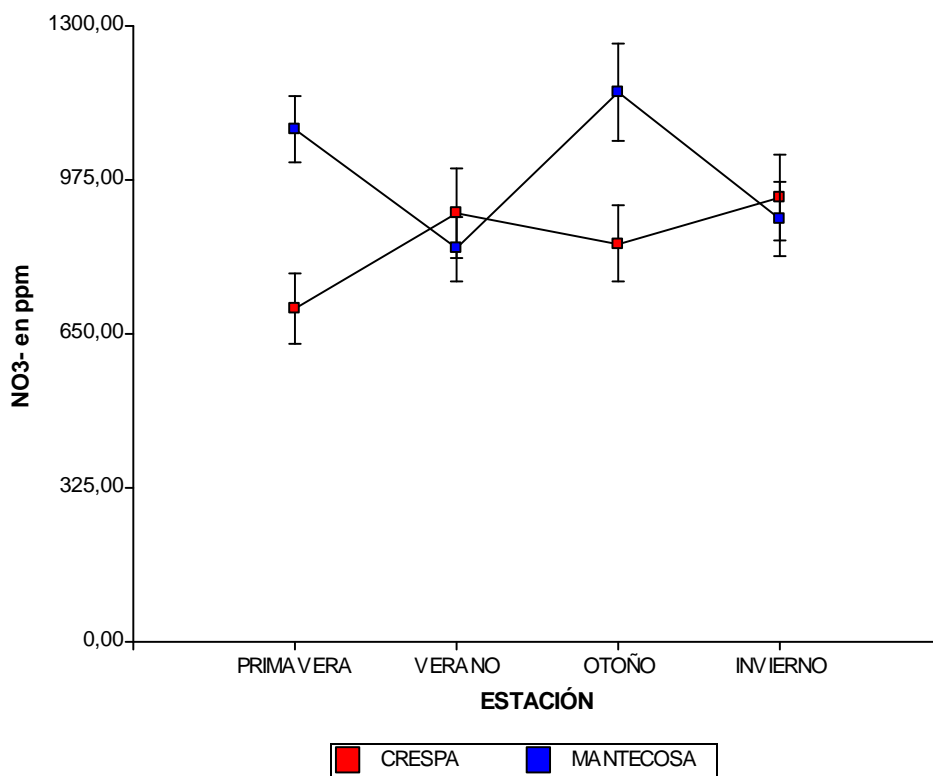
Figura 2. Distribución de las Temperaturas medias a lo largo de los años 2008 y 2009.

Fuente: Cátedra de Climatología Agrícola. Facultad de Agronomía. UNLPam.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Contenido de nitratos expresados en mg kg^{-1} fresco

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para el contenido de nitratos expresados en miligramos por kilogramo fresco (mg kg^{-1} fresco) para las interacciones dobles: variedad x estación y variedad x dosis, mientras que no se encontró interacción estadísticamente significativa para estación x dosis ($p\text{-valor} = 0,4791$).



NO_3^- en ppm = mg kg^{-1} fresco

Figura 3. Contenido de nitratos en dos variedades de lechuga y en cuatro estaciones de crecimiento.

En la Figura 3 se presentan los valores correspondientes al contenido de NO_3^- (mg kg^{-1} fresco) y en Cuadro 4, los valores medios y diferencia de medias para las dos variedades de lechuga teniendo en cuenta las distintas estaciones del año.

El valor mínimo correspondió a lechuga crespa de primavera, con $703,08 \text{ mg kg}^{-1}$ fresco y difirió significativamente de lechuga mantecosa de primavera y otoño con valores de 1082,11 y $1158,48 \text{ mg kg}^{-1}$ fresco, respectivamente. Todos los valores fueron similares a los valores mínimos obtenidos en lechuga crespa por Sánchez (2010 a) e inferiores a los de Muramoto (1999), mientras que el valor mínimo obtenido en el presente estudio fue superior al obtenido por Sánchez (2010 b) que informa un valor mínimo de 477 mg kg^{-1} fresco en lechuga crespa cosechada en el mes de diciembre.

Cuadro 4. Valores medios y diferencia de medias para nitratos expresados en mg kg^{-1} fresco en dos variedades de lechuga en cuatro estaciones del año.

Variedad	Estación			
	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Crespa	703,8 a	903,57 abc	840,73 abc	936,78 abc
Mantecosa	1082,11 bc	829,78 ab	1158,48 c	891,52 abc

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

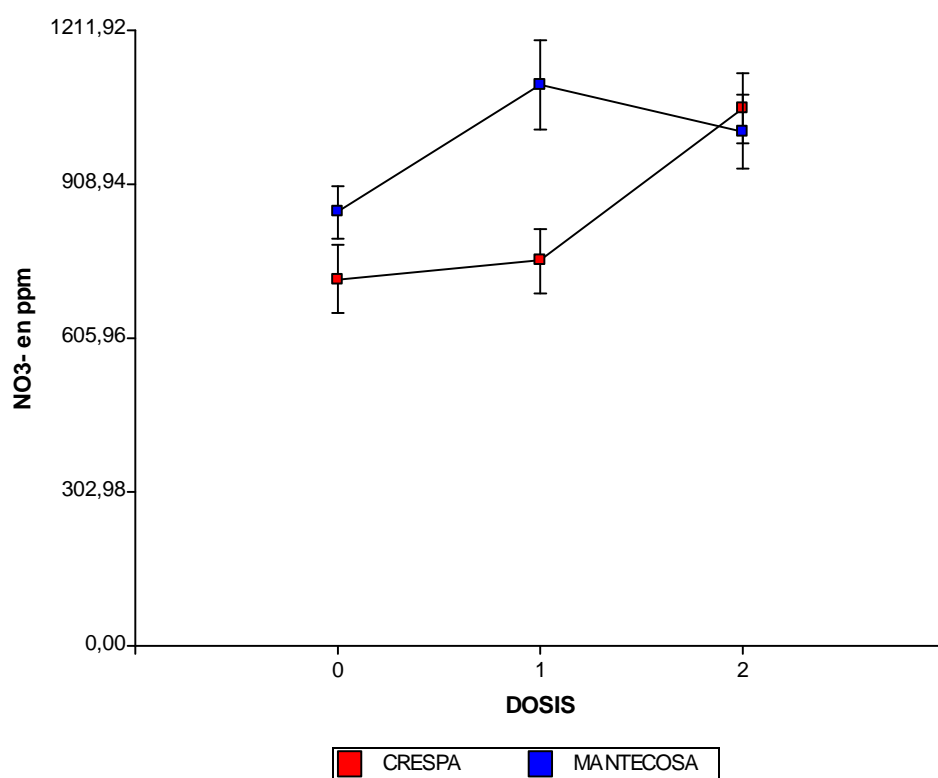


Figura 4. Contenido de nitratos en dos variedades de lechuga teniendo en cuenta tres dosis de fertilización distinta.

En la figura 4 se presenta el comportamiento de los nitratos en función de la dosis de urea aplicada para cada variedad. Se puede observar que el valor mínimo corresponde, a la variedad crespa sin aplicación de fertilizante. Ésta no presenta diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 5) con la variedad mantecosa utilizando, dosis cero ni con variedad crespa con dosis 1 (50 kg ha^{-1}). Mientras que sí difirieron de la variedad mantecosa con dosis 1 y crespa y mantecosa con dosis 2. Las últimas no difirieron entre ellas. Teniendo en cuenta las variedades, analizando lo sucedido con la variedad mantecosa, podemos observar que ésta no presenta diferencias significativas ($p > 0,05$) al utilizar diferentes dosis de

fertilizantes. En lechuga crespa se encontró diferencias significativas solo para la dosis mayor, que difirió de la dosis 0 y 1.

Cuadro 5. Valores medios y diferencia de medias de nitratos en dos variedades de lechuga teniendo en cuenta las distintas dosis de fertilización.

Variedad	Dosis urea		
	0 (testigo)	1 (50 kg ha ⁻¹)	2 (100 kg ha ⁻¹)
Crespa	722,84 a	758,21 ab	1057,62 c
Mantecosa	853,75 abc	1104,49 c	1013,18 bc

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Todos los valores de nitratos obtenidos bajo las condiciones de ensayo del presente trabajo, se encuentran por debajo de los límites establecidos por la CE N° 563/2002.

2. Porcentaje de proteína bruta

Se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en el porcentaje de proteína bruta, expresada en base seca (b.s) para las interacciones dobles: variedad x estación y dosis x estación, mientras que para la interacción variedad x dosis no se registró diferencia.

En la Figura 5 se observa la variación del % PB teniendo en cuenta la variedad y la estación del año, el mayor porcentaje de proteína bruta correspondió a la variedad crespa en la estación verano con 25,1%, existiendo diferencias estadísticamente significativas con respecto a la variedad mantecosa que obtuvo 22,7 % en la misma estación y valores inferiores en las estaciones restantes (Cuadro 6).

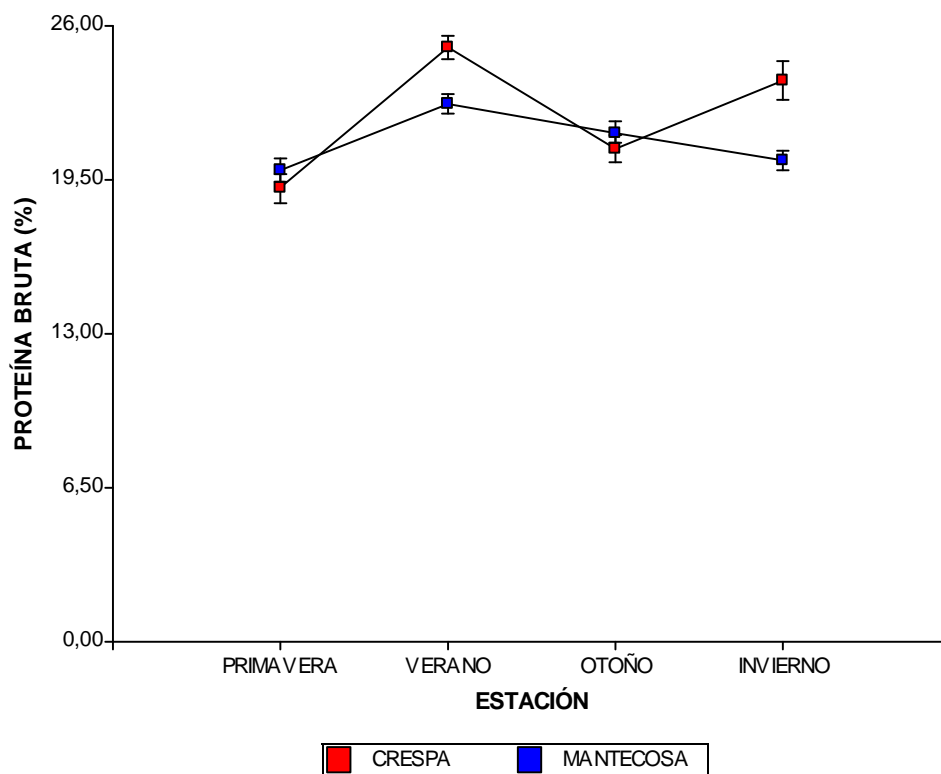


Figura 5. Porcentaje de proteína bruta en dos variedades de lechuga y cuatro estaciones.

En otoño, último cultivo realizado (Cuadro 3), es visible la caída en el porcentaje de proteína bruta, sin encontrar diferencias para ambas variedades, probablemente debido al estrés salino que sufrían las plantas, deducido por la elevada CE (Cuadro 2), coincidiendo con Marchner (1986) que reporta que, al aumentar la salinidad del suelo disminuye la fotosíntesis y metabolismo de las plantas y los efectos tóxicos del sodio en cultivo de lechuga (Zhilong Bie *et al.*, 2004).

En invierno cuando comenzó el trabajo se obtuvo diferencia significativa entre ambas variedades, a pesar de las bajas temperaturas, correspondió a la variedad crespa el mayor valor y éste no difirió del valor obtenido por la misma variedad en verano.

Cuadro 6. Valores medios y diferencia de medias del porcentaje de proteína bruta en dos variedades de lechuga teniendo en cuenta las distintas estaciones del año

Variedades	Estación			
	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Crespa	19,14 a	25,1 e	20,82 abc	23,71 de
Mantecosa	19,91 ab	22,7 cd	21,51 bc	20,31 ab

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

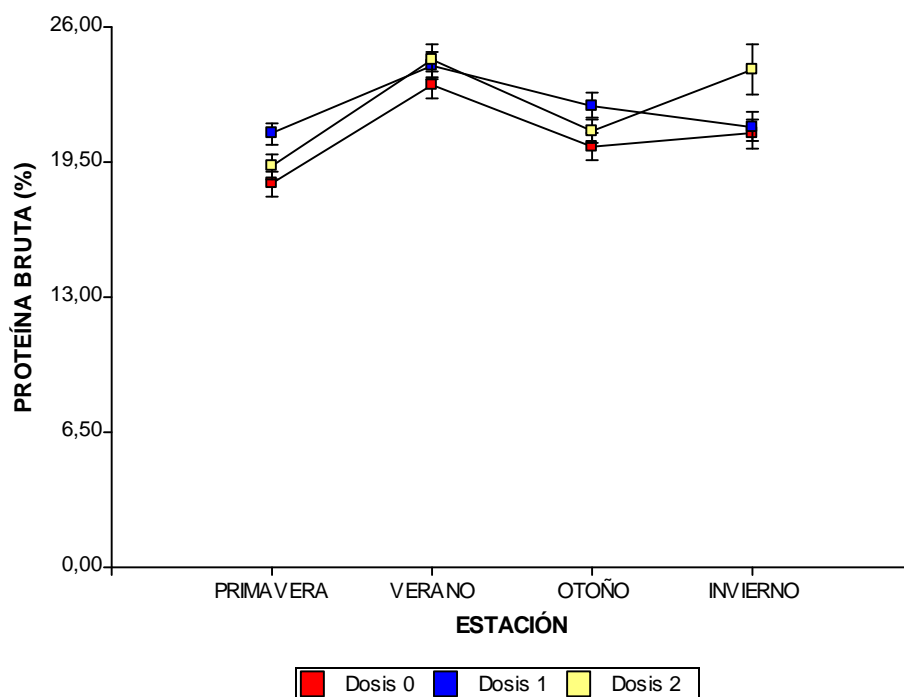


Figura 6. Porcentaje de proteína bruta en dos variedades de lechuga en cada estación del año, teniendo en cuenta los tres niveles de fertilización

En la Figura 6 se observa, que en todas las estaciones, con nivel 0 de fertilización se obtuvo un menor porcentaje de proteína con respecto a los tratamientos en los que hubo agregado de urea (Dosis 1 y 2), se encontró diferencia significativa (Cuadro 7) entre niveles de fertilización solo en invierno, entre dosis 2 y dosis 0 y 1.

Se encontró diferencias significativas entre estaciones. En verano se obtuvieron los valores más altos de proteína, sin diferencias entre los tres niveles de fertilización, los valores obtenidos oscilaron entre 23,21 y 24,39 % para dicha estación, coincidiendo con una alta actividad de la nitrato reductasa (Marchner, 1986; Maynard *et al.*, 1976), aunque tampoco difirieron entre invierno con dosis 2 (23,98% P.B) y otoño con dosis 1 (22,23%).

Con el agregado de 100 kg ha^{-1} de urea, en verano e invierno se obtuvieron los mayores porcentajes de proteína sin diferencia significativa entre los mismos, pero sí con respecto a los demás tratamientos (primavera y otoño) en que se aplicó dicha dosis (Cuadro 7).

Cuadro 7. Valores medidos y diferencia de medias del porcentaje de proteína bruta en lechuga teniendo en cuenta distintas dosis de fertilización y las estaciones del año.

Dosis urea	Estación			
	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
0 (testigo)	18,43 a	23,21 cde	20,27 ab	20,85 abc
1 (50 Kg)	20,85 abc	24,11 e	22,23 bcde	21,2 abcd
2 (100 Kg)	19,29 a	24,39 e	20,98 abc	23,98 de

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Teniendo en cuenta la estación y niveles de fertilización, el valor mínimo de 18,43 % se obtuvo en primavera con dosis 0 y el máximo fue de 24,39 % para verano con 100 kg ha^{-1} de urea, mientras que teniendo en cuenta la variedad el menor valor correspondió a primavera con 19,14 % y el mayor para verano con 25,1 % ambos para lechuga crespa. Los valores menores encontrados en el presente estudio fueron similares a los obtenidos por Mou (2009) en lechuga crespa, mientras que los que los mayores fueron similares a los obtenidos en lechuga romana y “green leaf” (Mou, 2009).

3. Rendimiento de materia verde expresado en kg m^{-2}

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para el rendimiento de lechuga expresado en kg m^{-2} en las interacciones dobles estación x variedad y estación x dosis,

mientras que no se encontró interacción estadísticamente significativa para variedad x dosis (p-valor = 0,4870).

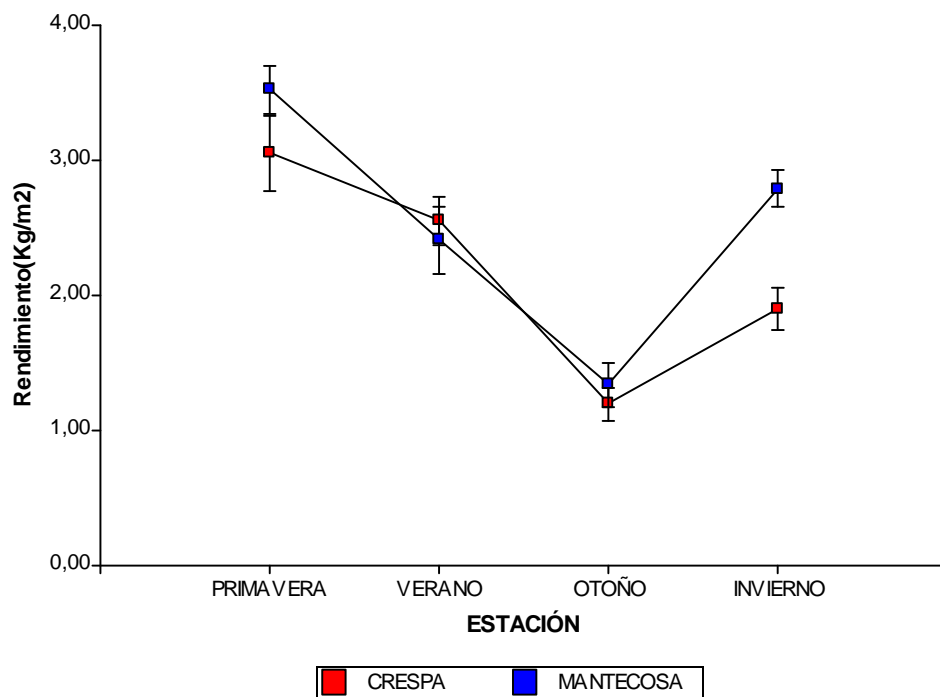


Figura 7. Análisis del rendimiento en materia verde (Kg MV m²) en dos variedades de lechuga para cada estación del año.

Observando lo sucedido con el rendimiento (Figura 7), en primavera el mayor rendimiento fue logrado con la variedad mantecosa con 3,52 kg MVm⁻² no siendo estadísticamente significativo con respecto a la variedad crespa con 3,05.

En verano y otoño se observó una disminución del rendimiento para ambas variedades, no existiendo diferencias significativas dentro de la misma estación (Cuadro 8), aunque sí entre estaciones, esto probablemente debido a la elevada CE eléctrica del suelo, debido a

que en verano, se realizó el tercer cultivo y otoño el cuarto (Cuadro 3), dentro del macro-túnel. Para verano la CE del suelo fue de $8,9 \text{ dS m}^{-1}$, mientras que en otoño le correspondió $7,1$ efecto producido por la calidad del agua de riego disponible. La lechuga está considerada como una especie moderadamente sensible a la salinidad, presenta un umbral de tolerancia a la salinidad de $1,3 \text{ dS m}^{-1}$ en pasta saturada de suelo, con un porcentaje de reducción de la producción de 13% por cada dS m^{-1} adicional (Maas, 1994). Balcaza (2000) informa que con una CE del suelo de $7,2 \text{ dS m}^{-1}$, se estima que se produce hasta un 50% de disminución en el rendimiento.

Cuadro 8. Valores medios y diferencias de medias del rendimiento materia verde (kg MV m^{-2}) de dos variedades de lechuga, teniendo en cuenta las distintas estaciones del año.

Variedad	Estación			
	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Crespa	3,05 cd	2,56 bc	1,20 a	1,90 ab
Mantecosa	3,52 d	2,41 bc	1,34 a	2,79 c

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

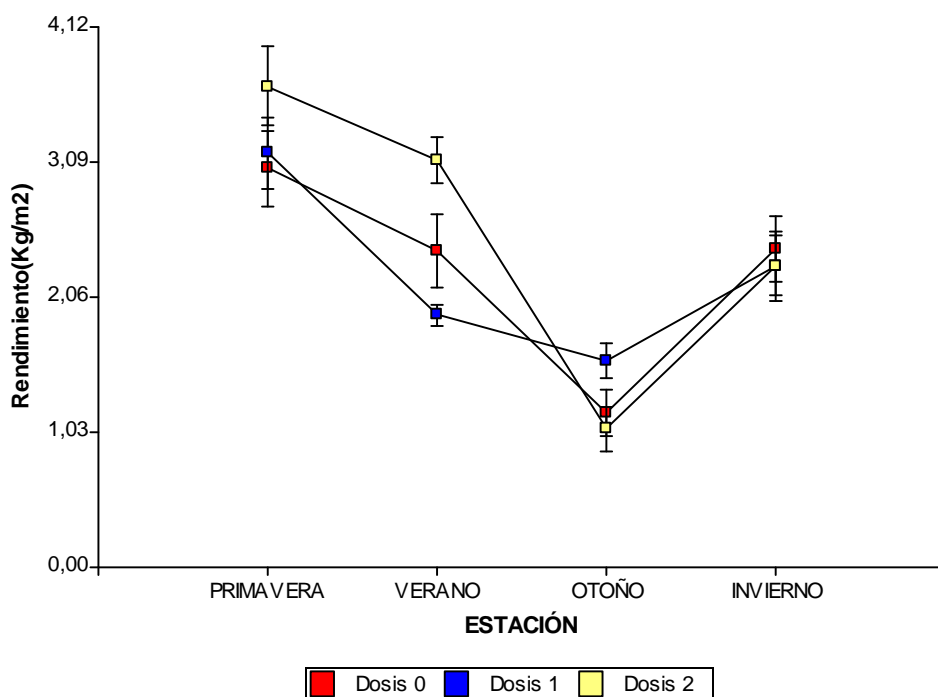


Figura 8. Análisis del rendimiento en materia verde (Kg MV m^{-2}) en dos variedades de lechuga y en cada estación del año, teniendo en cuenta tres dosis de fertilización distintas.

En Figura 8 y Cuadro 9 se presentan los valores de rendimiento obtenidos en las dos variedades de lechuga en cada estación del año teniendo en cuenta las diferentes dosis de fertilización.

En primavera si bien con la dosis 2 se obtiene el mayor rendimiento, este no difiere significativamente de los demás (dosis 0 y 1).

Tanto en otoño como en invierno, no se registraron diferencias significativas entre las distintas dosis, aunque sí al comparar ambas estaciones con igual dosis, siendo mayores los rendimientos obtenidos durante el invierno.

Al analizar lo ocurrido en verano, podemos observar que al igual que en primavera, el mayor rendimiento lo obtenemos con la dosis 2, siendo éste significativamente mayor con respecto a lo sucedido en los tratamientos en los que se aplican dosis 0 y 1 coincidiendo con la tendencia y valores de producción informados por Alcalá *et al.*, 2002 que obtuvo diferencias significativas entre el testigo y fertilización con urea de 25, 50 y 75 kg ha⁻¹.

Cuadro 9. Valores medios y diferencias de medias de rendimiento (Kg MV m⁻²) de lechuga teniendo en cuenta distintas dosis de fertilización y las distintas estaciones del año.

Dosis urea	Estación			
	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
0 (testigo)	3,04 cd	2,41 bc	1,18 a	2,43 bc
1 (50 Kg)	3,16 cd	1,93 ab	1,58 ab	2,30 bc
2 (100 Kg)	3,67 d	3,11 cd	1,05 a	2,30 bc

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

4. Porcentaje de materia seca

En el Cuadro 10 podemos ver que los valores de materia seca (MS) fueron similares para todas las estaciones, aunque difirieron significativamente del tratamiento de otoño el cual obtuvo el mayor valor en % de MS. Los valores del presente estudio con excepción del correspondiente a otoño, fueron similares a los obtenidos por Sánchez (2010 a) en lechuga cresspa y superiores a los encontrados por Defilipis *et al.*, (2006).

Cuadro 10: Valores medios y diferencias de medias del porcentaje de materia seca en las distintas estaciones del año.

	Estación			
	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
MS (%)	5,45 a	5,60 a	7,68 b	5,18 a

CONCLUSIONES

- La fertilización produjo aumentos en el contenido de nitratos en plantas de lechuga, mientras que los menores valores se obtuvieron en los tratamientos que no recibieron fertilización y en lechuga crespa con dosis de 50 kg ha⁻¹ de urea. Teniendo en cuenta la variedad con respecto a la estación del año, lechuga crespa no difirió en ninguna de las estaciones, mientras que la lechuga mantecosa difirió significativamente de crespa solo en primavera.
- Los tenores de nitratos obtenidos, se encuentran debajo de los límites establecidos por la Legislación de la Comisión Europea (EC) N° 563/2002, lo que indicaría que serían inocuos para la salud del consumidor.
- Los valores de proteína bruta en cuanto a variedad x estación tuvieron un comportamiento variable. Se encontró diferencia significativa entre crespa y mantecosa en el verano, correspondiendo 25,1 % para crespa y 22,7 % para mantecosa. Los valores inferiores correspondieron ambas variedades en primavera y mantecosa en invierno. La fertilización produjo incremento del tenor proteico estadísticamente significativo con 50 kg ha⁻¹ en otoño y 100 kg ha⁻¹ en invierno, éstos valores no difirieron de los tres niveles de fertilización en verano, correspondiendo el menor valor, 18,43 % en primavera con nivel 0 de urea y el mayor con 24,39 % con 100 kg ha⁻¹ en verano.
- El mayor rendimiento de lechuga se produjo en primavera, ya sea teniendo en cuenta las variedades o los niveles de fertilización, sin diferencias significativas entre variedades y niveles de fertilización, encontrando un comportamiento inverso con el tenor proteico.

- Los menores rendimientos se obtuvieron en el cuarto cultivo, correspondiente al otoño de 2009, coincidiendo con una elevada conductividad eléctrica del suelo, debido al aporte de sales realizado por el agua de riego. Siendo este un aspecto importante a tener en cuenta cuando se realiza horticultura bajo cubierta.

AGRADECIMIENTO

La finalización de esta tesis, no hubiese sido posible sin la cooperación desinteresada de las personas que a continuación citaremos, muchas de las cuales han sido un soporte muy fuerte en todo momento.

Primero y antes que nada, dar gracias a Dios, por estar con nosotros en todo momento, y por habernos dado la posibilidad de caminar por esta vida universitaria, que sin lugar a dudas nunca la olvidaremos, como también aquellas personas que han sido sostén y compañía durante todo el periodo de estudio.

A la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa que nos facilitó los medios para poder llevar adelante este trabajo.

A la Ing. Agr. Adriana Gili que nos ayudó con el análisis estadístico de esta investigación.

A la Cátedra de Climatología de la Facultad de Agronomía, UNLPam., que nos facilitó los datos climáticos.

Al Sr. Abel Parodi, Sr. Juan Morillo, Ing. Agr. Oscar Siliquini, Ing. Agr. Pablo Olivieri, y a personas muy importantes en nuestra vida, como son aquellos grandes compañeros y amigos que nos dio la Facultad.

Un agradecimiento especial a nuestra directora, Ing. Agr. Teresa M. Sánchez, que nos ayudó y prestó toda su colaboración con ideas y sugerencias para la realización de esta tesis, como también así al Lic. Germán Morazzo que colaboró gentilmente.

Agradecer hoy y siempre a nuestras familias, como son nuestros hermanos, sobrinos y padres que día a día nos han dado su apoyo y contención.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcalá, A.; N. Fernández y C. Aguirre. 2002. Respuesta del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) a la fertilización nitrogenada. En: www.unne.edu.ar/cyt/2002/05-Agrarias/A-083.pdf. 20/05/2011.
- Balcaza. L. F. 2000. Importancia de la calidad de agua de riego en los cultivos bajo cubierta . En: www.inta.gov.ar/Sanpedro/info/doc/hor/lb_001-htm. 18/04/2011.
- Blom-Zandstra, M. and A. Eenick, 1986. Nitrate concentration and reduction in different genotypes of lettuce. J. of American Society of Horticulture Science 111: 908-911.
- Cárdenas-Navarro, R.; S. Adamowicz and P. Robin. 1999. Nitrate accumulation in plants: a role for water. J. Exp. Bot. 50: 613 – 624.
- Cataldo, D.A.; M. Haaron; L. Schrader and V.L. Young. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. Commun. S. Sc. and plant analysis 6 (1): 71-80.
- Craddock, V.M. 1983. Nitrosamines and human cancer: proof of an association. Nature 306: 638.
- Defilipis, C.; S. Parían; A. Jiménez y A. Bouzo. 2006. Respuesta al riego en lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en invernadero. III Jornadas de actualización en Riego y fertiriego. INTA Mendoza. Disponible en: www.inta.gov.ar/Mendoza/Jornadas/Trabajospresentados.12/05/2011.

- Dich, J.; R. Jivinen; P. Knekt and P. Penttil. 1996. Dietary intakes of nitrate, nitrite and NDMA in the Finish MobileClinick Health Examination Survey. *Food Addit. Contam.* 15: 541-552.
- Granstedt, R. and R.C. Huffaker. 1982. Identification of the leaf vacuole as major nitrate storage pool. *Plant Physiology* 79: 410-413.
- Hill, M.J. 1990. Nitrates and nitrites from food and water in relation to human disease. In: Ellis Wood (Ed.). *Food Science and Technology*. London, p. 163-193.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos. Censo Nacional Agropecuario 2002.
- Jackson, L. and E. Stivers. 1993. Root distribution of lettuce under commercial production: Implications for crop uptake of nitrogen. *Biological Agr. Hort.*, 9:273-293.
- Maas, E.V. 1994. Testing crops for salinity tolerance. Salinity Laboratory U.S., USDA-ARS, Riverside, C.A.
- Marschner, H. 1986. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, London.
- Maynard, D., A. Baker, P. Minotti and N. Peck. 1976. Nitrate accumulation in vegetables. *Adv. Agron.* 28:71-118.
- Mesinga, T. T., G. J. Speijers, and J. Meulenbelt. 2003. Health implication of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicol Review* 22:41-51.
- Ministerio de Economía de la República Argentina, Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <http://www.indec.mecon.ar/>
- Ministry of Agriculture, Food and Fisheries, MAFF. 1999. Nítrate in lettuce and spinach. *Food Surveillance information sheet* 177. 11.

- Mou, B. 2009. Nutrient content of lettuce and its improvement. *Current Nutrition & Food Science* 5: 242-248.
- Muramoto, J. 1999. Comparison of nitrate content in leafy vegetables from organic and conventional farms in California. Revised version. Center for Agroecology and Sustainable Food System. University of California. Santa Cruz. Santa Cruz, CA 95064. 64 p.
- Richards, L. A. (Ed.). 1977. Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Ed. Limusa. México. 172 p.
- SAGPyA e INDEC 2002. Superficie implantada a campo o bajo cubierta por especie, según Provincia. Total del país.
- Sánchez, T. M. 2010 **a**. Evaluación de la calidad de lechuga (*Lactuca sativa* L) respecto a su contenido de nitratos y materia seca. *Rev. de la Fac. de Agronomía. UNLPam.* Vol. 21: 31-38.
- Sánchez, T. M. 2010 **b**. Evaluación de la calidad de lechuga (*Lactuca sativa* L) en base a contenido de nitratos, teniendo en cuenta la época y horario de corte. 3^{er} Congreso Pampeano del agua. Pág.: 269-275.
- Santamaría, P. 2006. Review: Nitrate in vegetables: toxicity content intake and EC regulation. *J. Sci. Food Agric.* 86: 10-17.
- The EFSA, 2008. Nitrate in vegetables Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain, *The EFSA J.* N° 689: 1-79.
- Tortarolo, G. A. 1998. "Cultivo de lechuga". Ensayo experimental – Informe técnico. E.E.A. del INTA. – Colonia Benítez – Chaco. 4 p.

