

CONTENIDO DE NITRATOS Y PROTEÍNA EN LECHUGA CRESPA Y AMARANTO HORTÍCOLA PRODUCIDOS CON ENMIENDA Y UREA

Teresa Margarita Sánchez¹; Oscar Alberto Siliquini¹; Adriana Anahí Gili¹;
Estela Maris Baudino¹; Germán Carlos Morazzo²

¹ Facultad de Agronomía. UNLPam. Ruta 35, km 334 (6300) Santa Rosa. La Pampa. Argentina.

² Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UNLPam. Ruta 35, km 334. (6300) Santa Rosa. La Pampa. Argentina.

Correo-e: sanchez@agro.unlpam.edu.ar (¹Autor para correspondencia).

RESUMEN

La lechuga (*Lactuca sativa L.*) es la hortaliza más utilizada en ensaladas en Argentina. El amaranto (*Amaranthus mantegazzianus Pass.*) se caracteriza por su gran producción de materia verde y buen contenido proteínico y mineral. Ambas especies son consideradas acumuladoras de nitratos. Para evitar problemas de salud del consumidor, la Comisión Europea regula la cantidad de nitratos en lechuga. Con el objetivo de evaluar la acumulación de nitratos en ambas especies así como el contenido de proteínas y de materia seca, se realizó un ensayo en la Facultad de Agronomía de la UNLPam., en Santa Rosa, La Pampa, Argentina. Se trasplantó lechuga del tipo crespa y se sembró amaranto el 28 de diciembre de 2009. Se aplicaron cuatro niveles de fertilización para ambas especies: 1) Abono base: 10 dm³·m⁻² de estiércol medianamente compostado, 2) Abono doble: 20 dm³·m⁻² de estiércol medianamente compostado, 3) Abono base + 30 kg·ha⁻¹ de urea y 4) Abono base + 60 kg·ha⁻¹ de urea. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cinco repeticiones. Se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de nitratos entre especies y niveles de fertilización. Los valores en lechuga fueron 2.9 % base seca y 2,634 mg·kg⁻¹·fresco⁻¹ y en amaranto 4.1 y 4,764, respectivamente. Para niveles de fertilización, el abono base con 10 dm³·m⁻² difirió del resto de los tratamientos, para ambas especies. El amaranto superó los valores máximos establecidos por la Comisión Europea. En contenido de proteína hubo diferencias significativas entre especies (20.2 % en lechuga y 24.8 % en amaranto).

PALABRAS CLAVES ADICIONALES: *Lactuca sativa L.*, *Amaranthus mantegazzianus Pass.*, nitrato, proteína bruta.

PROTEIN AND NITRATE LEVELS IN CRISP LETTUCE AND VEGETABLE AMARANTH PRODUCED

WITH AMENDMENT AND UREA

ABSTRACT

In Argentina, lettuce (*Lactuca sativa L.*) is the most common vegetable used in salads, while amaranth (*Amaranthus mantegazzianus Pass.*) is characterized by its high production of green matter, with high protein and mineral levels; both species are considered accumulators of nitrate, so in order to avoid health problems for the consumer, the European Commission regulates the levels of nitrate in lettuce. In order to assess the accumulation of nitrates in both species and evaluate the protein levels and dry matter content, a trial was conducted at the Faculty of Agronomy, UNLPam, Santa Rosa, La Pampa, Argentina. On December 28, 2009, crisp lettuce was transplanted and amaranth was sown. Four levels of fertilization were added for both species: 1) Compost base: 10 dm³·m⁻² moderately composted manure, 2) Double Compost: 20 dm³·m⁻² moderately composted manure, 3) Compost base + 30 kg·ha⁻¹ urea and 4) Compost base + 60 kg·ha⁻¹ urea. An experimental design of randomized complete blocks with five replications was employed; significant differences in nitrate levels between species and levels of fertilization were obtained. The values in lettuce were 2.9 % dry basis and 2,634 mg·kg⁻¹·fresh⁻¹ and in amaranth 4.1 and 4,764, respectively. In the case of fertilization levels, compost base with 10 dm³·m⁻² manure differed from other treatments, for both species studied. Under evaluation conditions, amaranth exceeded the thresholds stipulated by the European Commission. Protein levels showed significant differences between species (20.2 % in lettuce and 24.8 % in amaranth).

ADDITIONAL KEYWORDS: *Lactuca sativa L.*, *Amaranthus mantegazzianus Pass.*, nitrate, crude protein.

INTRODUCCIÓN

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una hortaliza de hoja de consumo masivo en el mundo porque es fuente importante de vitaminas, minerales y fibra. En Argentina es muy utilizada en ensaladas (Anónimo, 2005). Por su parte, el amaranto (*Amaranthus mantegazzianus* Pass.) representa una alternativa potencial de cultivo para un área superior a 5'000,000 ha de la región semiárida, al norte de la Patagonia (Covas, 1994), ya que se caracteriza por su producción de materia verde, abundantes rebrotos cuando se corta la parte apical del tallo central, y contenido de proteína cruda que varía entre 18 y 25 % (Troiani y Sánchez, 1992; Troiani *et al.*, 1998). Además, es fuente importante de vitaminas, minerales y fibra (Bertoni y Cattáneo, 1987).

El consumo de alimentos con elevados contenidos de nitratos (NO_3^-) puede ser peligroso para la salud: éstos pueden reducirse a nitritos (NO_2^-) en el cuerpo, combinarse con la hemoglobina de la sangre y causar metahemoglobinemía. Asimismo, pueden reaccionar con aminas secundarias, terciarias y amidas, provenientes de otros alimentos, y formar *N*-nitrosocompuestos de formación endógena (Santamaría, 2006), que son cancerígenos en más de 40 especies animales, incluyendo mamíferos, aves, reptiles y peces (Hill, 1999). Del total de nitratos ingeridos diariamente, entre 72 y 94 % proviene de las hortalizas (Dich *et al.*, 1996). También se considera que la lechuga y el amaranto son especies acumuladoras de nitratos (Santamaría *et al.*, 1999; Sánchez *et al.*, 2007), y si se ingieren con alto contenido de éstos pueden afectar negativamente la salud de los consumidores.

Los NO_3^- y NO_2^- son nutrientes esenciales para la síntesis de proteínas en las plantas. El contenido de NO_3^- representa un balance dinámico entre la tasa de absorción, asimilación y translocación (Maynard *et al.*, 1976), pero bajo ciertas condiciones este balance puede alterarse y producir acumulación de NO_3^- en diferentes órganos de las plantas (Cárdenas-Navarro *et al.*, 1999).

Los factores ambientales que influyen en la acumulación de nitratos son humedad atmosférica, contenido de agua en el sustrato del cultivo, temperatura, radiación y fotoperíodo, mientras que los factores agrícolas son, principalmente, condiciones de manejo y fertilización: dosis y tipos de fertilizantes, momento de aplicación, etc. (Santamaría, 2006). Los fertilizantes más utilizados por los horticultores pampeanos son el estiércol vacuno, urea y fosfato diamónico. Éstos, cuando son aplicados en dosis superiores a las requeridas por el cultivo, pueden incrementar el contenido de nitratos en las hortalizas.

En Argentina no existe legislación sobre el contenido de nitratos en hortalizas, mientras que en los países miembros de la Comunidad Europea existe regulación de los niveles permitidos de nitratos en lechuga y espinaca (*Spinacia oleracea* L.), con el fin de evitar problemas de salud del consumidor. Los niveles máximos de nitratos regulados

INTRODUCTION

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is a leafy vegetable widely consumed in the world because it is an important source of vitamins, minerals and fiber. In Argentina, it is very common in salads (Anonymous, 2005). On the other hand, amaranth (*Amaranthus mantegazzianus* Pass.) represents a potential alternative crop for an area larger than 5,000,000 ha of the semiarid region, to the north of the Patagonia (Covas, 1994), since it is characterized by its production of green matter abundant regrowth when the main stem apex is cut, and crude protein content varying between 18 and 25 % (Troiani and Sánchez, 1992; Troiani *et al.*, 1998). Furthermore, it is an important source of vitamins, minerals and fiber (Bertoni y Cattáneo, 1987).

Food consumption with high levels of nitrate (NO_3^-) can be dangerous for health: they can be reduced to nitrites (NO_2^-) in the body and get mixed with the hemoglobin in blood causing methemoglobinemia. Also, they can react with secondary, tertiary amines and amides from other foods, and form *N*-nitroso compounds of endogenous formation (Santamaría, 2006), which are carcinogenic in more than 40 animal species, including mammals, birds, reptiles and fish (Hill, 1999). The total nitrate taken daily, between 72 and 94 % comes from vegetables (Dich *et al.* 1996). It is also considered that lettuce and amaranth are accumulating nitrate species (Santamaría *et al.*, 1999, Sánchez *et al.*, 2007), and if a large amount of these two is ingested may negatively affect the health of consumers.

NO_3^- and NO_2^- are essential nutrients for protein synthesis in plants. The NO_3^- content represents a dynamic balance between the rate of absorption, assimilation and translocation (Maynard *et al.*, 1976), but under certain conditions this balance may be altered and produce accumulation of NO_3^- in different plant organs (Cárdenas-Navarro *et al.*, 1999).

The environmental factors that influence the accumulation of nitrates are atmospheric moisture, water content in the culture growth medium, temperature, radiation and photoperiod, while the agricultural factors are primarily management conditions and fertilization: dose and types of fertilizer, time of application, etc. (Santamaría, 2006). Cow manure, urea and diammonium phosphate are the fertilizers most commonly used by growers in La Pampa. When these fertilizers are used in higher doses than those required by the crop, the nitrate level in vegetables may increase.

In Argentina there is no legislation on nitrate levels in vegetables, while in the member countries of the European Community there is regulation of allowable levels of nitrates in lettuce and spinach (*Spinacia oleracea* L.), to avoid health problems for consumers. The maximum levels of nitrate regulated by the European Commission (EC) No. 563/2002 (Anonymous, 2004) for lettuce grown under cover are: iceberg lettuce (iceberg) 2.500 mg NO_3^-

por la Comisión Europea (CE), Núm. 563/2002 (Anónimo, 2004), para lechuga cultivada bajo cubierta son: lechuga tipo iceberg (repollada) 2,500 mg NO₃⁻·kg⁻¹ fresco, durante todo el año, mientras que otros tipos de lechugas, como crespa y romana, tienen un máximo de 4,500 NO₃⁻·kg⁻¹ fresco en invierno y 3,500 mg NO₃⁻·kg⁻¹ fresco en verano. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud y la legislación de la CE, obtener plantas de lechuga con contenidos adecuados de nitratos indica calidad y seguridad alimentaria e inocuidad.

Los objetivos de la presente investigación fueron: 1) Evaluar tratamientos de enmienda con base en abono y urea sobre la acumulación de nitratos en cultivo de lechuga crespa y amaranto, cultivados en suelo con niveles de toxicidad de sodio y agua de riego inadecuada, y verificar los niveles de nitratos de estos cultivos en función de los requerimientos para consumo humano, y 2) Evaluar el efecto de la fertilización sobre el contenido de proteína bruta y porcentaje de materia seca (MS) en ambas hortalizas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características climáticas del lugar

El estudio se realizó en la huerta de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa, en Santa Rosa, La Pampa, Argentina, que está ubicada a 36° 34' S, 64° 16' W y 210 m de altitud (Vergara y Casagrande, 2002). Esta zona forma parte del área semiárida pampeana central, comprendida entre las isoyetas de 850 y 600 mm (Roberto *et al.*, 1994). El régimen de precipitación tiene tendencia monzónica y las mayores precipitaciones se concentran entre los meses de octubre a marzo. El periodo de heladas se extiende desde abril hasta octubre. El suelo se clasifica como ústico y su textura es variada, aunque las más comunes son la arenosa, arenosa franca, franca arenosa y franca (Fernández y Casagrande, 1998; Fernández *et al.*, 2003). En el Cuadro 1 se indican las condiciones climáticas que prevalecieron durante el periodo en el que se realizó el experimento.

CUADRO 1. Precipitaciones y temperaturas medias mensuales durante el período del cultivo de lechuga y amaranto.

TABLE 1. Monthly average temperatures and precipitations during the period of cultivation of lettuce and amaranth.

Factor	Diciembre 2009 December 2009	Enero 2010 January 2010	Febrero 2010 February 2010
Precipitación media mensual (mm) Monthly average rainfall (mm)	100.3	66.9	143.3
Temperatura media mensual (°C) Mean monthly temperature (°C)	20.9	24.4	21.6

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

Source: Cátedra de Climatología Agrícola de la Facultad de Agronomía, UNLPam.

·kg⁻¹ fresh weight, throughout the year, while other types of lettuce, as crisp lettuce and romaine lettuce have a maximum of 4.500 NO₃⁻·kg⁻¹ fresh weight in winter, and 3.500 mg NO₃⁻·kg⁻¹ in summer. According to the World Health Organization and the EC legislation, obtaining lettuce plants with adequate levels of nitrates indicates quality and food security and safety.

The objectives of this investigation were: 1) evaluate amendment treatments based on fertilizer and urea on the accumulation of nitrate in crisp lettuce and amaranth crops, grown in soil with toxic levels of sodium and inadequate irrigation water, and verify the levels of nitrates from these crops according to the requirements for human consumption, and 2) evaluate the effect of fertilization on crude protein content and percentage of dry matter (DM) in both vegetables.

MATERIALS AND METHODS

Climatic characteristics of the site

The study was conducted in the field of the Faculty of Agronomy of the Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, La Pampa, Argentina, which is located at 36° 34' S, 64° 16' W and an altitude of 210 m (Vergara and Casagrande, 2002). This area belongs to the Semiarid Central Pampa Region, between the isohyets of 850 and 600 mm (Roberto *et al.*, 1994). The precipitation regime has a monsoon trend and the highest rainfall occur between the months of October to March. The frost period extends from April to October. Soil is classified as ustic and its texture is varied, although the most common soils are sandy, loamy sand, sandy franc and franc (Fernández and Casagrande, 1998; Fernández *et al.*, 2003). Table 1 shows the climatic conditions that prevailed during the period in which the experiment was performed.

Irrigation water characteristics

Groundwater was used to irrigate, its characteristics were: 2.37 dS·m⁻¹ electrical conductivity (EC) at 25 °C, pH:

Características del agua de riego

Para regar se utilizó agua subterránea, cuyas características son: $2.37 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ de conductividad eléctrica (CE) a 25°C ; pH: 8.10; relación de adsorción de sodio (RAS): 11.8; y carbonato de sodio residual (CSR): $3.4 \text{ meq} \cdot \text{dm}^{-3}$. Esta agua se clasifica como $\text{C}_4 \text{ S}_3$ (Richards, 1977). No es apropiada para riego bajo condiciones ordinarias, pero puede utilizarse ocasionalmente, y puede producir niveles tóxicos de sodio intercambiable en la mayor parte de los suelos. Con respecto al CSR, no fue de buena calidad (Richards, 1977). A ambos cultivos se aplicó riego por goteo en forma suplementaria, cada tres días con una lámina aproximada de 7 mm, para mantener la humedad, debido a la calidad del agua disponible.

Características del suelo

El suelo del sitio experimental tuvo las características siguientes: 0.079 % de nitrógeno (N), 65.7 ppm de fósforo (P), $0.23 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ de CE y pH de 8.4. En tanto que el estiércol usado contenía 0.59 % de N total, 520 ppm de P, $1.8 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ de CE y pH de 9.5.

Antes de establecer el experimento, se distribuyeron $10 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ de estiércol de vaca, compostado durante dos meses, en toda la superficie del suelo. Una semana antes de comenzar el experimento, el estiércol fue incorporado con rotocultivador a 0.30 m de profundidad, para agregar materia orgánica y nutrientes al suelo, y atenuar los efectos negativos que podría causar el agua de riego por sus características de salinidad y sodicidad.

Diseño de la experiencia

El 28 de diciembre de 2009 se trasplantó lechuga del tipo crespa variedad Brisa, de platabandas de 0.90 m de ancho, a parcelas de 5 m de largo. Las plántulas de 0.15 m de altura, con 3-4 hojas verdaderas, con cepellón, se colocaron a 0.25 m de separación entre sí en sistema a tresbolillo, a los costados de la cinta de riego a 0.10 m de la misma, las mangueras de riego fueron colocadas a 0.5 m. De esta manera se establecieron cuatro líneas de lechuga para tener $20 \text{ plantas} \cdot \text{m}^{-2}$. Se utilizaron estructuras parabólicas de hierro cubiertas con malla al 30 % de sombra, para amortiguar los efectos de las altas temperaturas y la radiación solar. El mismo día se sembró amaranto, a chorillo, en surcos distanciados a 0.70 m. En cada parcela se sembraron cuatro surcos de 5 m de longitud. El 11 de enero de 2010 se resembró. El cultivo se mantuvo al aire libre sin cobertura.

Se consideraron dos factores de estudio: cultivo, con dos niveles, lechuga y amaranto; y tipo de fertilización o enmienda, con cuatro tipos: aplicación de $10 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ de estiércol (Ab), aplicación de $20 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ de estiércol (Ad), aplicación de 10 dm^3 de estiércol + $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de urea (Ab+urea) y aplicación de 10 dm^3 de estiércol + $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de urea (Ab+2urea). El diseño de tratamientos fue un factorial 2×4 que generó ocho tratamientos. El dise-

8.10; sodium adsorption ratio (SAR): 11.8; and residual sodium carbonate (RSC): $3.4 \text{ meq} \cdot \text{dm}^{-3}$. This water is classified as $\text{C}_4 \text{ S}_3$ (Richards, 1977). It is not suitable for irrigation under ordinary conditions, but can be employed occasionally, and is capable of producing toxic levels of exchangeable sodium in most soils. With respect to RSC, it was not of good quality (Richards, 1977). Drip irrigation in supplemental form was utilized for both crops every three days; a sheet about 7 mm was used to keep the moisture due to the quality of water available.

Soil characteristics

In the experimental field, soil had the following characteristics: 0.079 % nitrogen (N), 65.7 ppm phosphorus (P), $0.23 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ EC and a pH of 8.4. The manure used contained 0.59 % total N, 520 ppm P, $1.8 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ EC and a pH of 9.5.

Prior to the experiment, $10 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ cow manure were distributed, composted for two months, across the soil surface. A week before starting the experiment, manure was incorporated using a rototiller to 0.30 m depth, to add organic matter and nutrients to the soil, and mitigate negative effects that could provoke irrigation water due to its salinity and sodicity characteristics.

Experiment design

On December 28, 2009 crisp lettuce variety Brisa was transplanted in 0.90 m seedbeds, in 5 m long plots. Seedlings of 0.15 m height, with 3-4 true leaves, with root ball were placed 0.25 m apart from each other in staggered system and 0.10 m from the irrigation tape; irrigation hoses were placed at 0.5 m. In this way, four lines of lettuce were established with $20 \text{ plants} \cdot \text{m}^{-2}$. Parabolic structures of iron covered with mesh (30 % shade) were used to reduce the effects of high temperatures and solar radiation. That same day amaranth was sown in furrows (furrows every 0.70 m). In each plot, four rows of 5 m were made. On January 11, 2010 amaranth was replanted. Crop was maintained without cover.

Two factors were considered in this study: crop, with two levels, lettuce and amaranth; and type of fertilization or amendment, with four types: addition of $10 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ manure (Ab), addition of $20 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ manure (Ad), addition of 10 dm^3 manure + $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ urea (Ab+urea) and addition of 10 dm^3 manure + $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ urea (Ab+2urea). The treatment design was the factorial 2×4 that generated eight treatments. The experimental design was a randomized complete block with five replications.

On February 15, 2010 lettuce plants were harvested and 0.20-0.25 m of the stem apex of amaranth plants was cut off the two inner rows of each plot.

Analytical determinations

The fresh weight of a lettuce was obtained and samples of 0.400 to 0.500 kg of amaranth were evaluated using an analytical balance: accurate to 0.01g. Immediately,

ño experimental fue bloques completos al azar con cinco repeticiones.

El 15 de febrero de 2010 se cosecharon las plantas de lechuga y se cortaron de 0.20 a 0.25 m apicales del amaranto de los dos surcos interiores de cada parcela.

Determinaciones analíticas

Se determinó el peso fresco de una planta de lechuga y se tomaron muestras de 0.400 a 0.500 kg de amaranto, con balanza de precisión ± 0.01 g. Inmediatamente se colocaron las muestras sobre bandeja de cartón, en estufa con circulación de aire a 60 °C, hasta obtener peso seco. Con estos datos se obtuvo el porcentaje de materia seca. Las muestras secas fueron molidas, con molinillo tipo Wiley, hasta un tamaño de 1 mm. Para determinar el contenido de nitratos se utilizó una submuestra obtenida con molinillo tipo Wiley, cribada con la malla de 60 mesh. La determinación química se realizó mediante método espectrofotocolorimétrico (Cataldo *et al.*, 1975), utilizando equipo Metrolab 1700. El nitrógeno (N) orgánico fue determinado por método de semi-micro Kjeldahl, y la proteína bruta se obtuvo de multiplicar el porcentaje de N por el factor de conversión de 6.25 (Volonteri y Jonas, 1981).

Análisis estadísticos

Se hizo un análisis de la varianza y, con base en los resultados, se llevó a cabo la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). Se usó el software estadístico InfoStat/P (Di Rienzo *et al.*, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hubo diferencias altamente significativas (Cuadro 2) entre especies y nivel de enmienda con respecto al contenido de NO_3^- en base seca y en peso fresco. Para el contenido de materia seca (%) las hubo entre especie y la interacción entre nivel de enmienda y especie, y para la proteína bruta (%) sólo hubo efecto de la especie.

Los valores medios para lechuga y amaranto fueron 2.9 y 4.1 %, respectivamente (Cuadro 3). Éstos fueron similares a los obtenidos por Muramoto (1999), quien determinó contenidos máximos de 2.96 % en lechuga tipo Iceberg con manejo convencional y 2.95 % para lechuga con manejo orgánico; también informa valores de 3.22 y 3.92 % NO_3^- para lechuga tipo romana, en huertas con 15 años de manejo convencional y orgánico, respectivamente.

Respecto a la adición de enmienda, no se encontraron diferencias significativas en los contenidos de NO_3^- entre el tratamiento Ab y Ab+urea, pero sí se encontraron diferencias del tratamiento Ab con los tratamientos Ad y Ab+2urea (Cuadro 3). Esto probablemente debido a la escasa cantidad de N que contenía el suelo antes de la incorporación del estiércol.

Los valores máximos de nitratos se obtuvieron con la aplicación de Ab+2urea y Ad (Cuadro 3). Esto coincide

samples were placed on cardboard tray in an oven with air circulation at 60 °C to obtain dry weight. With these data the percentage of dry matter was obtained. Dried samples were milled using a Wiley mill until samples had a size of 1 mm. To determine the levels of nitrates a subsample was used, which was obtained by using a Wiley mill, sieved with 60 mesh. The chemical determination was performed by the spectrophotometric method (Cataldo *et al.*, 1975), employing the Metrolab 1700. Organic nitrogen (N) was obtained using the semimicro-Kjeldahl method and crude protein by means of multiplying the percentage of N by the conversion factor of 6.25 (Volonteri y Jonas, 1981).

Statistical analysis

An analysis of variance was carried out and, based on the results, the Tukey's comparison test ($P \leq 0.05$) was conducted. The InfoStat/P statistical software was used (Di Rienzo *et al.*, 2011).

RESULTS AND DISCUSSION

Highly significant differences (Table 2) were observed between species and level of amendment with respect to the content of NO_3^- in dry basis and wet weight. Dry matter content (%) showed differences between species and interaction between species and amendment level; crude protein (%) only showed effect of the species.

Mean values for lettuce and amaranth were 2.9 and 4.1 %, respectively (Table 3). These were similar to those obtained by Muramoto (1999), who determined maximum levels of 2.96 % in iceberg lettuce with conventional management and 2.95 % for lettuce with organic management; he also reports values of 3.22 and 3.92 % NO_3^- for roman lettuce, in fields with 15 years of conventional and organic management, respectively.

With regard to the addition of amendments, no significant differences in the content of NO_3^- between treatment Ab and Ab+urea were found; on the other hand, differences of treatment Ab with treatments Ad and Ab+2urea were observed (Table 3), probably due to the limited amount of N containing the ground prior to the addition of manure.

The maximum values of nitrate were obtained with the addition of Ab+2urea and Ad (Table 3). This agrees with the results of Stopes *et al.* (1988) and Barker (1975), who report positive effects on the accumulation of nitrates in spinach (*Spinacia oleracea* L.) when using organic fertilizers. Termine *et al.* (1987) report that when adding organic fertilizers such as manure or blood meal, which are easily degradable, the accumulation of nitrate in spinach may be equal or greater than when adding chemical fertilizers.

For the species, amaranth had higher average concentration of nitrates, and when using Ab no differences were observed comparing with the use of Ab+urea; however, significant differences were observed when using Ab and Ad or Ab+2urea (Table 4).

CUADRO 2: Análisis de la varianza para contenido de nitratos expresados en base seca y peso fresco, contenido de materia seca y de proteína.

TABLE 2. Analysis of variance for nitrate levels expressed in dry basis and fresh weight, content of dry matter and protein.

FV SV	GL DG	NO ₃ · bs	NO ₃ · fresco fresh weight	MS (%) DM (%)	PB (%) CP (%)
Enmienda (En)	3	3.13**	4398202**	3.15ns	2.28ns
Amedment (Am)					
Especie (Es)	1	13.49**	45379650**	65.05**	209.99**
Species (Sp)					
Bloque	4	1.59ns	1744669ns	0.48ns	1.20ns
Block					
En x Es	3	0.28ns	304481ns	8.18**	4.57ns
Am x Sp					

FV: Fuente de variación. GL: Grados de libertad. NO₃ · bs: Contenido de nitratos en base seca. NO₃ · peso fresco: Contenido de nitratos en peso fresco. MS: Contenido de materia seca. PB: Contenido de proteína bruta. **: Significativo con una $P \leq 0.01$. ns: No significativo.

SV: Source of variation. DG: Degrees of freedom. NO₃ · bs: Nitrate levels expressed in dry basis. NO₃ · fresh weight: Nitrate levels expressed in fresh weight. DM: Dry matter content. CP: Crude protein content. **: Significant at $P \leq 0.01$. ns: No significance.

CUADRO 3. Valores medios del contenido de nitratos, expresados en porcentaje en base seca en lechuga y amaranto teniendo en cuenta los tipos de enmiendas.

TABLE 3. Mean values of nitrate levels, expressed in percentage in dry basis of lettuce and amaranth taking into account the types of amendments.

Especie Species	Enmienda/Amendment				Promedio Average
	Ab ^y	Ab +urea	Ab +2urea	Ad	
Amaranto Amaranth	3.5	3.9	4.6	4.4	4.1b
Lechuga Lettuce	2.1	2.9	3.1	3.6	2.9a
Promedio Average	2.8a ^z	3.4ab	3.8b	4.0b	

^zValores con la misma letra en la misma fila no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Tukey, a una $P \leq 0.05$.

^y Ab: aplicación de 10 dm³·m⁻² de estiércol, Ad: Aplicación de 20 dm³·m⁻² de estiércol , Ab+urea: Aplicación de 10 dm³ de estiércol + 30 kg·ha⁻¹ de urea, Ab+2urea: Aplicación de 10 dm³ de estiércol + 60 kg·ha⁻¹ de urea.

^zValues with the same letter in the same line are not significantly different according to Tukey's tests at $P \leq 0.05$.

^y Ab: addition of 10 dm³·m⁻² manure, Ad: addition of 20 dm³·m⁻² manure , Ab+urea: addition of 10 dm³ manure + 30 kg·ha⁻¹ urea, Ab+2urea: addition of 10 dm³ manure + 60 kg·ha⁻¹ urea.

con los resultados de Stopes *et al.* (1988) y Barker (1975), quienes reportan efectos positivos sobre la acumulación de nitratos en espinaca (*Spinacia oleracea L.*) cuando se utilizan fertilizantes orgánicos. Termine *et al.* (1987) informan que cuando se agregan fertilizantes orgánicos, como harina de sangre o estiércol, que son fácilmente degradables, la acumulación de nitratos en espinaca puede ser igual o mayor que cuando se agregan fertilizantes químicos.

Con respecto a las especies, el amaranto presentó mayor concentración media de nitratos, y al usar Ab no presentó diferencias con el uso de Ab+urea; sin embargo,

Following the recommendations of the European Commission, that establishes 2500 mg NO₃ · kg⁻¹ fresh weight as limit value for lettuce grown in fields in the spring-summer months and 3,500 mg NO₃ · kg⁻¹ fresh weight in lettuce grown under cover, in this study only the treatments that received Ab and Ab+urea had acceptable levels of nitrates, while treatments Ad or Ab+2urea exceeded the recommended levels. This might indicate an excess of nitrogen in soil, due to the high mineralization of manure in summer and the addition of urea, which agrees with that reported by Santamaría (2006). Analyzing the species, the average obtained in lettuce was 2,634.3 mg NO₃ · kg⁻¹ fresh

CUADRO 4. Valores medios del contenido de nitratos expresados en mg NO₃⁻·kg⁻¹ fresco en lechuga y amaranto teniendo en cuenta el tipo de enmienda.

TABLE 4. Mean values of nitrate levels expressed in mg NO₃⁻·kg⁻¹ fresh weight of lettuce and amaranth taking into account the types of amendments.

Especie Species	Enmienda/Amendment				Promedios Averages
	Ab^y	Ab +urea	Ad	Ab +2urea	
Amaranto Amaranth	3906.0	4608.4	5401.8	5142.0	4764.6b
Lechuga Lettuce	1779.2	2428.0	2869.6	3460.4	2634.3a
Promedios Averages	2842.6a ^z	3518.2ab	4135.7b	4301.2b	

^zValores con la misma letra en la misma fila no difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Tukey, a una $P \leq 0.05$.

^yAb: aplicación de 10 dm³·m⁻² de estiércol, Ad: Aplicación de 20 dm³·m⁻² de estiércol , Ab+urea: Aplicación de 10 dm³ de estiércol + 30 kg·ha⁻¹ de urea, Ab+2urea: Aplicación de 10 dm³ de estiércol + 60 kg·ha⁻¹ de urea.

^zValues with the same letter in the same line are not significantly different according to the Tukey's tests at $P \leq 0.05$.

^yAb: adition of 10 dm³·m⁻² manure, Ad: addition of 20 dm³·m⁻² manure , Ab+urea: addition of 10 dm³ manure + 30 kg·ha⁻¹ urea, Ab+2urea: addition of 10 dm³ manure + 60 kg·ha⁻¹ urea.

CUADRO 5. Valores medios y comparación de medias del contenido de materia seca (%) en lechuga y amaranto teniendo en cuenta los niveles de enmienda.

TABLE 5. Mean values and comparison of means of dry matter content (%) in lettuce and amaranth taking into account the amendment levels.

Especie Species	Enmienda/Amendment				Promedio Average
	Ad^y	Ab+urea	Ab	Ab+2urea	
Lechuga Lettuce	8.01 a ^z	8.47 a	8.71 a	11.20 b	9.10
Amaranto Amaranth	12.23 b	11.81 b	11.34 b	11.22 b	11.25

^yAb: aplicación de 10 dm³·m⁻² de estiércol; Ad: aplicación de 20 dm³·m⁻² de estiércol; Ab+urea: aplicación de 10 dm³ de estiércol + 30 kg·ha⁻¹ de urea; Ab+2urea: aplicación de 10 dm³ de estiércol + 60 kg·ha⁻¹ de urea.

^zValores con la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

^yAb: addition of 10 dm³·m⁻² manure; Ad: addition of 20 dm³·m⁻² manure; Ab+urea: addition of 10 dm³ manure + 30 kg·ha⁻¹ urea; Ab+2urea: addition of 10 dm³ manure + 60 kg·ha⁻¹ urea.

^zValues with the same letter within each column do not differ significantly according to the Tukey's test at $P \leq 0.05$.

se encontraron diferencias significativas entre el Ab y Ad o Ab+2urea (Cuadro 4).

Atendiendo las recomendaciones de la Comisión Europea, que establece 2,500 mg NO₃⁻·kg⁻¹ fresco como valor límite para lechuga producida al aire libre en los meses de primavera-verano y 3,500 mg NO₃⁻·kg⁻¹ fresco en lechugas producidas bajo cubierta, en este estudio sólo los tratamientos que recibieron Ab y Ab+urea presentaron niveles admisibles de nitratos, mientras que los tratamientos Ad o Ab+2urea superaron los niveles recomendados. Esto podría indicar un exceso de nitrógeno en el suelo, debido a

weight, which is less than the limits set by the European Commission, when the crop is under cover (Table 4).

In the case of amaranth, the average content was 4764.6 mg NO₃⁻·kg⁻¹ fresh weight (Table 4), which exceeded the limit value established for lettuce in summer, despite the fact that they are different species. Considering that amaranth can be grown only in summer season and that is used to prepare salads, it would be unwise to consume it raw, but boiled as recommended with other leaf vegetables (Prasad and Chetty, 2008), so that cooking water eliminates many of their nitrates.

CUADRO 6. Valores medios y comparación de medias de proteína bruta (%) en lechuga y amaranto teniendo en cuenta los niveles de enmienda.

TABLE 6. Mean values and comparison of means of crude protein (%) in lettuce and amaranth taking into account the amendment levels.

Especie Species	Enmienda/Amendment				Promedios Averages
	Ab	Ab +urea	Ad	Ab +2urea	
Amaranto					
Amaranth	24.1	24.9	23.9	26.3	24.8b
Lechuga					
Lettuce	20.0	20.8	20.3	19.7	20.2a
Promedios					
Averages	22.0a	22.8a	22.1a	23.0a	

^aValores con la misma letra no difieren significativamente de acuerdo con la prueba de Tukey, a una $P \leq 0.05$.

^yAb: aplicación de $10 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ de estiércol, Ad: Aplicación de $20 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ de estiércol , Ab+urea: Aplicación de 10 dm^3 de estiércol + $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de urea, Ab+2urea: Aplicación de 10 dm^3 de estiércol + $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de urea.

^zValues with the same letter do not differ significantly according to the Tukey's test at $P \leq 0.05$.

^yAb: addition of $10 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ manure, Ad: addition of $20 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ manure , Ab+urea: addition of 10 dm^3 manure + $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ urea, Ab+2urea: addition of 10 dm^3 manure + $60 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ urea.

la alta mineralización del estiércol en época estival y a la adición de urea, lo cual coincide con lo reportado por Santamaría (2006). Analizando las especies, el promedio obtenido en lechuga fue $2,634.3 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ fresco, el mismo es inferior a los límites estipulados por la Comisión Europea cuando el cultivo se realiza bajo cubierta (Cuadro 4).

En amaranto el contenido promedio fue de $4,764.6 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ fresco (Cuadro 4). Éste superó al valor límite establecido para lechuga en verano. Aunque se trata de especies diferentes, teniendo en cuenta que el amaranto se puede cultivar sólo en periodo estival y con él se preparan ensaladas, no sería conveniente consumirlo crudo sino hervido, como se recomienda con otras hortalizas de hoja (Prasad y Chetty, 2008), para que a través del agua de cocción se elimine gran parte de sus nitratos.

Los contenidos de materia seca (MS) en lechuga al utilizar la enmienda Ab, Ab+ urea y Ad fueron inferiores que con la utilización de Ab+2urea. En tanto que en amaranto no se evidenciaron diferencias en los contenidos de MS con ninguno de los tipos de enmiendas utilizados (Cuadro 5). El contenido de MS en lechuga fue superior a los encontrados por Muramoto (1999), Turazi *et al.* (2006) y Defilipis *et al.* (2006), debido, probablemente, al estrés hídrico generado por disminución de riegos para evitar salinización del suelo. Una incipiente situación de estrés hídrico explicaría la acumulación diferencial de biomasa seca, considerando que esta situación cambiaría la actividad de fuentes y destinos, al permitir una acumulación de fotoasimilados para luego ser repartidos (Loomis y Connor, 2002). El elevado contenido de MS en lechuga con respecto a los encontrados por otros autores hace que no se diluyan en gran manera los nitratos, cuando los mismos se expresan en $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ fresco. En amaranto los valores de MS fueron similares a los encontrados por Troiani *et al.* (2005) en *A. mantegazzianus* cosechado a los 42 días.

La proteína es considerada un nutriente esencial en la alimentación; el mayor tenor de porcentaje de proteína bru-

When amendments Ab, Ab+ urea and Ad were used, dry matter (DM) contents in lettuce were lower than when Ab+2urea was used. While in amaranth no difference were observed in the contents of DM with any of the types of amendments used (Table 5). The DM content in lettuce was higher than those found by Muramoto (1999), Turazi *et al.* (2006) and Defilipis *et al.* (2006), probably due to water stress generated by the reduction of risks to prevent soil salinization. An incipient situation of water stress would explain the differential accumulation of dry biomass, considering that this would change the activity of sources and sink, by allowing an accumulation of photoassimilates to be distributed afterwards (Loomis and Connor, 2002). The high content of DM in lettuce compared to those found by other authors do not allowed the dilution of the nitrates, when they are expressed in $\text{NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ fresh weight. In the case of amaranth, MS values were similar to those found by Troiani *et al.* (2005) in *A. mantegazzianus* harvested at 42 days.

Protein is considered an essential nutrient in diet; the higher content of crude protein percentage (CP) corresponded to amaranth, with 24. 8 % (Table 6). This value was similar to that found by Modi (2007) in *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* and *A. tricolor*, harvested at 40 days. This author reports that the percentage of CP in the different amaranths studied decreased with plant age and growth temperature. The value obtained in this study was much lower than that reported by Makobo *et al.* (2010), who obtained values between 42 and 50 % in leaves of *Amaranthus cruentus* L. and Mnkeni *et al.* (2007), whose values ranged between 25 and 31 %. The value in lettuce was 20.2 % (Table 6). Taking into account the protein content in lettuce and the percentage of MS obtained in this study, for every 100 g of fresh lettuce consumed, it would be provided approximately 1.6 g of protein, a greater value to that reported by Mou (2009) in different types of lettuce; while for amaranth, due to it has a higher percentage of

ta (PB) correspondió a amaranto, con un 24.8 % (Cuadro 6). Este valor fue similar al encontrado por Modi (2007) en *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. tricolor*, cosechado a los 40 días. Este autor informa que el porcentaje de PB en los diferentes amarantos estudiados disminuyó con la edad de la planta y la temperatura de crecimiento. El valor obtenido en esta investigación fue muy inferior al reportado por Makobo *et al.* (2010), quien obtuvo valores entre 42 y 50 % en hojas de *Amaranthus cruentus* L. y Mnkeni *et al.* (2007), cuyos valores oscilaron entre 25 y 31 %. El valor en lechuga fue de 20.2 % (Cuadro 6).

Teniendo en cuenta el tenor proteínico de lechuga y el porcentaje de MS obtenidos en este estudio, por cada 100 g de lechuga fresca consumida se aportaría, aproximadamente, 1.6 g de proteína, valor superior a lo informado por Mou (2009) en diferentes tipos de lechuga; mientras que para el amaranto, como éste posee mayor porcentaje de PB y de MS, comparado con lechuga, por cada 100 g de producto fresco se estarían ingiriendo 2.88 g de proteína bruta.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del estudio, se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de nitratos entre amaranto hortícola y lechuga crespa. Los tratamientos de enmienda con base en abono y urea ejercieron un efecto positivo en la acumulación de NO_3^- en ambas hortalizas. Los menores valores de NO_3^- se obtuvieron con el agregado de 10 $\text{dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ de estiércol con dos meses de compostaje y 10 $\text{dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ de estiércol + 30 $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de urea para ambas especies.

Si bien las dos hortalizas estudiadas se consideran acumuladoras de nitratos, los menores valores fueron en lechuga, por lo que el amaranto no debe consumirse crudo, para evitar posibles problemas de salud del consumidor.

Para proteína bruta, los diferentes niveles de enmienda y urea adicionados no incrementaron los valores en ninguna de las especies.

El amaranto estudiado obtuvo mayores porcentajes de materia seca y proteína bruta que difirieron significativamente de lechuga.

LITERATURA CITADA

- ANÓNIMO. 2004. FSIS 74/05. UK monitoring programme for nitrate in lettuce and spinach. www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsis7405.pdf.
- ANÓNIMO. 2005. Mercado Central Argentino. Inspección de frutas y hortalizas. Boletín de Calidad N° 6. www.mercadocentral.com.ar/site2006/publicaciones.
- BARKER, A. V. 1975. Organic vs inorganic nutrition and horticultural crop quality. *HortScience* 10(1): 50–53.
- CP and DM, compared to lettuce, for every 100 g of fresh product, 2.88 g crude protein would be ingested.
- CONCLUSIONS**
- Under study conditions, significant differences were observed in nitrate content between crisp lettuce and vegetable amaranth. Amendment treatments based on manure and urea had a positive effect on the accumulation of NO_3^- for both vegetables. The lowest values of NO_3^- were obtained with the addition of 10 $\text{dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ manure with two months of composting and 10 $\text{dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ manure + 30 $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ urea for both species.
- Even though the two vegetables are considered accumulators of nitrates, the lowest values were obtained for lettuce, so amaranth should not be eaten raw to avoid potential health problems for the consumer.
- In the case of crude protein, different levels of amendment and urea did not increase the values in either species.
- Amaranth had greater percentages of dry matter and crude protein that differed significantly from lettuce.

End of English Version

- BERTONI, M. H.; CATTANEO, P. 1987. Aspectos nutricionales del follaje y de la semilla de Amarantos Americanos Cultivados, pp. 63-86. En: Actas de las Primeras Jornadas Nacionales sobre Amarantos. Universidad Nacional de La Pampa. Fac. de Agr. Santa Rosa. La Pampa, Argentina.
- CÁRDENAS-NAVARRO, R.; ADAMOWICZ, S.; ROBIN, P. 1999. Nitrate accumulation in plants: a role for water. *J. Exp. Bot.* 50: 613-624.
- CATALDO, D.A.; HAARON, M.; SCHRADER, L.; YOUNG, V. L. 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. S. Sci. and Plant Analysis* 6(1): 71-80.
- COVAS, G. 1994. Perspectiva del cultivo de los amarantos en la República Argentina. EEA, INTA Anguil. Santa Rosa, La Pampa, Argentina. Publicación Miscelánea 13. 10 p.
- DEFILIPIS, C.; PARIANI, S.; JIMENEZ, A.; BOUZO, A. 2006. Respuesta al riego en lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivada en invernadero. Trabajos Presentados en las III Jornadas de Actualización en Riego y Fertiriego. INTA Mendoza, Argentina. 8 p.
- DICH, J.; JARVINEN, R.; KNEKT, P.; PENTTILA, P. L. 1996. Dietary intakes of nitrate, nitrite and NDMA in the Finnish mobile clinic health examination survey. *Food Additives and Contaminants* 13: 541–552.
- DI RIENZO J.A.; CASANOVES F.; BALZARINI M.G.; GONZALEZ L.; TABLADA M.; ROBLEDO C.W. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- FERNÁNDEZ, J.; CASAGRANDE, G. A. 1998. Caracterización agroedáfica del cultivo de trigo en la Provincia de La Pampa y Caracterización agroclimática para el cultivo de trigo en la provincia de La Pampa: pp. 8-18. In: Actualización Técnica del Cultivo del Trigo en la Provincia de La Pampa. Boletín de Divulgación Técnica Nº 58. INTA. E.E.A. Anguil. La Pampa. Argentina. 149 p.
- FERNÁNDEZ, J.; QUIROGA, A.; CASAGRANDE, G. A. 2003. Caracterización agroedáfica y agroclimática del área triguera de la provincia de La Pampa: pp. 1-12. In: Trigo. Actualización 2003. Estación Experim. Agropec. Anguil "Ing. Agr. Guillermo Covas". Publicación de Divulgación Técnica Nº 76. Ediciones INTA. Argentina. 229 p.
- HILL, M. J. 1999. Nitrate toxicity: myth or reality. Brit. J. Nutr. 81: 343-344.
- LOOMIS, R. S.; CONNOR, D. J. 2002. Crop Ecology, Productivity and Management in Agricultural Systems. Cambridge University Press. New York. USA. 591 p.
- MAKOBO, N. D.; SHOKO, M. D.; MTAITA, T. A. 2010. Nutrient Content of Vegetable Amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) At Different Harvesting Stages. World J. Agric. Sci. 6(3): 285-289.
- MAYNARD, D.; BAKER, A.; MINOTTI P.; PECK, N. 1976. Nitrate accumulation in vegetables. Adv. Agron. 28:71-118.
- MNKENI, A. P.; MASIIKA, P.; MAPHAHA, M. 2007. Nutritional quality of vegetable and seed from different accessions of *Amaranthus* in South Africa. Disponible en: <http://www.wrc.org.za>
- MODI, A. T. 2007. Growth temperature and plant age influence on nutritional quality of *Amaranthus* leaves and seed germination capacity. Disponible en: <http://www.wrc.org.za>
- MOU, B. 2009. Nutrient Content of Lettuce and its Improvement. Current Nutrition & Food Science 5(4): 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, CA. 64 p.
- PRASAD, S.; CHETTY, A. A. 2008. Nitrate-N determination in leafy vegetables: Study of the effects of cooking and freezing. Food Chemistry 106: 772-780.
- RICHARDS, L. A. (Ed.). 1977. Diagnóstico y Rehabilitación de Suelos Salinos y Sódicos. Departamento de Agricultura de los EEUU, Laboratorio de Salinidad. Edit. Limusa S.A. D. F., México. 172 p.
- ROBERTO, Z.; CASAGRANDE, G.; VIGLIZZO, E. 1994. Lluvias en la Pampa Central. Tendencias y variaciones del siglo. Cambio climático y agricultura sustentable en la región pampeana. Proyecto de investigación estratégica. Publicación Nº 2. INTA. La Pampa-San Luis. Argentina. 25 p.
- SÁNCHEZ, T.; MARTÍN DE TROIANI, R.; FERRAMOLA, L. 2007. Aplicación de nitratos y cloruros en *Amaranthus tricolor* L. efecto sobre la producción de materia verde, materia seca, contenidos de nitratos y cloruros. Rev. FCA, UNCu. 39(2): 35-42.
- SANTAMARÍA, P.; ELIA, A.; SERIO, F.; TODARO, E. 1999. A survey of nitrate and oxalate content in retail fresh vegetables. J. Sci. Food Agric. 79: 1882-1888.
- SANTAMARÍA, P. 2006. Review Nitrate in vegetables: toxicity content, intake and EC regulation. J Sci. Food Agric. 86: 10-17.
- STOPES, C.; WOODWARD, L.; FORDE, G.; VOGLMAN, H. 1988. The nitrate content of vegetable and salad crops offered to the consumer as from "organic" or "conventional" production systems. Biological Agriculture and Horticulture 5(3): 215-222.
- TERMINE, E. D.; LAILON, B.; TAUPIER-LETAGE, S.; GAUTIER, R.; LAFONT, S.; LAFONT, H. 1987. Yield and content in nitrates, minerals and ascorbic acid of leeks and turnips grown under mineral or organic nitrogen fertilizations. Plant Foods for Human Nutrition 37: 321-332.
- TROIANI, R.; SÁNCHEZ, T. 1992. Rendimiento de materia vegetal, materia seca y contenido de nutrientes y antinutrientes en plantas y rebrotos de *A. mantegazzianus* Pass. cv. Don Juan. El Amaranto y su Potencial, Guatemala C. A. Boletín 1-2: 11-14.
- TROIANI, R. M. de; SÁNCHEZ, T.; FERRAMOLA, L. de. 2005. Incidencia de la fertilización en amaranto. Zona semiárida pampeana. (Argentina). Rev. FCA, UNCu. 37(2): 65-71.
- TROIANI, R. M. de; SÁNCHEZ, T. M.; REINAUDI, N. 1998. Una Amarantácea con posibilidades de consumo y cultivo gráñifero y hortícola. Rev. Fac. Agr. LUZ 15: 30-37.
- TURAZI, C.; JUNQUEIRAS, A.; OLIVEIRAS, S.; BORGES L.. 2006. Acúmulo de nitrato em alface em função da abadacao, horário de colheita e tempo de armazenamento. Horticultura Brasileira 24: 65-70.
- VERGARA, G. T.; CASAGRANDE, G. A. 2002. Estadísticas agroclimáticas de la Facultad de Agronomía, Santa Rosa, La Pampa. Argentina. 13(1-2): 8-70.
- VOLONTERI, H.; JONAS, O. 1981. La determinación del N en materiales biológicos. Bol. Centro Pampeano de Estudios en Cs. Naturales y Agronómicas. 2: 23-30.