

## EFFECTO DE LAS FUENTES NITROGENADAS SOBRE EL CONTENIDO DE NITRATOS Y LECTURAS "SPAD" EN EL CULTIVO DE LECHUGA

### EFFECTS OF THE NITROGEN SOURCES ON LETTUCE NITRATES CONTENT AND OVER "SPAD" LECTURES

Argelia Escalona\*, Mario Santana\*, Ingrid Acevedo\*\*, Vianel Rodríguez\* y Lue Merú Marcó\*

\* Profesores. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Decanato de Agronomía. Barquisimeto, estado Lara. Venezuela. E-mail: eargelia@ucla.edu.ve

\*\* Profesora. UCLA. Decanato de Ciencias Veterinaria. Barquisimeto, estado Lara. E-mail: ingridacevedo@ucla.edu.ve

#### RESUMEN

La acumulación de nitratos en hojas de plantas de lechuga, *Lactuca sativa* L., se considera, entre algunos factores, como respuesta al contenido y el tipo de nitrógeno disponible y este último se puede inferir a través de lecturas "SPAD". Por tal razón, en este ensayo se estableció como objetivo comparar la influencia de diferentes tipos de fertilizantes nitrogenados sobre los niveles de nitratos y las lecturas "SPAD" en las hojas de lechuga. La metodología utilizada consistió en realizar un ensayo experimental en la localidad de Sanare, municipio "Andrés Eloy Blanco", del estado Lara, mediante la siembra del cultivo de lechuga variedad comercial "Great Lakes 659", a las cuales se le aplicó como tratamiento cuatro tipos de fertilizantes nitrogenados, nitrato de calcio, sulfato de amonio, con o sin enmienda orgánica, urea, 15-15-15, a una sola dosis de 200 kg ha<sup>-1</sup> de N y un testigo absoluto. Se evaluó el contenido de nitrato en hoja en masa fresca (MS) y seca (MS), así como lecturas "SPAD". Entre los resultados se encontró efecto del tipo de fuente de N sobre el contenido de nitrato en hojas en MS y MF, y en lecturas "SPAD". En conclusión, el fertilizante Nitrato de calcio presentó los mayores valores de lectura "SPAD" al igual que el contenido de nitrato. Las fuentes de nitrógeno y dosis empleadas no sobrepasan los valores límites de la comunidad europea para lechugas cultivadas al aire libre, por lo cual podrían utilizarse sin ocasionar riesgo a la salud humana.

**Palabras Clave:** *Lactuca sativa* L., enmienda orgánica; contenido de nitratos; verdor.

#### SUMMARY

The accumulation of nitrate on lettuce leaves is considered as a response of the amount and type of the N source: the nitrate level could be identified through "SPAD" lectures. The objective of the current research was to compare the influence of different N fertilizers sources over the nitrates levels in lettuce leaves and the use of "SPAD" lectures to evaluate it. We carried out an experiment with lettuce, Great Lakes 659 variety, in a locality of Sanare, "Andrés Eloy Blanco" county, Lara State, where the impact of four types N fertilizers (Calcium Nitrate and Ammonium Sulphate with or without a complementary organic amendment, urea, and 15-15-15) at a dose of 200 kg ha<sup>-1</sup>, on the content of nitrate in the leaf was evaluated. The relationship between the content of nitrates in leaves and the "SPAD" lectures, and of these with the fresh and dry weight were also evaluated. We found that the N source affects the content of nitrate (91 mg kg<sup>-1</sup>) on dry weight basis and in fresh weight (466 mg kg<sup>-1</sup>), and lectures with "SPAD" (29,070 and 21,600 units), in external and internal leaves respectively. In conclusion, the calcium nitrate fertilizer produced the higher "SPAD" lectures as well as the higher nitrates content. The amount and sources of N used, do not exceed the limits values of the European Community for lettuces growing in open fields, and they could be used without risks for human health.

**Key Words:** *Lactuca sativa* L., organic amendment; nitrate content; greenery.

## INTRODUCCIÓN

En Venezuela el desarrollo de una agricultura intensiva centrada en el monocultivo, influenciado por la revolución verde ha llevado a un abuso en el uso de fertilizantes inorgánicos en la producción de hortalizas. Debido a esto, el agricultor para obtener el máximo rendimiento de sus cosechas ha realizado un uso indiscriminado y sistemático de abonos de estos, especialmente los nitrogenados (FONAIAP, 1995). Esta problemática es más alarmante en el cultivo de la lechuga, *Lactuca sativa* L., ya que la eficiencia del uso de fertilizantes nitrogenados en la producción de lechuga es considerada importante para aumentar la producción, aunque según Anac y Martín-Prevel (1999) la aplicación de estos continuamente contribuye con la acumulación de nitratos en las hojas de lechuga el cual puede resultar tóxico para los humanos.

A pesar de que el nitrato no es una sustancia tóxica en sí, su toxicidad reside en su transformación química en nitrito, que se realiza en parte durante el metabolismo humano. El nitrito producto de la reducción del nitrato puede reaccionar con la hemoglobina, produciendo productos oxidativos y metahemoglobina que conduce a la disminución del suministro de oxígeno en el cuerpo, produciendo problemas respiratorios. También el nitrito puede reaccionar, en medio ácido del estómago, con las aminas, sustancias obtenidas por el metabolismo de los alimentos originando nitrosaminas, las cuales son agentes cancerígenos al humano. Además pruebas de estudios epidemiológicos en animales han demostrado que la exposición a nitrato y nitrito ha aumentado el riesgo para algunos tipos del cáncer (Watson y Muftić, 1996).

El grado de acumulación de nitrato no sólo depende del tipo y variedad genética, sino también de la temperatura, el contenido y el tipo de nitrógeno disponible (Rincón *et al.*, 2002). La acumulación de este ión en las hojas se incrementa cuando la planta es cultivada en condiciones restrictivas de luz (Roorda, 1984). Así, la planta utilizaría más carbohidratos e iones nitratos como regulador osmótico (Streingröver *et al.*, 1993). Por lo anterior, la CEE (2002) ha indicado como contenidos máximos de nitratos permitidos para lechuga cultivada en invernadero y al aire libre de en diferentes épocas del año un valor de 2000 mg kg<sup>-1</sup>.

Por otra parte, las lecturas "SPAD" pueden ser utilizadas para evaluar el estado nutricional del cultivo y a su vez

pueden ser una guía para dosificar los fertilizantes nitrogenados (Malavolta *et al.*, 2004). En este sentido, Villar y Ortega (2003) señalan que existe una relación directa entre la lectura "SPAD" y el contenido de nitrógeno en la planta, ya que las plantas adecuadamente fertilizadas con nitrógeno presentan un color más verde en sus hojas, lo cual puede considerarse como una herramienta alternativa para estimar el estatus de nitrógeno en la planta.

Por tal razón, en este ensayo se estudió el efecto de diferentes fuentes nitrogenadas sobre la acumulación de nitratos y lecturas "SPAD" en hojas de lechugas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del ensayo

El ensayo se realizó, en la localidad de Sanare, municipio "Andrés Bello" del estado Lara, Venezuela, entre los meses de mayo y julio del 2006. Se corresponde a la zona de vida de bosque subhúmedo seco frío (Holdridge, 1987). Presenta precipitación promedio anual de aproximadamente 820 mm, temperaturas que oscilan entre 14 y 24 °C con una media anual de 22 °C y una altura entre 1 500 - 1 800 m.s.n.m. El suelo utilizado fue de pH 5,9; salinidad de 0,3 dS/m; materia orgánica 3,5 % y clase textural franco arcilloso.

### Procedimiento de Campo

Las plántulas de lechuga de la variedad comercial "Great Lakes 659", se obtuvieron a partir de semillas, cultivadas en bandejas de poliestireno expandido (anime) multicelular de 200 celdas. Se trasplantaron manualmente a campo abierto, en suelo previamente arado y surcado, a una distancia de 0,3 x 0,4 m, obteniéndose una densidad de plantación equivalente a 83 333 planta ha<sup>-1</sup>.

La fertilización se realizó de la siguiente manera: las fuentes de fósforo y potasio se aplicaron a todas las unidades experimentales en cantidad de 35 g por surco de sulfato de potasio y 100 g por surco de superfosfato simple, mientras que la aplicación de los fertilizantes evaluados, se hizo por única vez a los 15 días después del trasplante (DDT), a chorro corrido, aun lado de la planta, cubriendo inmediatamente con suelo. El riego fue complementario por aspersión y el control de malezas manual.

La cosecha se realizó a los 72 DDT. Las plantas cosechadas fueron colocadas en cestas y trasladadas para

sus respectivos análisis al laboratorio de investigación del Departamento de Fitotecnia del Decanato de Agronomía de la UCLA.

### Tratamientos

Los tratamientos consistieron en aplicar, dos tipos de fertilizantes nitrogenados a una sola dosis de 200 k ha<sup>-1</sup> (Caballero, 2005; Rincón *et al.*, 2002), tales como nitrato de calcio y sulfato de amonio, combinados con o sin enmienda orgánica (SEO) de excretas de pollo en cantidad de 100 k ha<sup>-1</sup>, además dos fertilizaciones convencionales que realizan los agricultores de la zona (15-15-15 y Urea) y un testigo absoluto (sin aporte de nitrógeno), conformando un total de 7 tratamientos, los cuales se adicionaron en las cantidades indicadas en Cuadro 1.

### Diseño del Experimento

El ensayo se realizó en un diseño de bloques al azar, de 7 tratamientos y 4 repeticiones, conformando un total de 28 unidades experimentales. La unidad experimental estuvo constituida por una parcela con 4 hileras de 4 m y separadas a 0,4 m. La unidad de muestreo fueron las 2 hileras centrales con sólo 2,7 m a ser evaluados, resultando así una área efectiva de 2,16 m<sup>2</sup> con 18 plantas de lechugas de sobrevivir todas al transplante.

### Variables Evaluadas

#### Contenido de Nitrato

Para la determinación del contenido de nitrato en hojas de la cabeza en base fresca y seca se tomó una muestra (5 g) de cada una de ellas, finamente picadas y licuada con 100 ml de agua (Mantovani *et al.*, 2005), luego se filtró y se acondicionó (Eaton *et al.*, 1995) para realizar la lectura del contenido de nitrato en el espectrofotómetro UV-visible Cintra 10e a una longitud de onda de 520 nm.

#### Lecturas "SPAD"

La absorbancia es cuantificada en valores dimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades "SPAD" serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Krugh *et al.*, 1994), por lo que a partir de unidades "SPAD" se puede estimar los contenidos de clorofila y nitrógeno total de las planta (Rodríguez *et al.*, 1998), en este sentido, se efectuaron lecturas indirectas de clorofila con el equipo Minolta SPAD 502, donde se procedió a escoger la hoja interna de las hojas protectoras y externas de la cabeza, al momento de la cosecha.

A cada hoja se le realizaron tres lecturas, de cada planta evaluada por tratamiento, cuyas hojas estaban recién abiertas, expuestas, fotosintéticamente activas y maduras (Malavolta *et al.*, 1997).

**CUADRO 1.** Dosis de los fertilizantes utilizados (g surco<sup>-1</sup>) por tratamientos.

Tratamientos	% de N		N total k ha <sup>-1</sup>	Tratamientos	
	Nítrico	Amoniacal		k ha <sup>-1</sup>	g surco <sup>-1</sup>
Nitrato de calcio + Enmienda <sup>(1)</sup>	15	0	200	1 333	213,3
Sulfato de amonio + Enmienda <sup>(1)</sup>	0	21	200	952	152,3
Nitrato de calcio	15	0	200	1 333	213,3
Sulfato de amonio	0	21	200	952	152,3
15-15-15 <sup>(2)</sup>	0	15	200	1 333	213,3
Urea <sup>(3)</sup>	0	46	200	435	69,6
Testigo absoluto	–	–	0	0	0

(1) Excretas de aves

(2), (3) Manejo convencional de la zona.

## Análisis estadístico

Los datos experimentales fueron analizados utilizando el programa Statistix versión 8, mediante el análisis de la varianza y comparación de medias por Tukey al 0,05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Contenido de nitrato en materia fresca

Se encontró efecto significativo ( $P < 0,05$ ) de las diferentes fuentes de N sobre el contenido de nitratos en las hojas de lechuga en materia fresca (MF). Cuando se aplicó nitrato de calcio con y SEO se encontraron los mayores valores de nitratos (90,993 y 86,417 mg  $k^{-1}$ ), y el menor valor en el testigo absoluto (Cuadro 2).

El nitrato de calcio, por sus características, en cuanto a su alta solubilidad 1220 g  $l^{-1}$  a 20 °C, mejora su absorción por parte de la planta (Ruiz, 1999), además libera directamente el ión nitrato que es fácilmente absorbido por las raíces de la planta, aunque se señala que si no es absorbido se pierde por volatilización o pasa a ser inmovilizado por los microorganismos (Tisdale y Werner, 1977). Por lo cual, se considera que en las

**CUADRO 2.** Contenido de nitrato (mg  $k^{-1}$ ) en hojas de lechuga, en materia fresca y materia seca, determinadas por el método de espectrofotometría UV-visible

Tratamientos	Nitrato Materia fresca	Nitrato Materia seca
Nitrato de calcio + Enmienda <sup>(1)</sup>	86 a	425 ab
Sulfato de amonio + Enmienda <sup>(1)</sup>	72 b	410 ab
Nitrato de calcio	91 a	466 a
Sulfato de amonio	66 bc	421 ab
15-15-15 <sup>(2)</sup>	66 bc	445 ab
Urea <sup>(3)</sup>	69 bc	411 ab
Testigo absoluto	60 c	370 b
C.V	6,99	7,69

Tratamientos con letra diferentes por columna presentan diferencias significativas entre ellos, según la prueba de Tukey al 0,05.

(1) Excretas de aves

(2) y (3) Manejo convencional de la zona

plantas donde se aplicó nitrato de calcio, tuvieron más cantidad de nitrógeno asimilable, el cual pudo usar y acumular con más facilidad, ya que al ser adicionado al suelo, este se hidroliza y libera  $NO_3^-$  que es usado directamente por las plantas (Rodríguez, 1992).

Por otra parte, se encontró contenido de nitrato en hojas de lechuga en peso fresco entre 32,50 a 92,50 mg  $k^{-1}$ , los cuales se encuentran dentro del rango obtenido por Beninni *et al.* (2002), quienes observaron niveles de nitratos en lechuga convencional e hidropónica entre 26 a 2 568 mg  $k^{-1}$  en peso fresco. Aunque por debajo de los valores encontrados por Pizarro (1998), en lechugas cultivadas al aire libre e invernadero.

No obstante, Valenzuela (1999) encontró niveles de nitratos en hojas de lechuga superiores a los de este ensayo, con niveles fluctuantes entre 178 y 418 mg  $k^{-1}$  en MF al emplear diferentes fuentes nitrogenadas. Así mismo, Rincón *et al.* (2002), encontraron incremento en la concentración de nitratos en hojas externas e internas al aumentar la dosis del fertilizante nitrogenado.

Mas aún, Fernández *et al.* (2002), encontró menor contenido al aplicar como fuente de N la forma amoniacal. Cabe destacar que Sady *et al.* (1995), Marschner (1995) y Abd-Elmoniem *et al.* (1996), señalaron que las hojas de lechuga presentaron menor acumulación de nitratos con la fertilización de N en forma amoniacal comparadas con la fuente de forma nítrica, debido a la capacidad más rápida de reducirse a nitrato y ser absorbido por las raíces, tornándose como un factor limitante en la proporción de N traslocado a las partes aéreas.

### Contenido de nitrato en materia seca

Se encontró efecto de la fuente de N sobre el contenido de nitrato en materia seca (MS). Al analizar los resultados de la concentración de nitratos en las hojas de lechuga, se observó (Cuadro 2) que la fuente de N que presentó mayor concentración de nitrato fue el nitrato de calcio en las hojas con un promedio de 466 mg  $k^{-1}$ , y los menores en el testigo.

De tal modo, al comparar los mayores valores de nitrato en hojas, se pueden considerar razonables por estar por debajo al límite de la comunidad europea de 3 000 mg  $k^{-1}$  en MS. Así mismo, Krohn *et al.* (2003), encontraron valores de nitratos en hojas de lechugas cultivares de tipo Americana, por debajo del límite antes mencionado. Más aún, los valores obtenidos están muy por debajo de lo presentado por Carrasco *et al.* (2006),

en hojas de lechuga mantecosa con nitratos fluctuantes entre 1 344 y 3 839 mg k<sup>-1</sup> en MS y por el MAFF (1996), con contenido entre 1 105 y 5 628 mg k<sup>-1</sup>.

Al comparar los resultados de nitratos en MF y MS (Cuadro 2), se observa similar tendencia del contenido de este en hojas de lechuga al aplicar diferentes fuentes diferentes de N, presentando en ambos casos mayor contenido de nitrato cuando se aplica la fuente de nitrógeno en forma nítrica (nitrato de calcio). Sin embargo, los contenidos de nitrato en MS son mayores que en MF, esto puede ser debido a las condiciones de manejo que es sometida la muestra para la determinación de nitrato en seco (perdidas de agua y altas temperaturas).

Por otra parte, es importante destacar que las fertilizaciones convencionales utilizadas en la zona de estudio, no difieren del resto de las fuentes utilizadas y no sobrepasan las concentraciones límites por lo cual podrían utilizarse sin que ocasionen riesgo a la salud humana.

**Lecturas "SPAD"**

**En las hojas internas**

Se encontró efecto de las fuentes nitrogenadas sobre las lecturas "SPAD" (P<0,05) en hojas internas. La fuente de nitrógeno nitrato de calcio con y SEO presentaron la mayor lectura "SPAD" en las hojas internas de las plantas de lechuga y el menor valor en el testigo (Cuadro 3).

Los valores encontrados se encuentran en el rango observado por Marquard y Tipton (1987), quienes encontraron valores de "SPAD" 12 a 40 en espinacas y de 3 a 54 en otros cultivos evaluados. Así mismo, Rodríguez *et al.* (1998), estudio las lecturas de "SPAD" en tomate usando diferentes tonalidades encontrando valores mínimos y máximos de 7,73 y 53,93, respectivamente.

**En las hojas externas**

Se encontraron diferencias entre las fuentes nitrogenadas en el contenido de clorofila (P<0,05) en hojas externas de la cabeza de lechuga. La fuente de nitrógeno Nitrato de calcio con y SEO presentaron la mayor lectura "SPAD" en las hojas externas y el menor valor en el testigo (Cuadro 3).

De Aguilar (2004), encontró lecturas "SPAD" fluctuantes entre 31,35 y 34,8 en plantas de lechuga donde se aplicó micorrizas. Sin embargo, en este ensayo

los valores encontrados están por debajo de estos. Aunque coinciden con las lecturas "SPAD" encontradas por Villas-Boâs *et al.* (2004), quienes estudiando el efecto de dosis y tipos de compuestos orgánicos en la producción de plantas de lechuga en dos suelos bajo ambiente de protección, encontraron valores fluctuantes de lecturas de "SPAD" en las hojas de lechuga entre 19 y 23,2.

En este trabajo tanto por espectrofotometría como por contenido de clorofila (lectura "SPAD") se encontró que al aplicar nitrato de calcio con o SEO indujo mayor contenido de nitrato y clorofila en las hojas de la planta de lechuga.

El contenido de clorofila y la absorción de nitrógeno se han correlacionado con las unidades "SPAD" en diversas condiciones ambientales (Hiderman *et al.*, 1992). En este sentido, Rodríguez *et al.* (1998) encontraron una alta correlación entre unidades "SPAD", concentración de clorofila extractable en la quinta hoja y porcentaje de nitrógeno en plantas de tomate. Así mismo, existe una relación directa entre la lectura "SPAD" y el contenido de nitrógeno en la planta, ya que las plantas adecuadamente fertilizadas con nitrógeno presentan un color más verde en sus hojas (Villar y Ortega, 2003).

**CUADRO 3.** Efecto de la fuente de N sobre la concentración de clorofila en lectura "SPAD" en hoja interna protectoras y externa de la cabeza de la lechuga.

Tratamientos	Lectura SPAD	
	Hoja Externa	Hoja Interna
Nitrato de calcio + Enmienda <sup>(1)</sup>	29,070 a	19,875 a
Sulfato de amonio + Enmienda <sup>(1)</sup>	25,155 b	16,642 b
Nitrato de calcio	28,070 a	21,600 a
Sulfato de amonio	25,100 b	16,235 b
15-15-15 <sup>(2)</sup>	23,715 b	16,165 b
Urea <sup>(3)</sup>	25,612 b	16,798 b
Testigo absoluto	20,560 c	13,610 c

Tratamientos con letra diferentes por columna presentan diferencias significativas entre ellos, según la prueba de Tuckey al 0,05.

<sup>(1)</sup> Excretas de aves

<sup>(2)</sup>, <sup>(3)</sup> Manejo convencional de la zona

## CONCLUSIONES

- El fertilizante Nitrato de calcio presentó los mayores valores de lectura "SPAD" al igual que el contenido de nitrato.
- Las fuentes de nitrógeno y dosis empleadas no sobrepasan los valores límites de la comunidad europea para lechugas cultivadas al aire libre, por lo cual podrían utilizarse sin que ocasionen riesgo a la salud humana.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abd-Elmoniem, E., A. Abou-hadid, M. El-shinawy, A. El-beltagy and A. Eissa. 1996. Effect of nitrogen form on lettuce plant grown in hydroponic system. *Acta Horticulturae*, 434:47-52.
- Anac, D. y P. Martín-Prevel. 1999. *Improved Crop Quality by Nutrient Management*. Ed. Springer. Holanda.
- Beninni, E., H. Takahashi, C. Neves et I. Fonseca 2002. Teor de nitrato em alface cultivada em sistemas hidropónico e convencional. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 20(2):183-186.
- Caballero, D. 2005. Efecto de fuentes inorgánicas y orgánicas en la nutrición nitrogenada del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Trabajo de grado para optar al grado Ingeniero Agrónomo. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Decanato de Agronomía. Barquisimeto, estado Lara. 59 p.
- Carrasco, G., J. Tapia y M. Urrestarazu. 2006. Contenido de nitratos en lechugas cultivadas en sistemas hidropónicos. *Idesia* (Chile), 24(1):25-30.
- Comunidad Económica Europea (CEE). 2002. Contenido de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Reglamento (CEE) Nº 563/2002 modificada el Nº 466/2001 de la comisión.
- De Aguilar, M. J., D. González-Martínez, A. Gutiérrez, M. Honrubia, y A. Morte. 2004. Efectos del hongo endomicorrízico *Glomus intraradices* en el cultivo ecológico de lechuga tipo Iceberg. **In:** VI Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica Almería (Resumen): 241-242.
- Eaton, A., L. S. Clesceri and A. E. Greenberg. 1995. *Standar Methods for the examination of water and wastewater 19Th Edition*. p. 4-75, 4-85.
- Fernandes, A., H. Martínez, P. Pereira e M. Fonseca. 2002. Produtividade e, acúmulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface, em hidroponia, em função de fontes de nutrientes. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 20(2):195-200.
- Fondo Nacional de Investigaciones agropecuarias (FONAIAP). 1995. Paquete tecnológico para la producción de hortalizas. Maracay. 2<sup>da</sup> impresión. 206 p. (Serie paquete tecnológico Nº 8).
- Hiderman, J., A. Makino, Y. Kurita, T. Masa and K. Ojima. 1992. Changes in the levels of chlorophyll and light-harvesting. *Physiol*. 53:1 209-1 214.
- Holdridge, L. 1987. *Ecología basada en zonas de vida*. Agroamérica. p. 89.
- Krohn, N., R. Missio, M. Ortolan, A. Burin, D. Steinmacher e M. Lopes 2003. Teores de nitrato em folhas de alface em função do horário de coleta e do tipo de folha amostrada. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 21(2):216-219.
- Krugh, B., L. Bichham and D. Miles. 1994. The solid-state chlorophyll meter, a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations in seedling leaves. *Maize genetics cooperation. News Letter* 68:25-27.
- Malavolta, E., G. C. Vtiti. e S. C. Oliveira. 1997. *Avaliação do estado nutricional das plantas: Principios e Aplicações*. 2. ed. Piracicaba, Potafos. 317 p.
- Malavolta, E. N., G. L. Nogueira, R. Heinrichs, E. N. Higashi, V. Rodríguez, E. Guerra, S. C. de Oliveira and C. P. Cabral. 2004. Evaluation of Nutritional Status of the Cotton Plant with Respect to Nitrogen. *Communications in soil science and plant analysis*, 35(7-8):1 007-1 019.
- Mantovani, J. R., M. Ferreira e M. Cruz. 2005. Produção de alface e acúmulo de nitrato em função da adubação nitrogenada. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 23(3):758-762.
- Marquard, R. D. and J. L. Tipton. 1987. Relationship between extractable chlorophyll and in situ method to estimate leaf greenness. *HortScience* 22, p. 1 327.

- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higherplants. 2. ed. New York: Academic Press. 889 p.
- Ministry of Agriculture, Food and Fisheries (MAFF). 1996. Nitrate in vegetables. Food surveillance information sheet 91:7.
- Pizarro, C. 1998. Acumulación de nitratos en 4 tipos de lechuga cultivados al aire libre y en invernadero en otoño-invierno. Tesis de grado para optar al título de Ing. Agrónomo. Universidad de Tecla, Escuela de Agronomía. Chile. 206 p.
- Rincón, S., A. Pérez, C. Pellicer, J. Sáez y A. Abadía. 2002. Influencia de la fertilización nitrogenada en la absorción de nitrógeno y acumulación de nitratos en la lechuga iceberg. *Investigación Agraria, Producción y Protección Vegetales*, 17(2):303-318.
- Rodríguez, M., G. González, A. Aguilar, J. Etchevers y J. Santizó. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra* 16 (2):135-141.
- Rodríguez, S. F. 1992. Fertilizantes. *Nutrición Vegetal*. A.G.T. Editor, S.A. Segunda reimpression. D. F. México.
- Roorda, J. P. 1984. Nitrate in vegetables under protected cultivation. *Acta Horticulturae* 145: 251-256.
- Ruiz, R. 1999. Características de algunos fertilizantes nitrogenados para el uso en goteo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias-Centro Regional de Investigación la Platina. (Serie La Platina N° 82). Disponible en: <http://alerce.inia.cl/docs/Informativos/Informativo01.pdf>
- Sady, W., S. Rozek and J. Myczkowski. 1995. Effect of different forms of nitrogen on the quality of lettuce yield. **In:** Growing media e plant nutrition. *Acta Horticulturae* 401:409-416.
- Steingröver, E., J. W. Steenhuizen and J. Van Der Boon. 1993. Effect of low light intensities at night on nitrate accumulation in lettuce grown on a recirculating nutrient solution. *Neth. J. Agric. Sci.* 41:13-21.
- Tisdale, S. y N. Werner. 1991. Fertilidad de los suelos y fertilizantes. Editorial Limusa. 1ra reimp. D.F. México. 760 p.
- Valenzuela. 1999. Acumulación de nitratos en hojas de lechuga (*Lactuca sativa* var. Crispa) en respuesta a cinco dosis y dos fuentes de nitrógeno; y estudio de los flujos del N. mineral del suelo. Universidad de Talca. Chile. 55 p.
- Villar, D. y R. Ortega. 2003. Medidor de clorofila. Bases teóricas y su aplicación para la fertilización nitrogenada en cultivos. *Agronomía y Forestal UC*. 18:4-8.
- Villas Bôas, R. L., J. C. Passos, M. Fernández, L. T. Büll, V. Cezar e R. Goto. 2004. Efeito de doses e tipos de compostos orgânicos na produção de alface em dois solos sob ambiente protegido. *Horticultura Brasileira*, Brasília. 22(1):28-34.
- Watson, R. and S. Mufti. 1996. *Nutrition and Cancer Prevention*. New York: CRC Press: 317-325.