



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

**TESIS MAGÍSTER EN CIENCIAS AGRARIAS**

**Ing. Agr. MARÍA TERESA DOÑATE**

**EFFECTO DE DIFERENTES ENMIENDAS ORGÁNICAS SOBRE EL  
RENDIMIENTO Y LA CONCENTRACIÓN DE NITRATO EN UN CULTIVO  
ECOLÓGICO DE ESPINACA (*SPINACIA OLERACEA L.*) EN INVERNADERO**

Director: Dr. Ing. Agr. ROBERTO A. RODRÍGUEZ

**2013**

## PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Magíster en Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos de la investigación llevada a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria Valle Inferior del Río Negro, durante el período comprendido entre febrero de 2007 y diciembre de 2009, bajo la dirección del Docente Investigador Dr. Roberto A. Rodríguez, Profesor Asociado de las Cátedras de Cultivos Intensivos y Horticultura de la Carrera de Ingeniería Agronómica, Dpto. de Agronomía, UNS.

María Teresa Doñate  
DNI 23.950.921



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el .../.../....., mereciendo la calificación de ... (.....).

## **EFFECTO DE DIFERENTES ENMIENDAS ORGÁNICAS SOBRE EL RENDIMIENTO Y LA CONCENTRACIÓN DE NITRATO EN UN CULTIVO ECOLÓGICO DE ESPINACA (*SPINACIA OLERACEA L.*) EN INVERNADERO**

### **RESUMEN**

La necesidad de aumentar la producción de alimentos para satisfacer las demandas alimentarias de la población mundial, implica la utilización de prácticas como la fertilización inorgánica, que pueden provocar la acumulación de sustancias potencialmente tóxicas como ser nitratos en las hortalizas de hoja. Las hortalizas producidas en forma ecológica, utilizando enmiendas orgánicas para satisfacer las necesidades nutricionales de los cultivos, podrían reducir los riesgos de acumulación de nitrato. Asimismo, la producción orgánica incrementaría las propiedades nutricionales de los alimentos vegetales, con un aumento de vitaminas y minerales. En el presente trabajo se estudió la respuesta productiva y la calidad de la espinaca producida en invernadero en forma orgánica, en los ciclos productivos otoño – invierno y primavera, entre 2007 y 2009, en la región del Valle Inferior del Río Negro. Se utilizaron diversos abonos con diferentes dosis, incluyendo estiércol vacuno compostado, compost de cebolla- estiércol y un fertilizante orgánico comercial. Se evaluó el rendimiento del cultivo en cada ciclo, el contenido mineral y la acumulación de nitrato en hojas y pecíolos. Se relacionó la concentración de  $\text{NO}_3^-$  con la temperatura y radiación solar incidente. En el momento de la cosecha, se determinó además la calidad higiénico-sanitaria de la espinaca, mediante análisis microbiológicos y el contenido de hierro y de vitaminas A y C. Los resultados obtenidos indican que en esta región es factible la producción orgánica de espinaca en invernadero, en ambos ciclos de cultivo, con buenos rendimientos, manteniendo el contenido de nitrato por debajo de los límites

establecidos internacionalmente. Asimismo, se verificó su aptitud para el consumo humano en función de la calidad higiénico – sanitaria obtenida, cumpliendo con la reglamentación vigente. Además se verificó un contenido superior de algunos minerales en comparación con los valores de referencia de espinaca producida en forma convencional.

**EFFECT OF DIFFERENT ORGANIC AMENDMENTS ON YIELD AND NITRATE CONCENTRATION IN A ECOLOGIC SPINACH (*SPINACIA OLERACEA* L.) GROWING IN GREENHOUSE**

**ABSTRACT**

The need to increase food production to meet the food demands of the world's population, involves the use of practices such as inorganic fertilizer, which can cause the accumulation of potentially toxic substances such as nitrate in leafy vegetables. The vegetables produced organically, using organic amendments to meet the nutritional needs of crops, could reduce the risk of nitrate accumulation. Furthermore, the organic production would increase the nutritional properties of plant foods, with an increase of vitamins and minerals. In this work, it was studied the production and quality response of organic spinach produced in greenhouse during the production cycles of fall - winter and spring, between 2007 and 2009, in the region of the Valle Inferior del Río Negro. Various fertilizers were used at different doses, including composted cow manure, compost manure-onion and a commercial organic fertilizer. The crop yield at each cycle, the mineral content and the accumulation of nitrate in leaves and petioles were evaluated. The NO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration was related to the temperature and solar radiation. At the time of the harvest, the hygienic quality of spinach by microbiological analysis

#### IV

and the content of iron and vitamins A and C were established. The results indicate that in this region the spinach organic production in greenhouse is feasible in both crop cycles, with good yields, keeping the nitrate below the internationally established limits. Its fitness for human consumption according to the quality hygienic - sanitary obtained was also checked complying with regulations. Furthermore, there was a higher content of some ores compared to the reference values of conventionally produced spinach.

Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridas por los jurados.

Dr. Roberto A. Rodriguez

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer al director de esta tesis, Dr. Ing. Agr. Roberto A. Rodríguez por su dedicación, sugerencias y corrección del trabajo.

A la Ing. Agr. Brunilda Sidoti y Mg. Ing. Agr. Maite Alder por su ayuda incondicional, tanto laboral como espiritualmente.

Al Lic. Martín Luna, por su colaboración y asesoramiento en el análisis estadístico de los datos.

A la bibliotecaria de la EEA Valle Inferior del Río Negro Sra. Sonia Pérez, por su colaboración y dedicación en la busca bibliográfica.

A Mónica, Amelia, Juan Carlos y Luís, por ayudarme con el trabajo a campo.

A todos mis compañeros de trabajo, y amigos por alentarme en todo momento.

Y muy especialmente a toda mi familia por el apoyo durante todos estos años de trabajo.

¡¡Gracias a todos!!

## **Sistema de producción orgánica**

### **Agricultura orgánica**

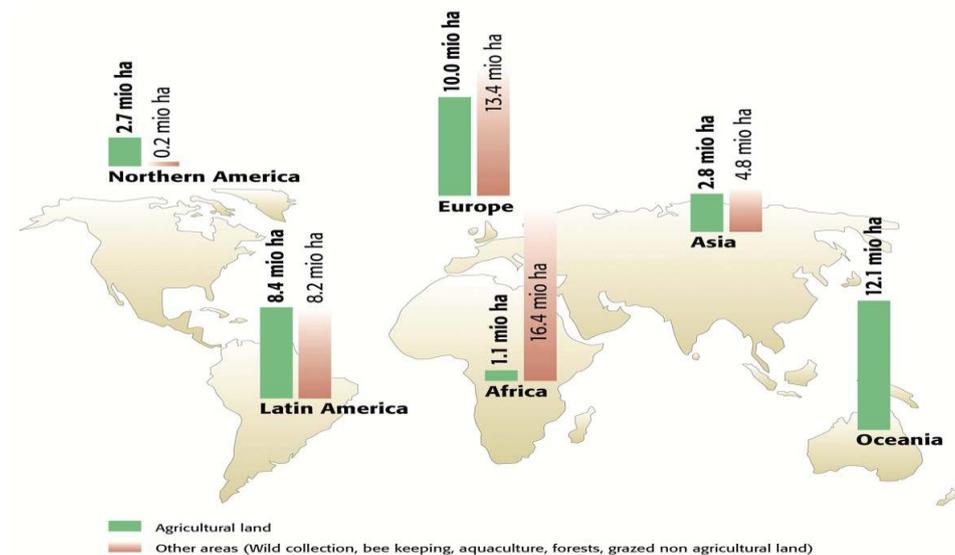
La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) define a la **agricultura orgánica o ecológica** como *“un sistema de manejo holístico de la producción que promueve y mejora la salud del ecosistema, incluyendo los ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo”*. Los sistemas de agricultura orgánica se basan en normas de producción específicas y precisas, que tienen por objeto conseguir agroecosistemas que sean social y ecológicamente sostenibles (FAO, 2000). El objetivo principal de la agricultura orgánica es optimizar la salud y la productividad de las comunidades interdependientes del suelo, las plantas, los animales y las personas., La agricultura orgánica *“es un enfoque integral basado en un conjunto de procesos que resulta en un ecosistema sostenible, alimentos seguros, buena nutrición, bienestar animal y justicia social”* (IFOAM 2002). La producción orgánica, por lo tanto, es un concepto más amplio que el de un sistema de producción que incluye o excluye determinados insumos. En general, se consideran productos ecológicos aquellos alimentos, incluidas frutas y hortalizas, los cuales en su producción no han intervenido fertilizantes, herbicidas ni pesticidas químicos sintéticos (Ayastuy y Rodríguez, 2009).

Las prácticas de la agricultura orgánica no pueden garantizar que los productos sean completamente libres de residuos, producidos por la contaminación general del medio ambiente. No obstante, se utilizan métodos para reducir al mínimo la contaminación del aire, el suelo y el agua. A su vez los manipuladores, procesadores y comerciantes

minoristas de alimentos orgánicos se rigen por normas que mantienen la integridad de los productos orgánicos.

### La agricultura orgánica en el mundo

La agricultura ecológica muestra un rápido desarrollo, al punto que unos 160 países cuentan con registros censales de producción. La superficie cultivada, según la última encuesta sobre la agricultura orgánica en todo el mundo, alcanza los 37 millones de hectáreas, que representan el 0.9 % de las tierras agrícolas del planeta (Figura 1).



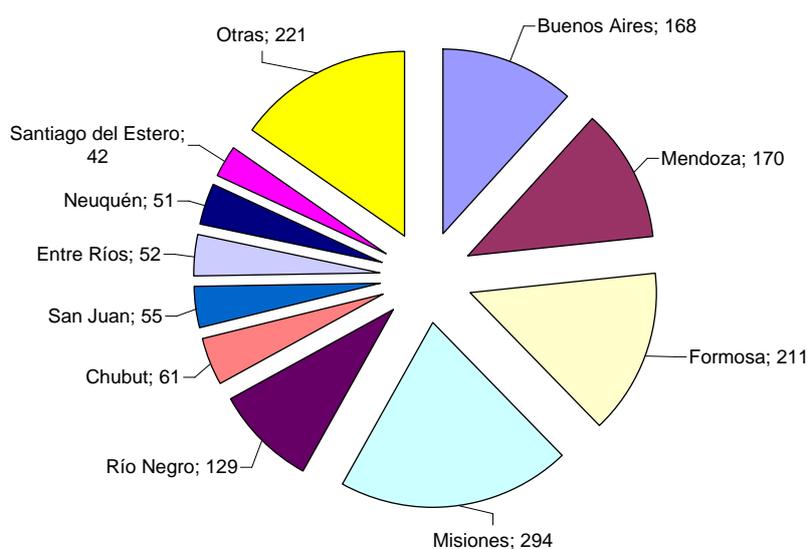
**Figura 1.** Mapa de producción orgánica mundial (FiBL & IFOAM, 2012)

Oceanía posee el 33 % de la tierra orgánica del mundo, seguida por Europa con el 27 % y América Latina con un 23 %. Hacia fines del año 2011 los países que relevaban la mayor cantidad de superficie bajo sistema de producción orgánica fueron Australia con 12 millones de hectáreas, Argentina con 4,18 millones de hectáreas y los EE.UU. con 1,95 millones de hectáreas (Willer y Lernoud, 2012, 2013).

### Producción orgánica en Argentina

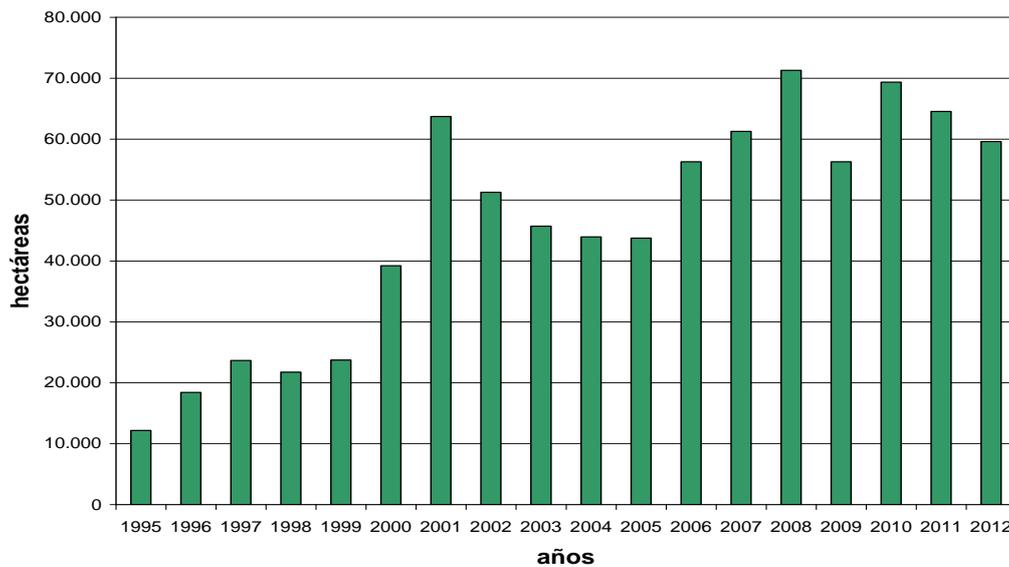
En Argentina, de acuerdo a la ley 25.127, se define como “*ecológico, biológico u orgánico a todo sistema de producción agropecuario y su correspondiente agroindustria, como también a los sistemas de recolección, captura y caza, sustentables en el tiempo. Mediante el manejo racional de los recursos naturales y evitando el uso de los productos de síntesis química y otros de efecto tóxicos real o potencial para la salud humana*”. Nuestro país cuenta con una estructura legal de fiscalización que es reconocida internacionalmente, basada en una normativa que regula la actividad, equivalente a la que posee la Unión Europea, Estados Unidos y Japón (SENASA, 2013).

La superficie bajo seguimiento orgánico durante el año 2012 fue de 3,6 millones de hectáreas, de las cuales 240 mil corresponden a la producción vegetal. Las mismas se encuentran distribuidas en la Provincia Buenos Aires (59 % de la superficie), seguida por Salta y Río Negro con el 7 % cada una. Con respecto a la distribución provincial de las explotaciones, Misiones presenta la mayor cantidad de unidades productivas (294) de pequeña superficie, a continuación se ubican Formosa (211), Mendoza (170), Buenos Aires (168) y Río Negro con 129 explotaciones (Figura 2).



**Figura 2.** Distribución de las explotaciones con producción orgánica fiscalizada (Fuente SENASA 2013)

En la Figura 3 se observa la evolución de la superficie con producción orgánica fiscalizada, verificándose una tendencia creciente muy pronunciada en los primeros años. A partir del 2007 la superficie cosechada presentó una tendencia decreciente, que se mantiene hasta el presente; durante el año 2012 fue de 59.613 ha, un 10 % menor que el año anterior.



**Figura 3.** Evolución de la superficie destinada a la Producción Orgánica

### **Producción de hortalizas orgánicas**

Las hortalizas orgánicas más importantes en el año 2012 fueron: ajo (40%), cebolla (18%) y zapallo (17%). La producción de ajo se concentró en la provincia de Mendoza, la de cebolla en Mendoza y Buenos Aires, y la de zapallo principalmente en Río Negro, Mendoza, San Juan y Chaco.

Con respecto a la exportación, el volumen de productos orgánicos comercializados en el exterior, presentó un descenso del 11 % anual y alcanzó las 139 mil toneladas, representando el segundo mayor valor histórico registrado. Entre las exportaciones de hortalizas y legumbres, los productos destacados fueron ajo y zapallo. El principal

destino de las exportaciones de productos orgánicos de origen vegetal fue históricamente la Unión Europea, y en el año 2012 por primera vez fue Estados Unidos, seguido de Europa, Suiza y Japón.

En lo referido a la producción, con destino al mercado interno, se puede decir que el consumo de alimentos orgánicos es incipiente, el volumen de los productos certificados destinados al mercado doméstico representa tan sólo el 1% del mercado total (SENASA, 2013). Según lo informado por las certificadoras, en los últimos años se presenta una mayor diversificación de productos como de presentación de los mismos. Al volumen de hortalizas y legumbres se le suma un mayor volumen de productos industrializados como yerba mate; azúcar de caña; jugos de fruta; papilla para bebés y aceite de oliva.

En lo referido a la producción con destino al mercado interno, se puede decir que el consumo de alimentos orgánicos es incipiente, el volumen de los productos certificados destinados al mercado doméstico representa tan sólo el 1% del mercado total (SENASA 2013). Según lo informado por las certificadoras, en los últimos años se presenta una mayor diversificación de productos como de presentación de los mismos. Al volumen de hortalizas y legumbres se le suma un mayor volumen de productos industrializados como yerba mate; azúcar de caña; jugos de fruta; papilla para bebés y aceite de oliva.

Un aspecto muy importante que no está registrado en las estadísticas indicadas, es el referido a la producción orgánica de hortalizas para consumo familiar y comunitario, que está propiciado a nivel nacional por el Programa ProHuerta de INTA y Ministerio de Desarrollo Social de la Nación. A través del mismo, grupos de personas en todo el país reciben asesoramiento y acompañamiento de los técnicos del programa, a través de charlas y reuniones técnicas, así como semillas para desarrollar su propia huerta familiar o comunitaria, entre otras actividades. Durante el ciclo de otoño invierno de 2011, el

programa atendió a 585.860 familias, 6.654 establecimientos escolares y 2.902 grupos comunitarios e institucionales, lo que representa una población involucrada 3.350.234 (ProHuerta 2012).

Asimismo, resulta significativa por el incremento que se ha producido en los últimos años, la producción orgánica de hortalizas sin certificación. Se trata de pequeños productores o grupos de productores que realizan una producción de hortalizas en forma ecológica, pero no se encuentran inscriptos para recibir la certificación orgánica. La comercialización de las mismas se realiza en forma personalizada o bien a través de ferias francas que se instalan en forma semanal en determinados lugares de las ciudades. Los productores comercializan sus propias hortalizas frescas, principalmente de hoja, incluyendo espinaca, acelga, perejil y achicoria entre otras.

### **Calidad de los alimentos orgánicos**

Existe una creciente demanda de alimentos orgánicos impulsada principalmente por la percepción de los consumidores sobre la calidad e inocuidad de estos alimentos y el positivo impacto ambiental de la producción orgánica (FAO, 2003). La calidad y seguridad de los alimentos son motivo de preocupación en la población. Según mencionó en 2007 el Instituto de Investigación para la Agricultura Orgánica (FiBL) de Suiza, la calidad de los alimentos está dada por varios componentes:

*Valor nutricional fisiológico:* existe una distinción entre las características que realzan la calidad de los alimentos y las que la perjudican. Entre las primeras se encuentran las Sustancias nutritivas deseables (proteínas, carbohidratos y grasas, vitaminas, minerales, antioxidantes, materia seca y fibra) y las sustancias no deseables

(residuos de pesticidas, contenido de nitratos, contenido de metales pesados, micotoxinas, residuos de medicamentos, alérgenos, organismos patógenos y parásitos).

*Gusto:* la calidad gustativa y sensorial de un alimento está determinado por: la apariencia (color y forma), el olor, el aroma y sabor, y la consistencia.

*Aptitud funcional:* determina si un producto es técnicamente apropiado para el uso en el hogar, el uso comercial o el industrial. Los criterios importantes son: sus propiedades a la cocción en agua, en aceite y otras, rendimiento, período de tiempo de conservación del producto, su precio y el tiempo requerido para la preparación.

*Calidad de elaboración – transformación:* La elaboración de los alimentos orgánicos se hace bajo el principio de que deben permanecer auténticos y retener su valor nutricional tanto como sea posible. Los requisitos de elaboración, restricciones y prohibiciones están establecidos por ley, en relación al uso de: aditivos alimentarios, auxiliares tecnológicos en la elaboración, enzimas y microorganismos, organismos genéticamente modificados y radiación ionizante.

*Calidad del proceso:* Un proceso de calidad de un alimento valora el impacto que la producción del mismo tiene sobre el medio ambiente. Considera el proceso desde la producción agrícola hasta el producto final en toda su cadena de elaboración. Los componentes importantes del proceso de calidad incluyen: uso de recursos renovables y no renovables, función del suelo, calidad del agua, eutrofización, acidificación, emisiones de gases y calentamiento global, protección y manejo animal, toxicidad para los humanos, diversidad de especies y biotipos, armonía con el paisaje, aspectos éticos como el trabajo de niños.

*Calidad intrínseca:* describe los atributos del alimento que no pueden ser medidos utilizando sólo los métodos convencionales de investigación. Bajo el concepto holístico, los alimentos que mantienen su orden y estructura están asociados a una alta calidad.

*Calidad legal:* las normativas de calidad que deben cumplir los alimentos en términos legales están determinadas por las leyes actualmente vigentes. El *Codex Alimentarius*, establecido por FAO y OMS regula las normas relativas a los alimentos y seguridad alimentaria; en Argentina se cuenta con un Código Alimentario que describe las especificidades de cada alimento.

Numerosos estudios han analizado el impacto de los métodos de producción en la calidad de los productos orgánicos comparados con los productos de la agricultura convencional (Woese *et al.*, 1995; Worthington, 1998; Heaton, 2001; Bourn y Prescott, 2002). Sin embargo, es difícil generalizar sobre la base de los resultados de estudios aislados sobre calidad, debido a que la calidad de los alimentos no está solamente determinada por el método de producción, sino por otros factores como la variedad, la localización y clima, y el manejo post cosecha (FiBL, 2007).

La FAO analiza la calidad e inocuidad de los alimentos orgánicos principalmente desde cuatro aspectos: peligros químicos (residuos de plaguicidas, nitratos, contaminantes ambientales); peligros microbiológicos (contaminantes con abonos, con *Escherichia coli*, con micotoxinas); propiedades nutricionales, y organolépticas, y propiedades funcionales.

En general, la población cree que los alimentos orgánicos son más saludables que los alimentos producidos convencionalmente pero, hasta el momento, no está claro si realmente las técnicas de la agricultura afectan la composición de nutrientes aunque es ampliamente difundido que cualquier beneficio derivado de los alimentos orgánicos se debe a la ausencia de residuos de plaguicidas.

La influencia de las diferentes técnicas de manejo del suelo sobre el contenido de nutrientes en los cultivos ha sido objeto de varios estudios, aunque los resultados obtenidos presentan diferencias sustanciales (Woese *et al.*, 1997; Heaton, 2001). Según

algunos autores, las hortalizas producidas en forma orgánica poseen mayor contenido de nutrientes esenciales (hierro (Fe), magnesio (Mg), fósforo (P) y potasio (K)) y vitamina C, con respecto a las cultivadas en forma convencional (Worthington, 2001; Gennaro y Quaglia, 2003). En particular se detectaron mayores concentraciones de P y Mg en tomate, lechuga, espinaca y repollo, mientras que en papa, zanahoria, lechuga, espinaca y repollo se halló mayor contenido de vitamina C. Estas diferencias podrían explicarse a través de la nutrición del suelo, que afecta el metabolismo de la planta y la absorción de minerales (Gennaro y Quaglia, 2003).

Primavesi (1982) indicó que la fertilización racional no sólo aumenta la producción, sino también su valor biológico, del cual depende en gran parte el vigor y la salud vegetal. La incorporación de micronutrientes no siempre aumenta la producción, pero sí la calidad biológica, por lo tanto mejora la calidad nutricional del producto. Herencia *et al.* (2011) mencionaron que no es posible asegurar que la mayor calidad nutricional de los cultivos orgánicos se deba sólo al tipo de fertilizante, sino que hay otros factores que influyen en la misma.

De acuerdo con varios estudios, donde se analizó específicamente la calidad y seguridad de productos de origen vegetal, obtenidos mediante métodos ecológicos y convencionales, surge como tendencia general que los alimentos orgánicos contienen menos residuos de agroquímicos y nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ). Esto realza su valor nutritivo-fisiológico, ya que poseen mayores contenidos de vitamina C, mejores valores gustativos y mayor contenido de componentes vegetales secundarios promotores de la salud. A su vez contienen menos proteínas; esto puede significar que el grano producido para pan es menos adecuado para su cocción. Con respecto a los microorganismos patógenos, presencia de micotoxinas y/o bacterias, se presentan igual de seguros que los alimentos convencionales (Velimirov y Muller, 2003; Tauscher *et al.*, 2003; Afssa,

2003). Merino y Ansorena, 2006 y Citak y Sonmez , 2010 acordaron con los anteriores en que el contenido de  $\text{NO}_3^-$  disminuye en el cultivo orgánico de espinaca respecto de esta especie cultivada mediante sistema convencional.

Si bien en Argentina las experiencias en producción orgánica son escasas, la Estación Experimental Agropecuaria La Consulta del INTA junto con las cátedras de Edafología, Genética y Química Agrícola de la Universidad Nacional de Cuyo han realizado una serie de investigaciones sobre diferentes cultivares de lechuga, repollo y zapallo con fertilizaciones nitrogenadas orgánicas y tradicionales, obteniendo resultados que corroboran lo expresado por FiBL. En lechuga, la fertilización nitrogenada en base a humus, incrementó el peso seco, los contenidos de P, K, Ca, Mg, Mn y Cu. En repollo el mismo tipo de fertilizante aumentó el rendimiento y los contenidos de P, K y Fe. En ambas hortalizas la aplicación de humus mejoró las características físicas y químicas del suelo en forma estadísticamente significativa, mostrando mayor estabilidad de los agregados, mayor aireación, mayor disponibilidad hídrica y de nutrientes. En zapallo, el mismo tipo de fertilización exhibió mayor rendimiento. En las tres especies hortícolas la fertilización orgánica produjo menores niveles de  $\text{NO}_3^-$ , que cuando se fertilizaron con urea. En todos los casos se comprobó que la calidad sanitaria y nutricional dependen de la fertilización y del tipo de cultivar (Granval *et al.*, 2013).

### **La nutrición de los cultivos orgánicos**

Una meta importante de la agricultura orgánica es el mantenimiento o el aumento de la fertilidad de los suelos, para lo cual resulta fundamental la incorporación de materia orgánica en forma de enmiendas. Con esta práctica, se mejoran las propiedades biológicas, químicas y físicas edáficas, ya que además de incrementarse el contenido y

diversidad de microorganismos y la disponibilidad de nutrientes para las plantas, se aumenta la capacidad de retención de agua, la conductividad hidráulica, la densidad aparente, disminuye el grado de compactación y se eleva la resistencia a la erosión hídrica y eólica (Tester, 1990; Franzlubbers, 2002; Pia, 2005; Civeira y Lavado 2006; Mylavarapu y Zinati, 2009; Romaniuk, 2010).

En Argentina, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación de la Nación, mediante la Res. 423/ 1992, reglamenta y regula las actividades vinculadas a la agricultura orgánica y la utilización de abonos, fertilizantes y mejoradores del suelo (previo control de su origen y composición). *“Los productos autorizados para ser utilizados son: algas y productos derivados, aserrín, cortezas vegetales y residuos de madera, compost de: residuos vegetales, provenientes del cultivo de hongos, de lombriz, de desechos domésticos orgánicos, estiércol de granja y gallinaza, líquido u orinas compostados. Se permiten también la harina de hueso y harina de sangre, paja, productos animales transformados procedentes de mataderos y de la industria de pescado, subproductos orgánicos de productos alimenticios y de la industria textil, turba, abonos foliares de origen natural, inoculantes naturales, conchillas y azufre.”* Para el caso de utilización de oligoelementos (boro, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, zinc), debe existir una necesidad reconocida por la Empresa Certificadora. Están autorizados además el sulfato de magnesio (sal de Epson), sulfato de potasio de origen mineral, arcillas (bentonita, perlita, vermiculita, etc.), mineral de potasio triturado, polvo de roca, roca de fosfato de aluminio calcinada y roca fosfatada natural (hiperfosfato), y roca de magnesio calcárea (dolomita) (SENASA, 1992).

En los sistemas orgánicos se utilizan prácticas culturales como: rotación de cultivos, incorporación de compost, lombricompost, abonos verdes, incorporación de bacterias fijadoras de N y otras, que buscan aumentar el nivel de materia orgánica del suelo y

conservar la fertilidad natural. En los ecosistemas naturales, la materia orgánica del suelo está formada por mezcla de microorganismos y restos de vegetales y animales, en diferente grado de descomposición. Por ello en los agroecosistemas, el agricultor puede incorporar otras materias de diferente composición que se suman a los anteriores, pero siempre de origen natural. Como consecuencia de la actividad biológica que se desarrolla en el suelo, la materia orgánica fresca incorporada sufre un proceso de biodegradación (Urbano, 2002; Cabrera, 2007).

En los suelos cultivados es más importante la velocidad de degradación de la materia orgánica y el equilibrio húmico al que tiende el agroecosistema, como consecuencia de los procesos de humificación y mineralización combinados, que el propio contenido de materia orgánica. La velocidad con que evoluciona la materia orgánica del suelo en los diferentes agroecosistemas depende de numerosos factores, tales como: composición de los residuos biodegradables, humedad, aireación y temperatura, presencia de nutrientes minerales, pH, salinidad y textura del suelo (Rivera *et al.*, 1999). El contenido de humedad y la temperatura son los factores ambientales más importantes que controlan la mineralización neta de N a partir de la materia orgánica (Rodrigo *et al.*, 1997).

La velocidad de descomposición de los residuos está relacionada directamente con su composición química. Las moléculas que se degradan con mayor facilidad son las de compuestos de estructura de cadena lineal. Por lo contrario, las que presentan estructura cíclica o muy ramificada tienden a ser más estables (Porta *et al.*, 1999).

A partir de los 5°C la actividad de los microorganismos aumenta, en consecuencia la descomposición de los residuos orgánicos es más rápida a medida que aumenta la temperatura. Los diferentes pasos en las transformaciones del N de compuestos orgánicos a N amoniacal, son catalizados por enzimas sensibles a la temperatura. Puede

ocurrir la mineralización aún a temperaturas cercanas a los 2°C, incrementándose hasta un óptimo próximo a los 40°C (Conti, 2000).

La adición de materia orgánica al suelo puede producir, en muchos casos, inmovilización de N como consecuencia del aumento de la población microbiana. Existen estudios que indican que si los residuos orgánicos incorporados al suelo tienen menos de 1,5 % de N, o lo que es igual una relación de C/N de 25 o mayor, se produce inmovilización del mismo. Mientras que, si el N de estos residuos supera el 1,5%, la mineralización resulta la reacción dominante (Conti, 2000).

El pH óptimo para la degradación de la materia orgánica varía entre 6 y 7,2 (Conti, 2000; Urbano, 2002). Las condiciones son sensiblemente más desfavorables si el pH baja a 5,5 o si se aleja de estos valores, ya que la acción microbiana se debilita y queda reducida a la actuación de las microfloras acidófilas o basófilas, según sea el caso, quedando inhibida a pH menores de 5 y mayores de 8 (Amlinger *et al.* 2003). En tanto, el proceso de mineralización en suelos arenosos se produce a mayor velocidad que en suelos de textura arcillosa (Castellanos *et al.* 2000; Amlinger, *et al.* 2003).

### **Fertilización orgánica**

Se puede definir como fertilizante orgánico al producto procedente de restos de animales y/o vegetales, sometidos a un proceso de transformación que le otorga la madurez necesaria para cumplir con su fin, dentro de un plan de fertilización (Labrador, 2006). Para ello es necesario que sea un producto de composición equilibrada, capaz de proveer materia orgánica al suelo en cantidad y calidad, activador de la vida edáfica beneficiosa, no fototóxico y no contaminante para el medio. Además de su potencial

calidad agronómica, debe cumplir con otros aspectos ligados a la dinámica de la producción, es decir, que tenga un precio accesible, que sea fácil su adquisición y que sea técnicamente factible su distribución en el campo.

Los aportes de estiércoles, compost, vermicompuesto, abonos verdes, restos de cosecha, residuos orgánicos industriales, y otros, tienen una función insustituible en la dinámica del suelo. La provisión de nutrientes en cantidad y calidad afecta directamente la biodiversidad edáfica y mejora las características físicas, químicas, biológicas y sanitarias del suelo (Santos, 2013).

La utilización de estos materiales brindará un aporte de nutrientes diferencial, debido a sus distintas composiciones químicas y a su origen. A continuación se describen los principales abonos utilizados en la agricultura orgánica.

### **Estiércoles**

Los estiércoles se han usado desde hace mucho tiempo para aumentar la fertilidad de los suelos y modificar sus características en beneficio del desarrollo de las plantas. El estiércol como tal, es la mezcla de la cama de los animales y sus deyecciones, sólidas y líquidas, que han sufrido fermentaciones.

Estos se caracterizan por aportar elementos esenciales que requieren los cultivos, tener un efecto residual mayor que los fertilizantes químicos ya que liberan nutrientes en forma gradual favoreciendo su disponibilidad para el desarrollo del cultivo. Además, mejoran la estructura, porosidad, aireación y capacidad para la retención de agua del suelo y forman complejos con los nutrientes, manteniendo a éstos disponibles para las plantas. Asimismo, elevan la capacidad de intercambio catiónico del suelo evitando que los minerales se pierdan por lixiviación; liberan dióxido de carbono durante si

descomposición que forman ácido carbónico, el cual solubiliza nutrientes de otras fuentes. También aportan el carbono orgánico que se utiliza como fuente de energía para organismos heterótrofos presentes en el suelo y aumentan la infiltración de agua, reduciendo el escurrimiento superficial, lo que evita la erosión de los suelos. Por último, favorecen una mayor resistencia de los agregados del suelo a ser dispersados por el impacto de las gotas de lluvia y permiten que el suelo sea más productivo, conserve su fertilidad y tenga un uso sostenido a través del tiempo (Santos, 2013).

El contenido de nutrientes en los estiércoles es muy variable y depende de la especie que lo produce, edad del animal, su eficiencia digestiva, tipo de alimentación que recibe y el manejo al que ha sido sometido el estiércol desde su recolección, maduración y almacenamiento.

La composición mineral del estiércol es muy heterogénea, se trata de un abono de naturaleza órgano-mineral, rico en materia orgánica, con un contenido bajo de elementos minerales. Su contenido de nitrógeno se encuentra casi exclusivamente en forma orgánica y requiere la mineralización previa para ser asimilado por los cultivos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Contenido de N en diferentes estiércoles (\*Se refiere a materia húmeda. – No determinado)

<b>Tipo de fertilizante</b>	<b>Contenido de N (% sms)</b>	<b>% de N mineralizado (1<sup>er</sup> año)</b>
Estiércol de bovino	1-2	20-30
Estiércol de ovino	2-2,5	40-50
Estiércol de porcino	1,5-2	40-50
Purín de porcino	0,4 *	-
Gallinaza	2-5	60-90
Lodos de depuradoras	2-7	30-40
Compost de RSU (Residuos Sólidos Urbanos)	1 -1,8	15-20

### Contenido de Nitrógeno

El nitrógeno de los estiércoles se encuentra mayoritariamente ligado a la materia orgánica, por lo que una parte de éste se libera con la mineralización microbiana y la otra seguirá su dinámica a través del proceso de humificación. Se subdivide en 3 fracciones: el nitrógeno mineral constituido por los componentes inorgánicos y algunos orgánicos rápidamente mineralizables, como la urea y el ácido úrico; el nitrógeno orgánico lábil, contenido en compuestos con una relación C/N baja, es el nitrógeno de las proteínas y de los aminoácidos, y se mineraliza en el mismo año de la aplicación; y finalmente el nitrógeno orgánico residual, más resistente a la mineralización inicial, que se encuentra en la materia orgánica con alta relación C / N el cual aumenta las reservas húmicas (Tabla 2).

**Tabla 2.** Fracciones del nitrógeno en distintos estiércoles (Adaptado de Saña, 1996)

<b>Tipo</b>	<b>N - Mineral</b>	<b>N- Lábil</b>	<b>N- Residual</b>
Vaca	40	30	30
Ternero	80	9	11
Aves	70	20	10
Porcino Sólido	50	22	28
Porcino Purines	94	3	3

### Contenido de Fósforo

El fósforo en los estiércoles se encuentra fundamentalmente en la fracción sólida y presenta una buena disponibilidad para las plantas. La mayoría de este se encuentra en la fracción mineral en forma de fosfato de calcio, aunque la relación fósforo mineral / fósforo orgánico es distinta para cada especie. El aporte de estiércoles proporciona fósforo a las plantas y a su vez contribuye a mejorar la disponibilidad de este y de otros elementos para los cultivos, como consecuencia de provocar una mayor actividad microbiana.

### Contenido de Potasio, magnesio y calcio

El potasio se halla principalmente en los orines y en forma inorgánica como sales minerales solubles, esto resulta en una buena disponibilidad para los cultivos, aunque implica un riesgo importante de lavado en las pilas de estiércoles. El magnesio tiene un comportamiento similar al potasio. El calcio al igual que el fósforo se encuentra preferentemente en la fracción sólida de las deyecciones.

### Microelementos

**Tabla 3.** Composición media de estiércoles según su origen (Adaptado de Serra, 1988; Vázquez y Oromí, 1989). Fuente: Labrador (2002).

Composición	Gallinaza	Oveja	Ternero	Vaca	Conejo
Mat. Seca (%)	22 (poned) 76 (pollos)	25	23	23	26
pH	6.8	7.8	7.9	8.2	7.5
CE	5.78	2.81	4.72	4.03	2.87
MO (%)	64.7	64.1	73.3	66.3	69.4
C/N	20,15	10,57	14,55	13,90	10,92
Na (%)	0,59	0,62	0,78	0,58	0,35
N (%)	1,74	2,54	2,40	1,84	2,79
P2O5 (%)	4,18	1,19	1,50	1,73	4,86
K2O (%)	3,79	2,83	3,14	3,10	1,88
CaO (%)	8,90	7,76	2,99	3,74	6,62
MgO (%)	2,90	1,51	0,91	1,08	2,10
Mn (mg/kg)	506	306	160	172	258

Todos los residuos orgánicos procedentes de animales contienen: Zn, Cu, Fe, Mn, B y Mo, en concentraciones variables según el tipo de producto, y el ritmo de liberación en el suelo depende de la actividad microbiana y de otros aspectos ligados a la bioquímica del propio suelo (Tabla 3).

### **Utilización de estiércoles**

Los estiércoles denominados “fríos” como vacuno o cerdo, son lentos exigiendo entre 3 a 4 meses para alcanzar su estado de máxima disponibilidad, momento ideal para la siembra.

La cantidad a incorporar dependerá de la clase de suelo, características del estiércol, disponibilidad del mismo y lugar que ocupan los cultivos en las rotaciones, teniendo en cuenta el balance de la materia orgánica, pudiendo aplicar dosis de conservación o dosis de corrección. En suelos arcillosos, se aplican estiércoles compostados y en mayor cantidad que en suelos arenosos, donde las incorporaciones de estiércoles suelen ser más frecuentes (Labrador, 2006).

### **Compost**

Una manera ecológica y eficiente de obtener enmiendas orgánicas es a través del proceso de compostaje, que permite obtener a partir de distintos tipos de residuos orgánicos, un producto con diversas aplicaciones en la agricultura.

El compost ha sido utilizado por los agricultores desde hace siglos, como un modo de reutilización de los residuos orgánicos procedentes de la actividad agrícola, ganadera y doméstica, consiguiendo un aporte orgánico complementario al estiércol, a un costo aceptable, de buena calidad y fácilmente accesible (Labrador, 2008). El mismo se utiliza como fertilizante orgánico (Labrador, 2006; Olivares Campos *et al.*, 2012), sustrato para

la producción de plantines (Ayastuy *et al.* 2008), enmienda orgánica (Doñate, 2010; Pellejero, 2013), fuente de nutrientes, y como supresor de agentes patógenos para las plantas (Capa, 2002; Lazcano *et al.*, 2009). Otros autores obtuvieron con la utilización de enmiendas orgánicas, en hortalizas de hoja (lechuga), mejor crecimiento y mayores rendimientos comparando con fertilizantes convencionales (Xu, *et al.* 2005; Masarirambi, *et al.* 2010).

El compostaje es un proceso biológico termofílico en donde la materia orgánica es descompuesta por una gran cantidad de microorganismos tales como bacterias, hongos, protozoos, ácaros, miriápodos entre otros organismos aeróbicos, a través de diversos procesos biológicos y bioquímicos (Rynk *et al.*, 1992). La actividad, número y composición de la población microbiana son parámetros clave que reflejan la dinámica del proceso (Tiquia *et al.*, 2002 a), donde las enzimas cumplen un rol muy importante (García, *et al.*, 1992). Precisamente, la caracterización y cuantificación de la actividad enzimática durante el compostaje puede proporcionar información sobre la estabilidad del compost (Tiquia *et al.*, 2002 b; Avendaño, 2003).

El proceso de compostaje también se ve afectado por el sistema utilizado, que varía en su grado de complejidad tecnológica. Pueden clasificarse como pilas estáticas y pilas estáticas con aireación forzada. Todos los sistemas pueden llevarse a cabo a cielo abierto, pero los que incluyen aireación forzada, además, pueden hacerse en estructuras parcial o totalmente cerradas (Tognetti, 2007). La elección de un sistema u otro depende principalmente del material a compostar, disponibilidad de espacio, equipamiento y de la inversión a realizar.

Uno de los posibles residuos utilizados es el material generado en la producción vegetal (residuos agrícolas), pudiendo ser residuos de poda (Pierini *et al.*, 2010), o integrados por restos de cosecha y cultivos (tallos, fibras, cutículas, cáscaras, rastrojos,

restos de poda, etc.), siendo un ejemplo el residuo del procesamiento de la cebolla (Martínez *et al.*, 2009).

### **Utilización y calidad del compost**

La aplicación del compost al suelo permite aumentar y mantener el nivel de materia orgánica del mismo y mejorar integralmente sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Climet Morató *et al.*, 1996).

La calidad del compostaje es afectada por el origen del material, por el sistema o metodología utilizada y el almacenaje del producto final (Rynk *et al.*, 1992). Algunos de los parámetros utilizados para definir la calidad del compost son: Contenido de metales pesados, presencia de semillas de malezas o agentes patógenos, estabilidad y maduración, tamaño de partícula, humedad, densidad, pH, sales solubles (CE), materia orgánica, relación C/N, contenido de nutrientes y su disponibilidad.

Dos aspectos fuertemente reglamentados a nivel internacional para definir calidad, son la reducción de patógenos y los límites de metales pesados. Sin embargo, no ocurre esto con la estabilidad y madurez del compost.

La maduración del compost está relacionada con el uso del mismo. De forma general se define como madurez al grado de descomposición de las sustancias fitotóxicas de carácter orgánico producidas durante la fase más activa del proceso de compostaje. En la comunidad científica hay acuerdo en que la madurez se refiere a la aptitud de un producto para ser utilizado para el crecimiento vegetal, evaluable mediante los potenciales efectos negativos sobre la germinación y crecimiento de las plantas (Tognetti, 2007). La estabilidad se refiere al grado de estabilización de la materia orgánica, es decir a su resistencia a la degradación microbiana. Para determinar si un producto es estable se mide la actividad biológica por unidad de masa del

producto, por ejemplo a través del consumo de oxígeno, la producción de dióxido de carbono o de su capacidad de autocalentamiento (Brewer y Sullivan, 2003).

Por lo tanto, la utilización de compost inmaduro e inestable puede tener efecto negativo sobre el crecimiento vegetal (fitotoxinas), baja concentración de oxígeno en el suelo, debida a la actividad microbiana, y poca disponibilidad de nitrógeno (alta C/N).

Respecto al diámetro de partículas, los tamaños más finos son recomendados cuando se pretende aportar nutrientes, estimulación de la actividad biológica o rápida incorporación del suelo. Los diámetros mayores se utilizan cuando el objetivo final es mejorar la estructura del suelo y controlar erosión, para este caso se recomienda el uso de productos no tamizados. Es decir que es posible utilizar compost de diferente granulometría en función de diferentes usos; por ello se recomiendan rangos de distintos índices de calidad según el uso final que se va a dar al compost (Mazzarino *et al.*, 2004).

Los métodos propuestos para evaluar la madurez de un compost se pueden clasificar en cuatro grupos: métodos de observación de color, olor y temperatura; métodos químicos y fisicoquímicos que incluyen pH, relación C/N en la muestra sólida, relación C/N en extracto acuoso, nitrificación, materia orgánica y humificación, capacidad de intercambio catiónico y fracciones de carbono más biodegradables; métodos basados en el estudio de la actividad microbiana como recuento total de microorganismos y parámetros bioquímicos; y métodos biológicos.

### **Abonos verdes**

El cultivo de plantas para enterrarlas como abono verde constituye una práctica muy utilizada por los agricultores desde hace mucho tiempo. La misma contribuye a mantener la actividad biológica del suelo mediante la formación de un humus joven, de evolución rápida y rico en N. Además contribuye a reducir la erosión del suelo, al actuar

como una cubierta vegetal, como también al control de malezas, mediante el efecto de acolchado. Las especies más utilizadas para abonos verdes son las leguminosas (vicia, alfalfa, tréboles, habas), o su combinación con gramíneas (avena, cebada, centeno) o brassicáceas (Kahnt, 1.989; Labrador *et al.*, 2006). El valor fertilizante de un abono verde está relacionado en su capacidad para generar humus y en la fijación o reciclado de nutrientes minerales. Como término medio se considera un valor de 40 kg de humus por cada tonelada de abono verde que se entierra. En el caso de abonos verdes consociados de leguminosas y gramíneas, que producen una masa verde de 25 a 30 Mg ha<sup>-1</sup>, puede formarse entre 1000-1200 kg ha<sup>-1</sup> de humus, lo que equivaldría a una estercoladura de 10 a 12 Mg ha<sup>-1</sup>. Respecto al aporte de nitrógeno por un abono verde de leguminosas, puede variar entre 40 y 150 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. En el caso de aportar brassicáceas, gramíneas y otras no leguminosas, no habrá fijación biológica de nitrógeno, pero pueden reducirse las pérdidas por lixiviación (Abboud y Duque, 1986; Urbano, 2002; Flórez Serrano, 2009).

## **El cultivo de espinaca (*Spinacia oleracea* L.)**

### **Origen, importancia económica y difusión**

La espinaca (*Spinacia oleracea* L.) es originaria del sudeste asiático, desde donde fue introducida en Europa por los árabes durante sus invasiones. Su cultivo habría comenzado hace unos mil años, generalizándose a toda Europa en los siglos XVI y XVII, y desde allí habría sido traída a América (Castagnino, 2009).

En la actualidad es un cultivo ampliamente difundido en el mundo, pero los principales productores siguen siendo países europeos como Italia, Francia, Alemania y Holanda. En América se destaca la producción de Estados Unidos, país que junto a

Holanda y Japón, se ha transformado en un importante centro de generación de cultivares modernos de la especie. En Argentina la espinaca ocupa una posición secundaria respecto de la superficie cultivada de hortalizas.

### **Uso y valor nutricional**

Esta especie es consumida en fresco o procesada mediante cocción en agua (hervido) o en aceite (frito o rehogado), y es uno de los productos hortícolas más procesados industrialmente (congelado y deshidratado). Las vitaminas, fibra, minerales y ácido oxálico son los componentes principales de las espinacas (al margen de su contenido en agua, cercano al 92 %), resultando un alimento muy beneficioso para el ser humano. Su acción antioxidante y reguladora previene enfermedades tan significativas como el cáncer o las dolencias cardiovasculares, ayudando además a la formación del feto durante las primeras semanas de embarazo.

La composición en nutrientes de los alimentos se puede describir englobándolos en varios grupos de compuestos como proteínas, aminoácidos, grasas, ácidos grasos, carbohidratos, vitaminas, sales minerales y agua. Su composición puede ser disímil en las distintas variedades. Esta variabilidad tiene diversas causas que pueden ser: genética, grado de madurez, condiciones del suelo, fertilizantes, factores estacionales, pluviometría, situación geográfica y topográfica de la región (Salunkhe y Kadam, 2004).

La composición química porcentual, sobre base de sustancia seca, de la espinaca se presenta en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Composición química de la espinaca (Chakraborti, 1989).

<b>Constituyente</b>	<b>Contenido (%)</b>
Materia Seca	8.5
Cenizas totales	5.9
Sílice	1.6
Proteína bruta	22.75
FND	31.06
FAD	7.02
Hemicelulosa	24.04
Celulosa	5.02

Los componentes minerales de la espinaca cruda o fresca deben ser expresados por 100 g de alimento crudo y se muestran en la Tabla 5.

Además, la espinaca es una hortaliza con un alto valor nutricional, debido a su riqueza en vitaminas, particularmente en caroteno, un precursor de la vitamina A (Tabla 6).

**Tabla 5.** Composición mineral de la espinaca (Holland, 1991; Fordham, 1993. Fuente: Salunkhe y Kadam, 2004).

<b>Mineral</b>	<b>Contenido</b> (mg/100 g de material crudo)
Sodio	140
Potasio	500
Calcio	170
Magnesio	54
Fósforo	45
Hierro	2.1
Cobre	0.04
Cinc	0.7
Azufre	20
Cloro	98
Manganeso	0.6

**Tabla 6.** Contenido de vitaminas de la espinaca (Ganju, 1959; Holland, 1991; Fordham, 1993. Fuente: Salunkhe y Kadam, 2004).

<b>Vitamina</b>	<b>Contenido</b> (por 100 g de material crudo)
Caroteno (µg)	35.35
Vitamina E (mg)	1.71
Vitamina K (mg)	25
Tiamina (mg)	0.07
Riboflavina (mg)	0.09
Niacina (mg)	1.2
Vitamina B <sub>6</sub> (mg)	0.27
Folato (µg)	150
Pantotenato (mg)	0.27
Biotina (µg)	0.1
Vitamina C (mg)	26

### **Características botánicas, biológicas y fisiológicas**

La espinaca pertenece a la familia *Chenopodiaceae*. Botánicamente, se distinguen dos subespecies (Sarli, 1980):

- *Spinacia oleracea* var. inermis, de hojas anchas y semillas redondas y lisas.
- *Spinacia oleracea* var. spinosa, de hojas puntiagudas y semillas espinosas.

En general, la mayor parte de las variedades cultivadas pertenecen a esta segunda subespecie. Existen diferentes criterios de clasificación varietal; Maroto (1995) indicó algunos caracteres morfológicos como:

*Porte de la planta:* erguidos, semipostrados o postrados.

*Tipo de hojas:* lisas, rizadas, globosas, de color verde claro u oscuro, o de hojas más o menos grandes.

*Aptitud de utilización:* en fresco, congeladas, deshidratado.

*Épocas en que pueden cultivarse:* existen variedades adaptadas al cultivo otoñal-invernal, resistentes al frío y aquellas adaptadas al cultivo primaveral – estival, resistente a la subida a flor prematura.

La planta de espinaca posee raíz pivotante, poco ramificada y de desarrollo radicular superficial. En los primeros estadios de crecimiento presenta una roseta de hojas con tallo corto; la duración de la misma depende de factores ambientales como temperatura, radiación y fotoperíodo (Di Benedetto 2010). Alcanza una altura de entre 15 y 25 cm. Posteriormente, la planta desarrolla un escapo floral que puede tener una altura variable de 0,30 a 1 m de longitud (Maroto, 1995; Castagnino, 2009).

Sus hojas son de color verde oscuro, brillante u opaco pálido, pecioladas, con un limbo o lámina que puede ser más o menos sagitado, triangular-ovalado, o triangular acuminado, de márgenes enteros o sinuosos y de aspecto blando, rizado, liso o abollado (Maroto, 1995).

Las flores son muy pequeñas y verdosas. Es una planta esencialmente dioica que puede adquirir numerosas formas sexuales que van desde la aparición de individuos completamente masculinos a otros completamente femeninos, pasando a través de casos intermedios. Las flores masculinas aparecen en espigas terminales, las flores femeninas aparecen en la parte inferior del tallo, mientras que las hermafroditas lo hacen en el centro del tallo. Las ramas florales tienen hojas bien desarrolladas en toda su longitud y llevan flores masculinas y femeninas en proporción variable (Sarli, 1980; Vigliola, 2003).

El fruto es un aquenio, el cual es considerado como semilla, de forma algo comprimido, liso o membranoso en unas variedades (var. *inermis*) y espinosos en otras (var. *spinosa*). Las semillas son de color gris verdoso, de superficie rugosa,

característica que se destaca más al envejecer (Maroto, 1995; Castagnino, 2009). Como término medio tiene una capacidad germinativa de cuatro años. El peso de mil semillas es de aproximadamente 10 g.

### **Exigencias agroclimáticas y adaptaciones ambientales**

Este cultivo presenta una gran adaptabilidad al clima, sobre todo en condiciones de día largo, aunque algunos genotipos muestran una respuesta cualitativa en condiciones de alta irradiancia y temperatura entre 15 y 25 °C. El cero vegetativo se encuentra en los 5°C (Di Benedetto, 2010), aunque no empieza un crecimiento rápido hasta los 10 °C (Illescas y Vesperinas, 1994), si bien puede soportar temperaturas inferiores a 0° sin sufrir daños (Castagnino, 2009). La temperatura óptima para la germinación de las semillas está comprendida entre los 20 y 25 °C, germinando aún con temperaturas de 4 a 5°C (Zoppolo *et al.*, 2008). Si la temperatura es mayor de 26°C se produce la inhibición total de la germinación.

El óptimo térmico para el desarrollo del cultivo se encuentra en el rango de 15 y 18°C, con un máximo de 24°C y un mínimo de 5°C (Vigliola, 2003; Mezquiriz, 2007), aunque existen algunas variedades especialmente resistentes hasta -7 °C (Maroto, 1995).

La formación del tallo y el desarrollo de la inflorescencia son procesos que responden al fotoperiodo de días largo, de los cuales el primero es más fácil de modificar que el segundo. Al incrementar la formación de hojas en días cortos, produce una baja tasa de floración (Chun *et al.*, 2000). Numerosos autores mencionan que la floración de la espinaca es foto y termodependiente, requiere días con fotoperíodo en aumento (entre 12 y 14 horas de luz) y temperaturas mayores a 15- 18°C. Por lo tanto los efectos de la duración del día o fotoperiodismo, resultan muy importantes para la

producción de la espinaca para consumo, combinados en su acción con la temperatura y humedad (Vigliola, 2003; Illescas y Vesperinas, 1994; Flórez Serrano, 2009).

Las producciones se reducen marcadamente con temperaturas elevadas y fotoperíodos largos, puesto que las plantas permanecen poco tiempo en fase de roseta, y no alcanzan por ello un crecimiento suficiente como hortaliza (Illescas y Vesperinas, 1994). Por ello, los ciclos de cultivo más utilizados por los productores son los de otoño–invierno, aunque mediante un adecuado manejo de la temperatura de crecimiento y variedades adecuadas, se ha extendido su producción durante todo el año.

## **Manejo del cultivo**

### **Suelo**

Para una correcta preparación de la cama de siembra debe prepararse cuidadosamente el suelo. Esta especie se adapta bien a los terrenos fértiles, profundos, ricos en materia orgánica y nitrógeno, y bien drenados. Es una planta resistente a la salinidad pero no se desarrolla bien en suelos con valores de pH inferiores a 6. Los suelos excesivamente alcalinos pueden provocar en el vegetal alteraciones como la clorosis férrica y los terrenos muy ácidos producen un enrojecimiento peciolar. El pH óptimo se ubica entre 6,5 y 6,7 (Maroto, 1995).

### **Siembra**

La temperatura óptima al momento de la siembra está comprendida entre 10 y 25°C, por lo que se puede producir espinaca todo el año, siendo más dificultosas las siembras estivales. La profundidad de la misma es de 1 -1,5 cm. Se pueden realizar uno o dos raleos según el destino de la producción; si es para industria se realiza cuando la planta tiene 4 o 5 hojas dejando un espacio de 5 - 7 cm entre plantas, en cambio para consumo

en fresco, el segundo raleo se realiza unos 10 días posteriores dejando una distancia final de 12 - 15 cm entre plantas. Para consumo en fresco la siembra se realiza en líneas separadas de 25 - 35 cm, a chorrillo, utilizando entre 30 y 50 kg de semilla por hectárea. Las densidades más altas (64 plantas  $m^{-2}$ ) son las que producen los mayores rendimientos en peso fresco (Tonelli *et al.*, 2005). En un cultivo orgánico al aire libre en el Valle Inferior del Río Negro se obtuvieron rendimientos de hasta 33 Mg  $ha^{-1}$  con una densidad de siembra de 44 plantas  $m^{-2}$  (Van Konijnenburg *et al.*, 2005).

En el caso de cultivos destinados a la industria la distancia entre líneas se reduce a 17- 20 cm, y las densidades son de 150 a 180 plantas  $m^{-2}$ ; los valores mayores corresponden a los lotes destinados a la industria del congelado.

### **Control de malezas**

El control de malezas es fundamental, más aún en cultivos destinados a la industria, debido a que su recolección está mecanizada. El desmalezado puede realizarse en forma manual, mecánica y/o química. En el caso del cultivo orgánico de espinaca, pueden aplicarse únicamente los primeros dos métodos, mediante azadines y azadas para extraer malezas entre las plantas, y escardillos entre las hileras.

### **Riego**

Debido a la reducida expansión de su aparato radical y a su tendencia a la floración en condiciones de carencia hídrica, la espinaca requiere de una constante disponibilidad de agua en el terreno. El riego por aspersión es el más conveniente y extendido, recomendándose los riegos cortos y frecuentes, especialmente en las últimas fases del cultivo. De igual manera se utiliza el riego gravitacional por surco y el localizado por

goteo; este último resulta el más eficiente en la utilización del agua. En la zona del Valle Inferior del Río Negro el riego por gravedad a través de surcos es el más utilizado.

### **Fertilización**

Las dosis de fertilizantes recomendadas por hectárea y por año son de 100 unidades fertilizantes (UF) por ha y año de N, 35 UF de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 135 UF de K<sub>2</sub>O; 42 UF de CaO y 20 UF de MgO para un rendimiento de entre 10 y 15 Mg ha<sup>-1</sup> (Di Benedetto, 2010).

Los cultivos de otoño – invierno, en particular, requieren elevadas dosis de N, ya que en la estación fría la nitrificación del suelo es mínima (Giacconi y Escaff, 1995). Altas dosis de N inciden favorablemente sobre la producción, aunque determinan un incremento del contenido de nitratos (Siliquini *et al.*, 2001) y de ácido oxálico (Costa *et al.*, 1987) en las hojas, con aspectos negativos en las características organolépticas (Castagnino, 2009).

Las aplicaciones de estiércol no deben efectuarse inmediatamente antes de la siembra, sino previas al cultivo precedente, ya que la rapidez de su ciclo no permite aprovechar los beneficios de tal práctica. A su vez, las raíces superficiales de la espinaca son delicadas y podrían ser afectadas (Vigliola, 2003; Flórez Serrano, 2009).

Posteriormente al cultivo de espinaca el terreno generalmente queda en excelentes condiciones físicas, a consecuencia de los frecuentes cuidados a que se somete durante su cultivo.

### **Cosecha, rendimiento y comercialización**

La cosecha se inicia en invernadero con las variedades precoces, a los 40-50 días de la siembra, en forma manual, cortando en turnos sucesivos las hojas más desarrolladas o la planta entera (Chun *et al.*, 2000).

Los rendimientos fluctúan entre 10 -15 Mg ha<sup>-1</sup> para industria, de 15 a 20 Mg ha<sup>-1</sup> en cultivos en los que se cosecha la planta entera en un solo turno de corte, hasta más de 50 Mg ha<sup>-1</sup> en cultivos cosechados en varios turnos de corte (Di Benedetto, 2010).

En Argentina la comercialización se realiza en manojos, colocados en jaulas o cajones de madera o bandejas plásticas de 8-12 kg (Vigliola, 2003).

### **Cultivo en invernadero**

La falta de condiciones ambientales y el mayor interés del horticultor en aumentar la producción y el ciclo productivo, ha impulsado a la empresa hortícola al cultivo de espinaca bajo cubierta. Se puede iniciar por siembra directa a chorrillo, pero lo más común es que se haga trasplante, con plantines provenientes de la siembra en bandejas de germinación. El riego es generalmente por goteo, con la posibilidad de efectuar fertirrigación.

Las producciones de hortalizas de hojas son tan intensivas que el suelo debe trabajarse en períodos más cortos que en hortalizas de fruto. La incorporación de materia orgánica es una de las medidas preventivas que permite mantener esos suelos como sostén y alimento de los diferentes cultivos, siendo una alternativa la utilización de compost (Balcaza, 2010).

La espinaca es una especie con marcada respuesta en rendimiento ante variaciones en la densidad de plantación. Dondo *et al.* (2004) demostraron que el máximo rendimiento en peso fresco se obtuvo con altas densidades (55 pl m<sup>-2</sup>), significativamente mayor que con densidades bajas (14 pl m<sup>-2</sup>) y medias (21 pl m<sup>-2</sup>), pero el efecto sobre el peso fresco y peso seco por planta fue negativo. Esto se explica porque al aumentar la densidad de siembra las plantas se tornaron más erectas y con mayor proporción de pecíolo respecto a lámina.

El ciclo de cultivo en invernadero en invierno es de aproximadamente 60 días. El rendimiento promedio es de 20 - 22 Mg ha<sup>-1</sup> en verano y de 30 - 32 Mg ha<sup>-1</sup> en el ciclo invierno- primavera (Mezquiriz, 2007). En la zona hortícola de Bahía Blanca, en producciones de espinaca bajo cubierta, se han obtenido rendimientos entre 53 y 57 Mg ha<sup>-1</sup> (Rodríguez *et al.*, 2007).

Los problemas sanitarios más habituales aparecen en suelos muy trabajados y sin rotación, causando daños en emergencia y estado de plántula por damping-off (*Pythium* spp.; *Phytophthora* spp.; *Fusarium* spp.). Durante el desarrollo el cultivo puede ser afectado por mildiu (*Peronospora effusa*). Con respecto a plagas, las más comunes son pulgones y gusanos del género de *Agrostis*. Para evitar estos problemas es importante realizar rotaciones adecuadas y no producir espinaca después de un cultivo de acelga.

### **Las hortalizas como fuente de nitrato en la dieta**

La agricultura moderna se ha intensificado con la necesidad de aumentar la producción de alimentos para satisfacer las demandas alimentarias de una población mundial en crecimiento exponencial. Las prácticas utilizadas para este fin pueden facilitar la acumulación de sustancias potencialmente tóxicas, como lo son los nitratos en vegetales, principalmente en las hortalizas de hoja (Maynard *et al.*, 1976).

Los vegetales son la fuente principal de incorporación de nitratos a la dieta de los seres humanos, alrededor del 72 al 94% del total aportado por la alimentación (Anjana *et al.*, 2007). Los nitratos son compuestos fundamentales para los ciclos biológicos de las células de los tejidos humanos, ya que el nitrógeno constituye un elemento básico para la síntesis de compuestos orgánicos esenciales como los aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, aminos, amidas, nucleoproteínas, entre otros.

A pesar de su importancia, un exceso de consumo de nitratos por parte del hombre puede provocar toxicidad en el organismo, generando diferentes respuestas. El principal mecanismo de toxicidad del nitrato es la oxidación del ión ferroso a férrico en la hemoglobina, transformándose en metahemoglobina, que en altos niveles produce el llamado “Síndrome de los niños azules” (FAO, 2000, 2003). La metahemoglobina provoca una distribución heterogénea del oxígeno en el tejido de su organismo, proceso conocido como cianosis.

Otro riesgo del exceso de consumo de nitratos lo constituye la reducción del nitrato y su combinación para formar compuestos como nitrosaminas y nitrosamidas, sustancias reconocidas como cancerígenas (Hill, 1999), acompañado de una disminución hepática de vitaminas A, B y carotenos (Salunkhe y Kadam, 2004).

El porcentaje diario de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) ingerido a través de los vegetales por un adulto puede alcanzar valores de 300 mg  $\text{NO}_3^-$  por día. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) han fijado como dosis diaria admisible 3,7 mg de nitratos por  $\text{kg}^{-1}$  de peso corporal en adultos, mientras que la dosis diaria de nitritos debería ser de 0,6 mg  $\text{kg}^{-1}$  peso corporal.

La Unión Europea ha fijado límites máximos admisibles en hortalizas de hoja, que para el caso de la espinaca cultivada en otoño-invierno es de 3000 mg  $\text{kg}^{-1}$  y en primavera verano 2500 mg  $\text{kg}^{-1}$  en base a peso fresco, para el caso de la espinaca congelada un límite de 2000 mg  $\text{kg}^{-1}$  (Reglamentación N° 1822/2005).

En Argentina, debido a que no se ha reglamentado en éste sentido, se toma como referencia el utilizado por la U E.

En nuestro país, la Secretaría de Ganadería, Pesca y Alimentación de la Nación resolvió incorporar al capítulo V del Código Alimentario Nacional la “Rotulación de alimentos envasados” en el artículo 235 quarter. Esta incorporación se realizó

considerando los siguientes aspectos, entre otros: *“Que las hortalizas son una de las principales fuentes de nitrato en la dieta humana, y la espinaca, presenta naturalmente los niveles más altos de nitratos...Que si bien, los productos a base de dichas hortalizas con cereales no son alimentos específicamente autorizados para niños en primera infancia o lactantes, es habitual que sean suministrados a niños de esa edad...Que en los lactantes, las enterobacterias reductoras de nitrato crecen en la porción superior del tubo gastrointestinal, debido al alto pH, y reducen los nitratos a nitritos, produciendo cantidades suficientes de nitritos como para causar metahemoglobinemia...Que la hemoglobina fetal se convierte fácilmente en metahemoglobina y los niños pequeños, durante los primeros meses de vida, tienen cantidades considerables de hemoglobina fetal...Que los infantes son menos capaces de reducir la metahemoglobina a la forma ferrosa, debido a que son deficientes en las enzimas necesarias para este proceso...que se encontró abundante bibliografía que registra casos de metahemoglobinemia en infantes, por consumo de productos que contenían espinaca.”*

Es así que el nuevo artículo 235 quarter del Capítulo V del Código Alimentario dice lo siguiente: *“En el rótulo de los productos alimenticios que contengan hortalizas tales como espinaca, remolacha, brócoli, zanahoria, coliflor u otro vegetal que naturalmente presenta alto contenido de nitratos, deberá consignarse con caracteres de buen realce y visibilidad y en un lugar destacado de la cara principal, la siguiente leyenda: No suministrar a niños menores de 1 año”* (Código Alimentario Argentino, 2005).

Las diferentes hortalizas que tienen la capacidad de acumular nitrato, pertenecen a las siguientes familias (de mayor a menor acumulación): Quenopodiáceas, Brasicáceas, Amarantáceas, Asteráceas, Apiáceas, Convolvuláceas, Solanáceas y Liliáceas.

La espinaca es una quenopodiácea y tradicionalmente ha sido consumida en fresco o procesada mediante cocción en agua (hervido). A nivel mundial, actualmente es una de las hortalizas con mayor proceso industrial. Integra el grupo de hortalizas que acumulan elevada cantidad de nitrato, con valores que pueden superar los  $2500 \text{ mg kg}^{-1}$  en base a peso fresco (Santamaría *et al.*, 2006).

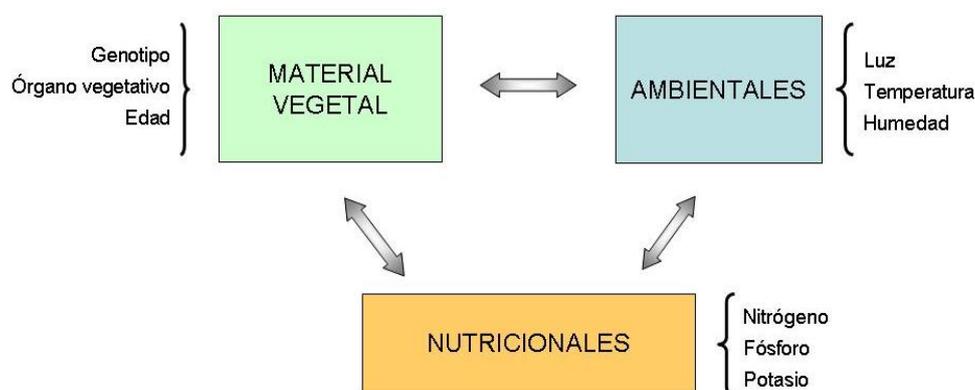
### **Fisiología de la acumulación de nitrato**

Actualmente existen diferentes teorías que explican los procesos por los cuales se acumula nitrato en vegetales. Maynard *et al.* (1976), postuló que la acumulación se debía a una reducción de la actividad de la enzima nitrato reductasa (NR) inducida por una disminución de la radiación lumínica interceptada por el cultivo. Una segunda teoría defiende la existencia de un consumo de lujo en algunas plantas. Algunas especies absorben más nutrientes, entre ellos el  $\text{NO}_3^-$ , que los necesarios para cubrir sus requerimientos inmediatos de crecimiento, con el fin de crear reservas para el caso de que el aporte de los nutrientes del suelo fuera insuficiente (Chapin, 1980). Otra teoría más reciente, denominada *Source-sink balance*, establece que la acumulación se debe al rol del nitrato como osmoregulador. Las plantas lo acumularían con el fin de mantener la turgencia celular (Seginer *et al.*, 1998; Buwalda y Warmenhoven, 1999).

Las teorías mencionadas no son capaces de explicar completamente el proceso de acumulación de nitrato en planta individualmente, pero a su vez todas explican parte del proceso no contradiciéndose entre sí. La teoría de disminución de la actividad de la nitrato reductasa, como así también la de consumo de lujo, hacen referencia al proceso de regulación de nitrato en planta. Por su parte las teorías buscan una explicación a la causa de la acumulación.

### Principales factores que afectan al contenido de nitrato en hoja

El contenido de nitrato en hoja está determinado por un conjunto de factores ambientales, nutricionales y propios del cultivo que interactúan entre sí (Figura 4). De todos estos; han sido identificados como los más importantes la fertilización nitrogenada y la intensidad de luz, los cuales influyen directamente en el contenido de nitrato en vegetales, especialmente en espinaca (Cantliffe, *et al.*, 1972a; Maynard *et al.*, 1976).



**Figura 4.** Factores que afectan al contenido de nitratos en hortalizas de hoja

#### Genotipo

El contenido de nitrato varía marcadamente entre especies, entre cultivares de la misma especie (Cantliffe, 1973; Maynard, *et al.*, 1976,) e incluso entre genotipos con diferente ploidías (Anjana e Iqbal, 2006). Se han encontrado variedades de lechuga que, en las mismas condiciones, acumulan el doble de nitrato que otras (Irigoyen Iriarte, 2001).

Variaciones parecidas se han obtenido en espinaca (Blom Zandstra y Lampe, 1983; Cabado *et al.*, 1987; Salcedo *et al.*, 1999; Irigoyen Iriarte, 2001), y en zanahoria (González *et al.*, 2006).

La acumulación de nitrato decrece con el aumento de la concentración de carbohidratos en vacuolas, y está correlacionado negativamente con la concentración de azúcares y el contenido de materia seca, mientras que los dos últimos parámetros están relacionados positivamente entre ellos en diferentes genotipos (Blom Zandstra y Lampe, 1985).

El almacenamiento de nitrato en vacuolas es afectado por múltiples procesos incluyendo la tasa relativa de absorción de nitrato, reducción y asimilación, la transferencia del mismo a la vacuola y su salida desde allí. Por lo tanto, gran cantidad de compuestos celulares pueden afectar los niveles de nitrato libre a nivel de tejidos (Anjana *et al.*, 2007).

La selección de genotipos que acumulan bajos contenidos de nitrato, contribuye significativamente a la reducción del consumo de nitrato por los humanos, a través de los vegetales y, consecuentemente, el riesgo de toxicidad.

### **Distribución de nitrato en la planta**

El contenido de nitrato se distribuye heterogéneamente en las diferentes partes de la planta (Maynard *et al.*, 1976). En este sentido, Santamaría *et al.* (1998, 1999) mencionaron que los órganos de los vegetales se pueden clasificar por orden decreciente: pecíolo, hojas, raíz, tallos, inflorescencias, tubérculos, bulbos, frutos, semillas. Otro autor, analizando diferentes especies hortícolas encontró mayores niveles de nitrato en hortalizas de hoja que en las de fruto como es el tomate (Ayaz, *et al.* 2007).

Por su parte la espinaca concentra mayor cantidad de nitrato en la raíz. Dentro de la parte aérea, la concentración en pecíolo es mayor a la de la lámina (Anjana e Iqbal, 2006), y las hojas jóvenes presentan contenidos superiores a las plenamente desarrolladas (Marschner, 1995).

Ocurre lo contrario con lechugas, donde las hojas exteriores presentan niveles mayores, siendo el contenido en el cogollo, hojas fisiológicamente más jóvenes, muy bajo. Esta puede ser la razón por la que las lechugas tipo Iceberg presentan niveles de nitrato tan bajos, ya que poseen cogollo muy arrellado y denso. Por su parte la acumulación de nitrato en pecíolos de acelga es muy superior a la de la lámina, variando las proporciones según cultivar (Irigoyen Iriarte, 2001).

La óptima edad fisiológica de cosecha de los cultivos necesita ser estandarizada para diferentes hortalizas de hojas en función del contenido de nitratos en los órganos que van a ser consumidos, y de esta manera disminuir riesgos de toxicidad.

### **Estado de desarrollo de la planta**

La acumulación de nitrato depende de la edad fisiológica de la planta (Santamaría *et al.*, 1998, 1999, Anjana *et al.*, 2007). Se considera que el contenido de nitrato decrece con la edad de la planta, pero este cambio no es independiente de los factores ambientales y nutricionales, por lo que a veces queda encubierto. Se estudió la evolución del contenido de nitrato en lechuga, en dos ciclos de invierno, cultivados bajo túneles; se determinó que se produce un incremento hasta el comienzo del acogollado, a partir del cual comienza a decrecer (Irigoyen Iriarte, 2001). Asimismo, los órganos más viejos presentan mayor contenido que aquellos jóvenes (Maynard *et al.*, 1976).

### **Factores ambientales**

El ambiente influye sobre la acumulación de nitrato en las plantas a través del efecto que ejercen: la luz, la temperatura, la humedad atmosférica y edáfica, siendo los más relevantes la radiación solar y la temperatura (Irigoyen Iriarte, 2001).

## **Radiación**

Afecta a varios procesos de la absorción y asimilación del nitrato. Al disminuir la intensidad luminosa, o el tiempo de exposición de la luz, aumenta el contenido de nitrato acumulado. Diversos estudios comprobaron este efecto en espinaca (Cantliffe, 1972b; Marschner, 1995) y lechuga (Maynard *et al.*, 1976; Cabado *et al.*, 1987; Premuzic *et al.*, 2001; Tamme *et al.*, 2010).

La luz es imprescindible para la producción de azúcares solubles necesarios para la osmorregulación celular. A su vez, la radiación aporta la energía necesaria para la absorción N y la síntesis de proteínas. El primer paso en la asimilación del nitrato consiste en su reducción a nitrito por medio de la actividad de la enzima nitrato reductasa (NR). La limitación de la luz, tanto en intensidad como en tiempo de exposición por la duración del fotoperíodo, genera un aumento del contenido en nitrato (Cantliffe, 1972c).

Salisbury y Ross (1999) explicaron que la hoja, al recibir más luz aumenta la fotosíntesis y produce mayor cantidad de trifosfato de adenosina (ATP), lo que permite que se incremente la concentración de nitratos en el citosol ya que incrementa su salida desde las vacuolas con la consiguiente inducción de la síntesis de NR, dado que la NR es inducida por su sustrato. Por otro lado, la luz activa el sistema fitocromo, que indirectamente activa el gen que codifica el ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que a su vez codifica la NR.

Por último, a través de la fotosíntesis, la radiación promueve la actividad de la NR ya que incrementa el aporte de carbohidratos, mientras que la coenzima nicotinamida adenina (NADH) que se necesita para la reducción de nitrato se produce a partir de estos carbohidratos cuando la planta respira. La respuesta general es un incremento en la actividad de la NR y un incremento en la velocidad de reducción del nitrato.

Sívori *et al.*, (1999) sostuvieron que la NR es una enzima inducida o activada por la presencia de nitrato, pero la inducción requiere además de radiación y CO<sub>2</sub>. La luz induce la actividad de la enzima a través de la síntesis de citocininas y giberelinas, o por el retardo en la degradación de éstas. Si se suministran dichas hormonas, en condiciones de oscuridad, reducen más la actividad de la NR que la luz misma. Por su parte la necesidad de CO<sub>2</sub> no parece estar ligada directamente a la producción de azúcares fotosintéticos, sino a la del ácido málico, necesario para evitar cambios bruscos de pH en el tejido donde se lleva a cabo el proceso.

Numerosos trabajos coinciden en que la intensidad luminosa es el factor que influye de forma significativa en la acumulación de nitrato en la planta de lechuga, de forma que a mayor luminosidad la acumulación de nitratos disminuye independiente de la fertilización nitrogenada llevada a cabo (Rincón Sanchez, 2005). Los resultados obtenidos por Villalba (2006) coinciden con los conceptos mencionados, ya que a medida que disminuye la radiación incidente aumenta la concentración de nitratos en planta mostrando así una relación inversa entre ambas variables.

### **Temperatura**

El efecto de la temperatura sobre la acumulación de nitrato está muchas veces encubierto por la radiación, puesto que el aumento de la radiación incidente sobre el cultivo suele conllevar un incremento de la temperatura (Irigoyen Iriarte, 2001). Por ello, para estudiar su efecto es recomendable desarrollar ensayos en condiciones estrictamente controladas.

La temperatura aumenta la transpiración, lo que provoca un flujo ascendente de nitrato desde la raíz hacia la parte aérea. Al aumentar la demanda de azúcares con fines respiratorios y para la síntesis de compuestos estructurales, limita su disponibilidad para

fines osmóticos, por lo que son reemplazados por aniones como nitrato (Seginer *et al.*, 1998).

El aumento de la temperatura disminuye la tasa de síntesis de proteína aumentando la disponibilidad de nitrato susceptible de ser acumulado en las vacuolas (Irigoyen Iriarte, 2001). No obstante, hay trabajos que contradicen esto, y demuestran que los contenidos de nitrato en planta disminuyen a medida que aumenta la temperatura (Villalba, 2006).

Por otra parte, el incremento de la temperatura edáfica aumenta la disponibilidad de nitratos para la planta debido a un incremento en la amonificación y nitrificación del nitrógeno orgánico del suelo (Irigoyen Iriarte, 2001).

### **Humedad edáfica**

El efecto combinado de la humedad y la temperatura del suelo, intervienen en el proceso de nitrificación y acumulación de nitrato (Grundmann, *et al.* 1995). Una elevada disponibilidad de agua en el suelo puede ejercer un doble efecto sobre el contenido de nitrato en la parte aérea. Por un lado, facilita la mineralización del nitrógeno orgánico del suelo, aumentando la disponibilidad de  $\text{N-NO}_3^-$  en el entorno radical. Por otra parte, si el agua de riego presenta elevados niveles de nitrato se puede proporcionar nitrógeno adicional al cultivo, lo cual contribuye a aumentar el nivel de nitrato (Irigoyen Iriarte, 2001).

En sentido contrario, plantas sometidas a estrés hídrico aumentan el contenido de nitrato, al ser absorbido como elemento osmótico para adaptarse a las condiciones de estrés. Además, produce un cierre de estomas, reduciendo la actividad fotosintética, y por tanto la disponibilidad de azúcares, a la vez que se reduce la actividad de la NR. Asimismo, al disminuir el contenido hídrico del suelo aumenta la concentración en

nitrate de la solución del suelo, pudiendo aumentar su absorción total (Domínguez *et al.*, 2005)

### **Humedad atmosférica**

La elevada humedad relativa nocturna disminuye el contenido de nitrato. Por el contrario, niveles bajos de humedad relativa aumentan la transpiración y con ello, el tránsito de nitrato desde la raíz a las hojas fotosintetizantes. Este proceso se acentúa durante los períodos de mayor radiación solar y mayor temperatura que disminuyen la humedad relativa.

### **Factores nutricionales**

#### **Nutrición nitrogenada**

La fertilización nitrogenada es uno de los factores más relevantes en la acumulación de nitrato en hortalizas de hoja. La cantidad y la fuente, o especie química, en que el nitrógeno está disponible para la planta afecta directamente a la cantidad de nitrato que se acumula tanto en hortalizas de hoja como la espinaca (Cantliffe, 1972) y en otras hortalizas como zanahoria (Mubashir *et al.*, 2010) y pimiento (Cánovas *et al.*, 2002)

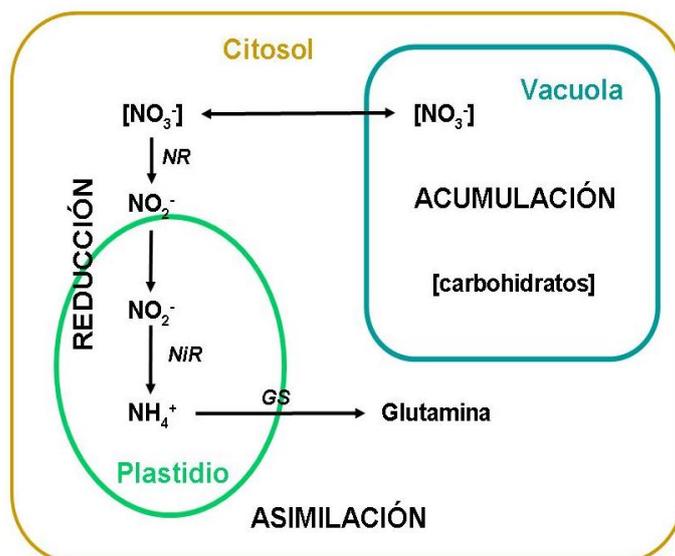
El nitrógeno es uno de los componentes fundamentales de las plantas, constituyendo un elemento básico para la síntesis de compuestos orgánicos esenciales como los aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, aminos, amidas, nucleoproteínas, clorofilas, entre otros. Los dos procesos biológicos por los que el nitrógeno inorgánico es convertido en nitrógeno orgánico son: la fijación del nitrógeno molecular y la asimilación del nitrato. Ésta última consta de tres etapas: primero se produce la absorción de nitrato, luego la reducción de éste a amonio y por último la incorporación del amonio a esqueletos carbonados para la síntesis de aminoácidos. Este proceso

requiere poder reductor, energía (ATP) y esqueletos carbonados (Maldonado *et al.*, 2000). El nitrógeno es fijado a través de la enzima nitrogenasa y transformado a amonio. La energía utilizada (ATP) para este proceso proviene del metabolismo oxidativo o fotosíntesis. El amonio producido en la fijación, y el agregado por la fertilización, es transformado en nitrato, forma iónica del principal suplemento de nitrógeno para la planta. Sin embargo, el amonio resulta tóxico para la mayoría de las plantas cultivadas, por lo que debe ser rápidamente asimilado, para lo cual demanda gran cantidad de esqueletos carbonados presentes en el citosol (Lewis, 1986).

La espinaca, al igual que la mayoría de las hortalizas, absorbe el nitrógeno a través de las raíces, tanto en forma nítrica ( $\text{N-NO}_3^-$ ) como amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ). El nitrato se almacena en vacuolas, de donde posteriormente puede salir para ser reducido en el citosol, y de esta manera se presenta en dos ubicaciones o pools, el citoplasmático y el vacuolar (Steingrover *et al.*, 1986).

El pool citoplasmático se localiza en el citosol, donde el  $\text{NO}_3^-$  se encuentra en el estado de oxidación +5. Allí es reducido a  $\text{NH}_4^+$ , estado de oxidación -3, tras dos reacciones consecutivas en las que intervienen las enzimas nitrato y nitrito reductasa (NR y NiR). En el proceso se consumen 8 electrones por cada molécula de nitrato reducida. Posteriormente este amonio es asimilado principalmente en moléculas de glutamato (Figura 5), siendo empleado para la síntesis de aminoácidos y proteínas (Lea y Miflin, 1974).

En el pool vacuolar el nitrato está disuelto en el líquido de la vacuola y es el responsable de la indeseada acumulación de nitrato en los cultivos hortícolas. El nitrato disuelto en las vacuolas contribuye a mantener la turgencia vacuolar y actúa como reservorio de  $\text{N-NO}_3$  de donde se dosifica hacia el pool citoplasmático en la medida en que éste sea demandado (Figura 5).



**Figura 5.** Esquema de la distribución del nitrato en el interior de la célula vegetal

### Nutrición fosfórica y potásica

Buwalda y Warmenhoven (1999) demostraron que la reducción de crecimiento como resultado de una nutrición fosfórica limitada provoca una disminución drástica del contenido de nitrato, incluso cuando éste está disponible a altas concentraciones. A su vez, múltiples estudios muestran una reducción de la absorción neta de nitrato como consecuencia de la deficiencia de fosfato.

El potasio; es un catión con reconocida actividad osmorreguladora, especialmente de la apertura estomática. El exceso de este nutriente incrementaría la acumulación de nitrato en condiciones de alta disponibilidad. (Maynard *et al.*, 1976).

## **Hipótesis**

1. El tipo de enmienda orgánica y la dosis utilizada afectan el rendimiento del cultivo de espinaca, producida bajo invernáculo.

2. La concentración de nitrato en plantas producidas bajo cubierta, está relacionada con el tipo y dosis de enmienda orgánica utilizada y las condiciones ambientales en los distintos ciclos de cultivo.

3. El contenido de nitrato en espinaca orgánica, producida en invernadero en la región de Viedma (RN), se encuentra dentro de los límites aceptados por la legislación internacional.

## **Objetivos**

1. Evaluar el efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre el rendimiento de espinaca cultivada en invernadero durante los ciclos de cultivo de otoño-invierno y primavera, en la región de Viedma.

2. Determinar el contenido de nitrato en partes comestibles y su relación con el tipo y dosis de enmienda orgánica utilizada.

3. Establecer la relación entre los contenidos de nitrato en plantas y las variables ambientales.

4. Verificar que la espinaca abonada con distintas enmiendas orgánicas presenta calidad higiénica sanitaria apta para el consumo según la legislación vigente.

## **Materiales y métodos**

### **Localización**

El estudio se realizó en el predio de la Estación Experimental Agropecuaria Valle Inferior del INTA, ubicada en la ciudad de Viedma, Río Negro (40° 48' S; 36° 05' O), durante el período 2007-2009. Los ensayos correspondientes al año 2007 se desarrollaron durante el ciclo productivo otoño- invierno. En el año 2008 se cultivaron en dos ciclos productivos, otoño- invierno y primavera. En tanto que en 2009 se realizó un solo ensayo de ciclo primaveral.

Los ensayos se llevaron a cabo en un invernadero experimental de 100 m<sup>2</sup> de superficie (10 m X 10 m), construido con caño galvanizado, techo parabólico con una altura cenital de 4,40 m, ventanas laterales con apertura manual, de 5 m de largo y 1,40 m de altura, cubierto por polietileno de tipo larga duración térmica (LDT), de 150 micrones de espesor (Agrotileno), con orientación este-oeste.

El material vegetal evaluado fue espinaca (*Spinacia oleracea* L.) Bolero F1 (Seminis), recomendada para cultivo de ciclo otoño-invierno. Este material es muy precoz, adaptable a diversos manejos, con plantas vigorosas. La hoja posee textura lisa de tamaño grande, ápice redondo, color verde oscuro. Logra un alto rendimiento y puede ser utilizada para industria y consumo en fresco. A su vez, es resistente a las cuatro razas de *Peronospora* sp. y a la floración prematura (Di Benedetto, 2010).

### **Sistema de siembra**

La siembra se realizó en bandejas germinación de polietileno con 128 alvéolos de 20 mL de capacidad, usando un sustrato comercial (Lombriquen) (Tabla 7).

**Tabla 7.** Caracterización fisicoquímica del sustrato utilizado

<b>Humedad</b>	<b>pH</b>	<b>Cenizas</b>	<b>Relación C/N</b>
15 - 20 %	6 - 6.5	70 - 75 %	20

Se colocaron dos semillas de espinaca por cada alvéolo, con posterior raleo, dejando una planta por celda. Las bandejas permanecieron en invernadero con riego por aspersión hasta que los plantines desarrollaron 3 a 4 hojas verdaderas, momento en que se trasplantaron.

En los años 2007 y 2008, la siembra de otoño – invierno se realizó el 23 y 24 de Abril y el transplante el 8 y 11 de Junio respectivamente. En los ciclos de primavera de 2008 y 2009 la siembra se realizó el 10 y 12 de Agosto y el transplante el 4 y 7 de Octubre respectivamente.

### **Transplante**

El trasplante se realizó sobre tablonces de 0,9 m de ancho por 7,5 m de largo acolchados con polietileno negro de 100 micrones. Sobre cada uno de ellos se trasplantaron seis hileras de plantas separadas a 0,15 m y 0,15 m entre plantas, correspondiente a una densidad de 44 pl m<sup>-2</sup>. La superficie efectiva de cada parcela fue de 2,25 m<sup>2</sup>. En la figura 6 se muestra el diseño de plantación.

### **Sistema de riego**

El riego fue localizado por goteo, mediante mangueras marca T- tape de 200 micrones de espesor, con emisores incorporados a 0,30 m, con un caudal nominal de 1 l h<sup>-1</sup>. Se utilizó agua proveniente de una perforación. En la Tabla 8 se muestra el análisis del agua de riego.



**Figura 6.** Diseño de plantación.

**Tabla 8.** Análisis del agua de riego

<b>pH</b>	<b>CE</b> (dS/m)	<b>Na<sup>+</sup></b> (meq/L)	<b>Residuos seco</b> (g/L)	<b>Mg<sup>2+</sup></b> (meq/L)	<b>Ca<sup>2+</sup></b> (meq/L)	<b>Cl<sup>-</sup></b> (meq/L)	<b>RAS</b>
7,56	1,06	13	0,78	0,93	3,36	3,3	8,8

El contenido de nitratos se determinó en el Laboratorio de Análisis de Calidad Ambiental Regional (LACAR) de la Universidad Nacional del Comahue Centro Regional Zona Atlántica – Viedma, resultando negativo el contenido de nitratos, por lo que se trata de un agua sin problemas de contaminación (Tabla 9).

**Tabla 9:** Análisis de nitrato en agua

<b>Determinación</b>	<b>Límite (C.A.A. Art. 982)</b>	<b>Muestra</b>
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	45 mg / L	No detectado

### Tipo de suelo

El cultivo se realizó sobre un suelo de textura franco arcilloso representativo de la zona. En la Tabla 10 se presentan los datos del análisis de suelo.

**Tabla 10.** Análisis del suelo al inicio de los ensayos.

<b>Nt (%)</b>	<b>pH</b>	<b>K disponible (ppm)</b>	<b>P extraíble (ppm)</b>	<b>CE (dS/m)</b>	<b>RAS</b>
0,155	8,2	407,1	32	0,88	2,80

Se trata de un suelo bien provisto de nitrógeno total, potasio disponible y fósforo extraíble para los requerimientos del cultivo. No presenta problemas de salinidad, con una relación de adsorción de sodio en niveles que no afectan al desarrollo de un cultivo, mientras que el pH es alcalino.

### Tratamientos con enmiendas orgánicas

Todas las enmiendas se aplicaron durante la preparación del suelo antes del trasplante, realizando posteriormente análisis de suelo en cada parcela al inicio de cada ciclo productivo.

Los tratamientos fueron: Testigo (T: sin enmienda); Compost de cebolla y estiércol (CE) a razón de 37 Mg ha<sup>-1</sup>; Estiércol vacuno (E) compostado durante un período de 6 meses equivalente de 33 Mg ha<sup>-1</sup>; Doble dosis de estiércol vacuno (DE) a razón de 66 Mg ha<sup>-1</sup>; y Fertilizante orgánico Bioorganutsa (B) (Daasons S.A.), en dosis de 3,3 Mg ha<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>. Las distintas enmiendas incorporadas fueron calculadas para suministrar 300 kg de nitrógeno por hectárea.

### **Bioorganutsa**

El Bioorganutsa es un fertilizante desarrollado para la agricultura orgánica; está compuesto por estiércol de caprino, mezclas de guano, harina de sangre, ceniza de cáscara de girasol, fósforo natural y compuestos de calcio. Es un sustrato orgánico de muy baja relación C/N (3), presenta alta disponibilidad de fósforo y elevados aportes de nitrógeno rápidamente disponible.

Esta enmienda cumple con todos los requisitos para ser utilizado en producción orgánica cuyos productos son certificados como “orgánicos”, “ecológicos” o “biológicos” de acuerdo a las normas de SENASA (Daasons, 2013).

**Tabla 11.** Caracterización químico del Bioorganutsa utilizado

<b>CE</b> (dS/m)	<b>pH</b>	<b>Nt</b> (% )	<b>Pt</b> (% )	<b>K</b> (% )	<b>Ct</b> (% )	<b>Ca</b> (% )	<b>Mg</b> (% )	<b>Na</b> (% )	<b>S</b> (% )	<b>Fe</b> (% )
2,9	7,8	1,27	0,35	0,81	13,38	2,52	0,87	0,14	0,24	1,83

### **Compost de residuos de cebolla y estiércol**

El compost utilizado se realizó con residuos orgánicos obtenidos del procesamiento y acondicionamiento de bulbos de cebolla en planta de empaque, incluyendo catáfilas, raíces, hojas secas y bulbos de descarte con relación C/N alta. Este material se mezcló con estiércol vacuno, que posee baja relación C/N, con alta carga bacteriana. La mezcla se realizó en función de la relación C/N de los materiales orgánicos de partida, de manera que la misma resulte igual a 30, dado que los microorganismos utilizan generalmente 30 partes de C por cada una de N; por esta razón la relación C/N óptima es de 25 a 35.

Para el cálculo de las proporciones de los materiales de partida se utilizó la metodología propuesta por Rynk *et al.* (1992).

El porcentaje de Carbono (% C) se determinó en un analizador LECO mediante combustión seca (1.500°C) y el de nitrógeno (% N) se determinó mediante el método Kjeldahl (Bremner, 1996).

Los resultados obtenidos por Martínez *et al.* (2005) y Pellejero (2013) indican la factibilidad de la utilización de estos residuos en el proceso de compostaje cuando se utiliza una mezcla adecuada con otros compuestos orgánicos.

**Tabla 12.** Caracterización química de los compost cebolla-estiércol utilizados

<b>Análisis</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>
CE (dS m <sup>-1</sup> )	2,38	2,69	1,4
pH	7,9	8,2	7,8
Pe (ppm)	0,22	0,19	0,21
Nt (%)	1,092	1,02	0,977
K (%)	0,72	0,89	0,97
St (%)	0,13	0,18	0,16
Pt (%)	0,15	0,15	0,18
Ca (%)	1,98	1,25	1,80
Mg (%)	0,52	0,64	0,62
Na (%)	0,51	0,42	0,32
C (%)	6,85	6,49	7,5

### **Estiércol de vaca**

Se utilizó estiércol vacuno proveniente de un tambo de la zona, cuya caracterización química se presenta en la tabla 13. Al igual que el compost, el estiércol vacuno utilizado fue caracterizado en el laboratorio LANAHIS N- 15 Conicet UNS (Tabla 13).

**Tabla 13.** Caracterización química del estiércol bovino utilizado.

<b>Análisis</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>
CE (dS m <sup>-1</sup> )	4,0	4,5	3,5
pH	8,0	8,5	7,7
Pe (ppm)	652	744	523
Nt (%)	1,08	0,768	1,16
K (%)	1,09	1,49	1,29
St (%)	0,21	0,11	0,26
Pt (%)	0,23	0,43	0,32
Ca (%)	2,23	2,04	2,66
Mg (%)	0,92	1,07	0,88
Na (%)	0,75	0,82	0,62

## **Variables ambientales**

### **Registros de temperaturas**

Durante el cultivo, se registraron en el invernadero diariamente las temperaturas máximas y mínimas, mediante un registrador marca HOBO, modelo H8.

A través de la estación meteorológica de la EEA Valle Inferior del Río Negro (convenio Provincia de Río Negro – INTA) se registraron valores de temperaturas máximas, mínimas y medias diarias al aire libre. Los datos registrados para cada período se tomaron como base para el análisis de los resultados. Los correspondientes gráficos se presentan en el anexo 2.

### **Radiación solar**

En la estación meteorológica de la EEA Valle Inferior del Río Negro (convenio Provincia de Río Negro – INTA) se registraron los valores de radiación incidente media diaria y radiación máxima diaria media. Los datos registrados para cada período se

tomaron como base para el análisis de los resultados. Los correspondientes gráficos se presentan en el anexo 2.

### **Horas de luz**

Se observa en la Tabla 14 que el fotoperíodo aumentó a partir de julio, incrementándose en todos los meses siguientes, en todos los años de experimentación.

**Tabla 14.** Fotoperíodo para la ciudad de Viedma durante el período de cultivo (Promedio de los tres años de ensayos).

<b>Mes</b>	<b>Julio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>
Horas de Luz	9,6	11,1	11,4	12,2	14,6

### **Sanidad del cultivo**

Durante el desarrollo del cultivo no se observaron problemas fitosanitarios que afectaran la producción. Se observó presencia de áfidos durante los ciclos primaverales, pero éstos fueron muy próximos al momento de cosecha por lo cual no fueron necesarios tratamientos para su control.

Resulta interesante mencionar que en Argentina no se han desarrollado umbrales de daño para esta plaga. En otros países estos parámetros se encuentran evaluados, como por ejemplo en España, en el cual se recomiendan los tratamientos a partir del estadio fenológico acogollado al detectar la simple presencia de individuos (Ferrato y Rodríguez, 2010).

### **Muestreo**

Transcurrido un mes del transplante se comenzó con el muestreo. Para ello se consideró que las plantas de las dos hileras laterales actuaran como bordura. Las dos

hileras contiguas se utilizaron para realizar las determinaciones y las dos hileras centrales se destinaron para evaluar el rendimiento al momento de cosecha.

Semanalmente se eligieron 10 plantas al azar por repetición en cada una de los tratamientos, de las cuáles se tomaron 20 hojas externas, desarrolladas de calidad comercial.

Se lavaron con agua destilada, secaron con papel absorbente y se separó la lámina del pecíolo. Se registró el peso fresco y luego se llevaron a estufa a 65° C durante 48 horas para determinar peso seco.

### **Análisis de las muestras**

Las muestras secas se molieron y se acondicionaron para determinar los contenidos de nitrato en lámina y pecíolo, micro y macro nutrientes (N, P, K, Ca, Fe y Zn), y la calidad nutricional.

### **Determinación de nitrato en tejido vegetal**

La determinación de nitrato en tejido vegetal se realizó mediante extracción acuosa y posterior lectura por espectrofotometría UV- visible (Cataldo *et al.*, 1975). Para ello se preparó un extracto de la siguiente forma: se pesaron 0,2 gramos de muestra molida y seca, luego se hirvió durante 30 minutos con 50 mL de agua desionizada en erlenmeyer de 250 ml. Se filtró la muestra y se transfirió cuantitativamente a matraz de 50 mL. Se llevó a volumen con agua bidestilada, se tapó, se agitó y se conservó a 4°C.

*Colorimetría:* Se tomaron 0,2 mL de extracto por duplicado en dos tubos de vidrio de 25 mL, dejándose uno de los tubos como blanco. Se agregaron 0,8 mL de la solución de ácido salicílico al 5 % (p/v) en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al tubo problema y 0,8 mL de ácido SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> sin ácido salicílico al blanco. Se agitaron los tubos inmediatamente después del agregado de

los ácidos, se esperó 20 minutos y se agregaron 19 mL de NAOH 2N con dosificador y se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 12 hs. Por último, se leyó la absorbancia a 410 nm en espectrofotómetro marca SHIMADZU, modelo UV-2100, con detector UV-visible.

### **Otras determinaciones**

Se determinó en suelo, Nitrógeno total, Fósforo, Potasio, Calcio, Hierro y Zinc, antes del inicio de cada ciclo. El Nitrógeno se cuantificó por el método de Kjeldahl, (Bremner, 1996), el fósforo se cuantificó a través del método Olsen, (Olsen *et al.*, 1982); en tanto que el resto de los elementos se procesaron mediante digestión húmeda y se cuantificaron mediante espectrometría de emisión por plasma inducido (Johnson y Ulrich, 1959).

Los análisis para determinar la concentración de elementos esenciales en hoja se realizaron en dos momentos del desarrollo del cultivo. El primero fue entre los 30 y 50 días del trasplante y el segundo en el momento de la cosecha (Mills y Benton Jones, 1996).

Cuando las plantas alcanzaron tamaño comercial, se cosecharon todas las plantas de las dos hileras centrales, y se pesaron para determinar el rendimiento ( $\text{g m}^{-2}$ ).

En el ciclo otoño invierno 2008, al momento de cosecha se tomaron las muestras para realizar los análisis nutricionales mediante la determinación de Acido ascórbico (método Citef – Metafosfórico) y Beta Caroteno (extracción por solventes). Mediante estudios microbiológicos realizados en el Laboratorio Regional de Salud Ambiental (Ministerio de Salud de la Provincia de Río Negro), se evaluó la presencia de bacterias del grupo coliformes (*Escherichia Coli*). Para la determinación de coliformes fecales y

*E. coli* se utilizó el método BAM, el recuento se realizó en placa con el siguiente procedimiento:

Se utilizaron 10 g de hojas de hortalizas. Se colocaron en vaso de precipitados estéril. Se agregaron 90 mL de agua peptonada y se homogeneizó en Stomacher a 200-260 rpm durante 2 minutos. Se sembró 1 mL en placa de Petri, luego se incubó en estufa a 37°C durante 48 hs. Se sembraron 3 tubos de caldo lauril sulfato y se incubaron en estufa a 37°C durante 48 hs. Se examinaron las placas con presencia de colonias rojas. Con resultado positivo, indicativo de presencia de coliformes totales, se repicó en caldo verde brillante, incubándose en estufa a 44°C durante 48 hs. La presencia de gas indicó presencia de coliformes fecales, continuándose con la confirmación hasta *E. coli*.

### **Diseño Experimental y análisis estadístico**

Las unidades experimentales fueron distribuidas en un diseño completamente aleatorizado en 5 tratamientos y 3 réplicas por tratamiento (N=15).

Los datos de rendimiento, contenido de nitrato, macro y micronutrientes, ácido ascórbico y beta caroteno se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias se efectuó mediante el test de DMS al 5%.

Al encontrarse interacciones significativas de los tratamientos con el ciclo y con año de cultivo, el análisis se realizó específicamente para cada año y ciclo de cultivo.

Para testear relaciones significativas entre la concentración media de nitrato y variaciones en la radiación y la temperatura ambiental, para cada ciclo, se realizó la prueba de correlación de Pearson. (InfoStat, 2011).

## Resultados y discusión

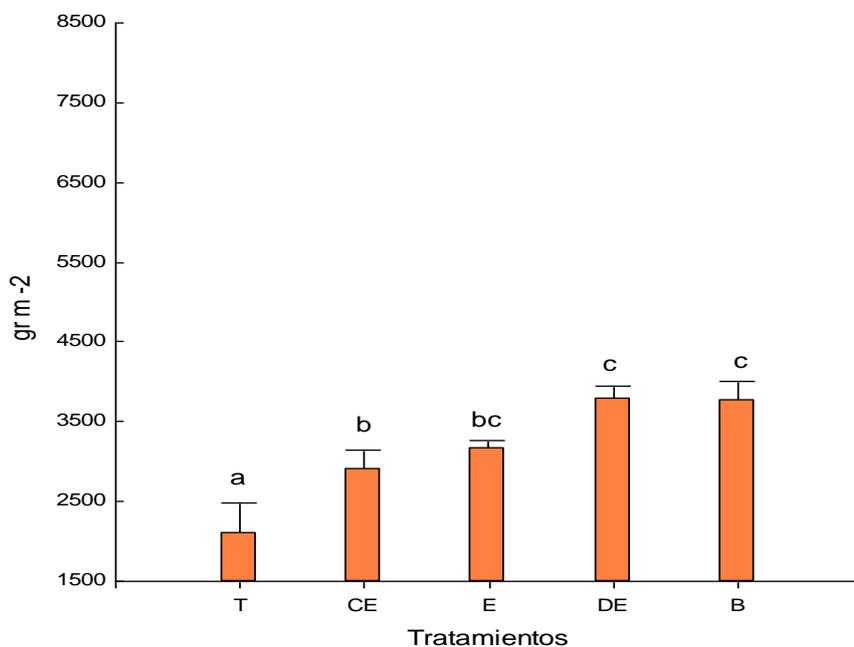
### 1. Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre el rendimiento de la espinaca

#### 1.1. Ciclos otoño invierno

##### 1.1.1. Año 2007

Los rendimientos obtenidos oscilaron entre 2100 y 3780 g m<sup>-2</sup> para T y B respectivamente. Durante este ciclo productivo se registraron dentro del invernadero temperaturas medias de 8,5 °C, con una mínima absoluta de -5,3 °C.

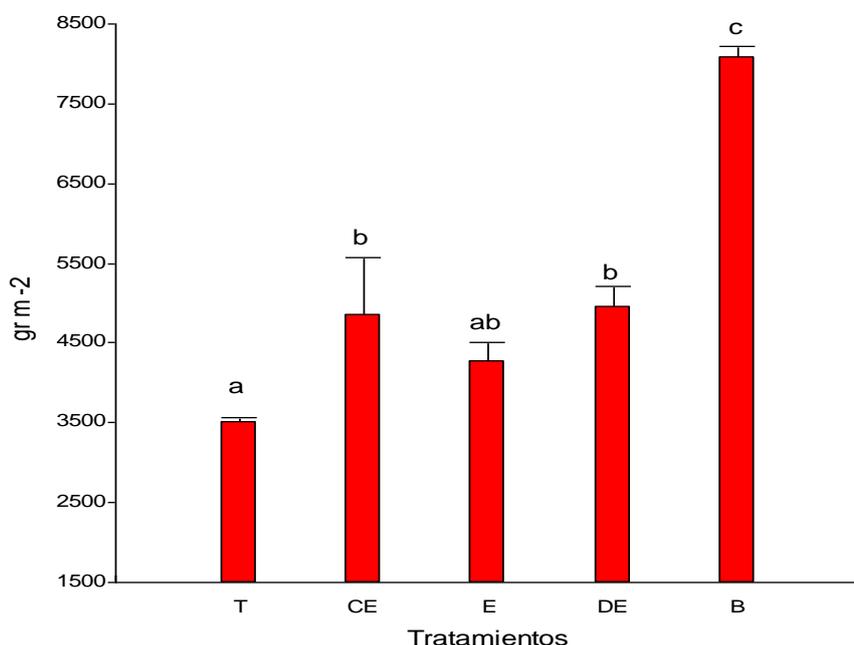
El rendimiento en el ciclo productivo otoño invierno 2007, presentó diferencias significativas entre las enmiendas utilizadas respecto del testigo. Con la aplicación de bioorganutsa y estiércol (simple y doble dosis) se obtuvieron los mayores rendimientos diferenciándose del compost de cebolla-estiércol y T. En la Figura 8 se presentan los rendimientos para los diferentes tratamientos realizados.



**Figura 7.** Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre el rendimiento de espinaca. Ciclo productivo otoño-invierno 2007. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### 1.1.2. Año 2008

Los rendimientos obtenidos para el ciclo productivo otoño - invierno 2008 oscilaron entre 3505 a 8076 g m<sup>-2</sup>. Para este ciclo productivo las temperaturas medias fueron de 10,5 °C. Durante este ciclo se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 9).



**Figura 8.** Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre el rendimiento de espinaca. Ciclo otoño-invierno 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El tratamiento con aplicación de B mostró diferencias significativas respecto al resto, con un rendimiento de 8076 g m<sup>-2</sup>; los tratamientos DE y CE no mostraron diferencias entre ellos, aunque se diferenciaron estadísticamente de T. El tratamiento con estiércol no se diferenció significativamente del T (Figura 9).

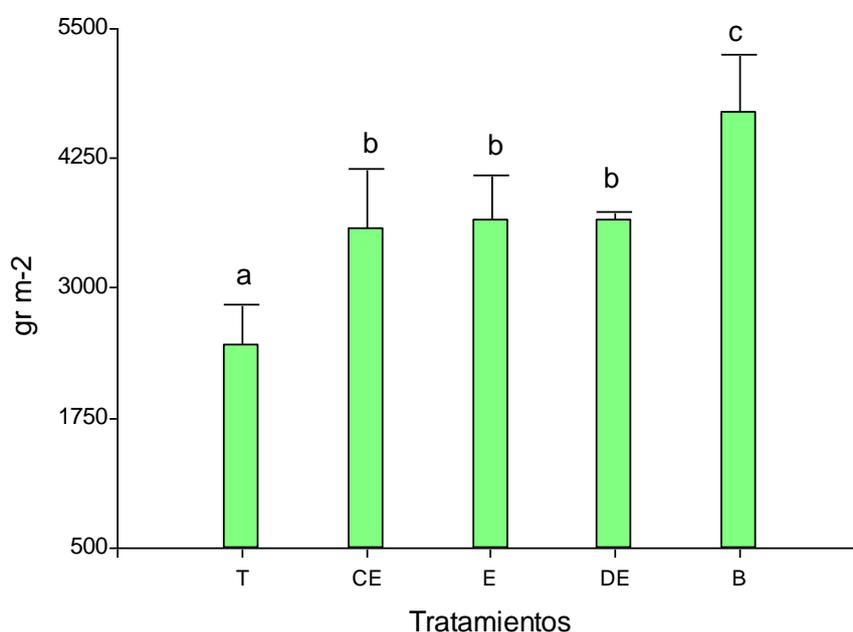
Durante el ciclo productivo 2008, se observaron mayores rendimientos en todos los tratamientos respecto al ciclo otoño invierno 2007; el B fue el que más se diferenció con

4300 g m<sup>-2</sup>; CE con 1900 g m<sup>-2</sup> y el resto de los tratamientos superaron los 1100 g m<sup>-2</sup>, con respecto al año 2007. Las temperaturas medias registradas durante el ciclo 2008 fueron superiores en 2°C.

## 1.2. Ciclos Primaverales

### 1.2.1. Año 2008

Durante el ciclo primaveral 2008 todas las enmiendas aplicadas se diferenciaron significativamente del testigo. B presentó el mayor rendimiento y T el menor. En tanto CE, E y DE no se diferenciaron entre ellos (Figura 10). En este período la cosecha se realizó sobre plantas no “comerciales” en estado fenológico de floración. Las altas temperaturas registradas en este período fueron propicias para la inducción floral del cultivo.

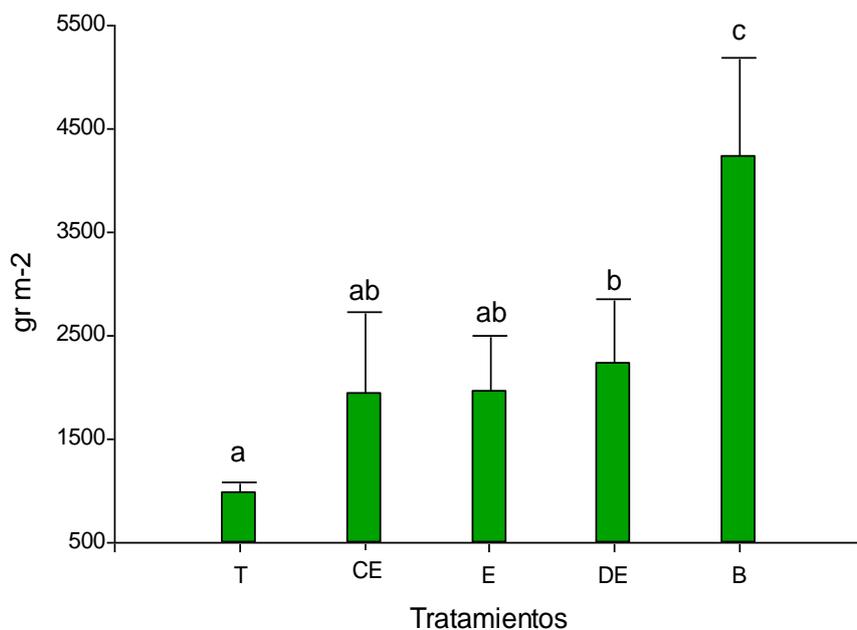


**Figura 9.** Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre el rendimiento de espinaca. Ciclo productivo primavera 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### 1.2.2. Año 2009

Para el ciclo productivo primavera 2009 las enmiendas DE y B se diferenciaron significativamente del testigo y presentaron resultados similares al año 2008, aunque con rendimientos entre un 25 y 50% menores. La cosecha se realizó sobre plantas comerciales.

La aplicación de B mostró diferencias significativas respecto a los demás tratamientos, con un rendimiento de 4222 g m<sup>-2</sup>, DE se diferenció del testigo y en el resto de los tratamientos no mostraron diferencias significativas con respecto al testigo.



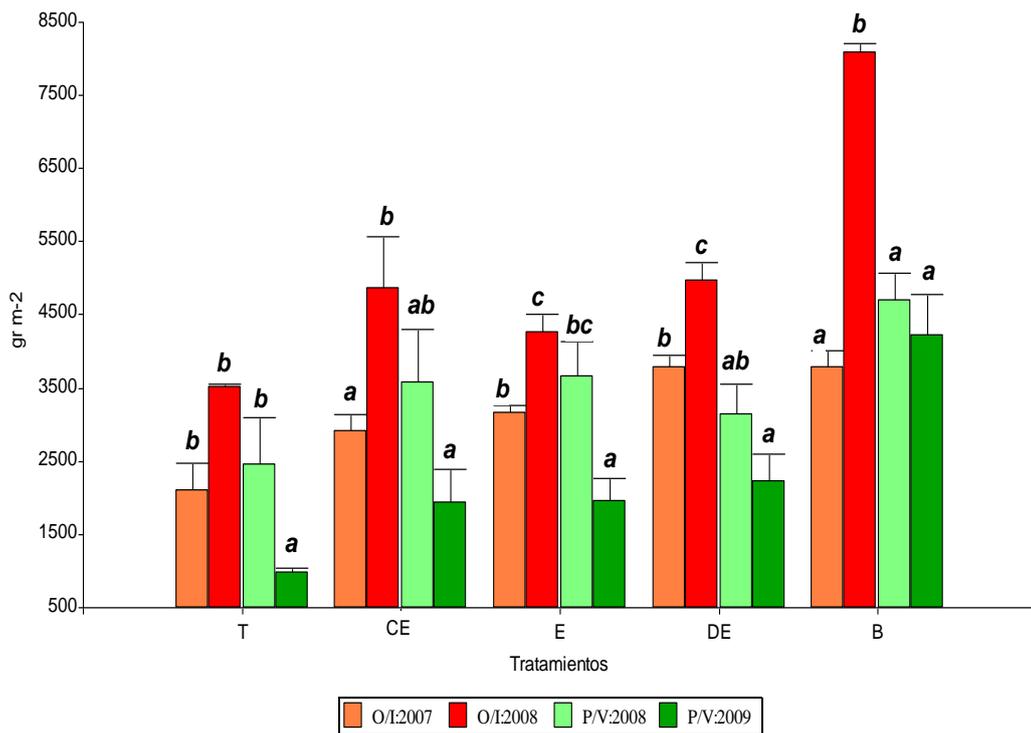
**Figura 10.** Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre el rendimiento de espinaca. Ciclo productivo primavera 2009. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### 1.3. Discusión

Las producciones de cada tratamiento en cada ciclo productivo se muestran en la Figura 12. Los mayores rendimientos se obtuvieron en el ciclo invernal 2008, luego

continúa el ciclo primavera 2008, ciclo invierno 2007 y por último el ciclo primavera 2009. En el caso del tratamiento B los valores fueron superiores a los obtenidos habitualmente por los agricultores del Valle Inferior del Río Negro (hasta  $5000 \text{ g m}^{-2}$ ), como así también a los obtenidos por Rodríguez *et al.* (2007) en la región de Bahía Blanca, con  $5720 \text{ g m}^{-2}$  en otoño invierno. Mezquiriz (2007) en el cinturón hortícola de La Plata mencionó rendimientos de  $2000 \text{ g m}^{-2}$  en los ciclos de verano y  $3000$  a  $3200 \text{ g m}^{-2}$  en ciclos invernales.

En este estudio los tratamientos CE, E y DE produjeron rendimientos que oscilaron entre  $4200$  y  $4950 \text{ g m}^{-2}$ .



**Figura 11.** Efecto del ciclo productivo sobre el rendimiento de espinaca en las distintas enmiendas orgánicas. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en columnas de cada año indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Las temperaturas óptimas de crecimiento para la espinaca se ubican entre  $15$  y  $18$   $^{\circ}\text{C}$ , con un máximo de  $24^{\circ}\text{C}$  y un mínimo de  $5^{\circ}\text{C}$  (Maroto, 1995, Vigliola, 2003). Las

producciones se reducen ampliamente con temperaturas elevadas y fotoperíodos largos, puesto que las plantas permanecen poco tiempo en fase de roseta, y no alcanzan por ello un crecimiento suficiente como hortaliza (Illescas y Vesperinas, 1994).

Los rendimientos obtenidos durante el ciclo primavera 2009 fueron inferiores a los ciclos otoño invernales debido probablemente a que las condiciones de temperatura y fotoperíodo no fueron las óptimas para el desarrollo vegetativo. En el ciclo primaveral 2008 los rendimientos fueron superiores a los del mismo ciclo 2009 esto se podría atribuir a un gran desarrollo del tallo floral e inflorescencia, que produjo mayor peso fresco, inducido por la mayor duración del período iluminado y temperatura. Asimismo, debe aclararse que en éste estadio la espinaca cosechada no se adecuó a los estándares de comercialización, por hallarse completamente florecida.

La formación del tallo y el desarrollo de la inflorescencia son procesos de día largo, de los cuales el primero es más fácil de modificar que el segundo; al incrementar la formación de hojas en días cortos, produce una baja tasa de floración (Chun *et al.*, 2000).

Varios autores mencionaron que la floración de la espinaca es foto y termodependiente; requiere días en alargamiento (entre 12 y 14 horas de luz) y temperaturas mayores a 15 – 18°C (Illescas y Vesperinas, 1994; Flórez Serrano, 2009 Vigliola, 2003).

En este estudio durante los ciclos de primavera la longitud de los días fue para el mes de noviembre de 14,6 horas en ambos ciclos y con temperaturas medias de 21,5° y 20,6°C durante los ciclos 2008 y 2009 respectivamente.

La espinaca puede cultivarse en gran variedad de suelos, y es una de las especies más resistentes a la salinidad. En cuanto a las aplicaciones de estiércol, no se deberían efectuar inmediatamente antes de la siembra, sino previamente al cultivo precedente, ya

que la rapidez de su ciclo de cultivo, no permite aprovechar los beneficios de tal práctica. Además, las raíces delicadas de la espinaca se distribuyen superficialmente en el suelo, con un volumen de exploración relativamente pequeño (Vigliola, 2003).

Ullé (1998), mencionó que la incorporación de enmiendas orgánicas, por cortos períodos de tiempo no es suficiente para observar respuestas en los rendimientos de cultivos.

Este cultivo responde al agregado de fertilizantes químicos, principalmente nitrógeno, en particular los cultivos de ciclo otoño- invierno, cuando requiere dosis elevadas, ya que en la estación fría el proceso de nitrificación en el suelo es mínimo (Giacconi y Escaff, 1995).

En este estudio y para todos los ciclos evaluados, el tratamiento B fue el que produjo mayor rendimiento; esto puede atribuirse a los aportes de nitrógeno, fósforo y microelementos, rápidamente disponibles que posee la enmienda (Relación C/N: 3). El bajo porcentaje de disponibilidad del nitrógeno en los compost, así como la resistencia a la mineralización, suele ser referenciado a la inmovilización del nitrógeno, especialmente en los primeros tiempos. Los compost son considerados fertilizantes nitrogenados muy diluidos, ya que su contenido de nitrógeno ronda en el 1% (Moral Herrero, 2007). La tasa de mineralización para el compost es inferior al 15% (entre 5 y 15%) en el primer año de aplicación, continuando con una tasa de 2 a 8 % por año (Amlinger, *et al.* 2003). En estudios realizados en compost de cebolla estiércol se obtuvo una tasa de mineralización del 9 % (Cardoso *et al.* 2012); Eghball (2000) mencionó una tasa del 11% para un compost de estiércol y de 21% para el estiércol no compostado. De acuerdo a lo mencionado anteriormente, habría mayor disponibilidad de nitrógeno en el segundo año, aumentando así los rendimientos en el ciclo otoño invierno 2008. En las Tablas 15 y 16 se exponen los resultados de los análisis del suelo

del invernadero antes de cada ciclo de cultivo de otoño invierno. En las mismas no se observaron diferencias significativas en los contenidos de N total, K, P siendo suficientes para la espinaca.

En todos los tratamientos se detectaron pH alcalinos, sin diferencias significativas entre ellos. La conductividad eléctrica de los suelos mostró valores normales para el cultivo, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

**Tabla 15.** Análisis de suelo antes de los trasplantes del ciclo productivo 2007

Tratamiento	Nt (%)	pH	Kdisp (ppm)	Pe (ppm)	CE (dS/m)	RAS
T	0,15 a	8,0 a	446,1 a	29,0 a	1,1 a	2,5 a
CE	0,18 a	8,1 a	582,4 a	30,1 a	1,1 a	2,5 a
E	0,19 a	8,1 a	529,7 a	31,6 a	1,2 a	3,1 a
DE	0,19 a	8,2 a	658,5 a	33,4 a	1,3 a	3,3 a
B	0,19 a	8,1 a	622,5 a	32,5 a	1,3 a	2,8 a

T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en columnas de cada año indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamiento

**Tabla 16.** Análisis de suelo antes de los trasplantes del ciclo invernal 2008

Tratamiento	Nt (%)	pH	Kdisp (ppm)	Pe (ppm)	CE (dS/m)	RAS
T	0,15 a	8,2 a	546,1 a	30,0 a	1,6 a	3,7 a
CE	0,18 a	8,3 a	582,4 a	31,1 a	1,3 a	2,7 a
E	0,19 a	8,3 a	529,7 a	33,6 a	1,3 a	3,1 a
DE	0,21 a	8,2 a	758,5 a	39,4 a	1,5 a	3,7 a
B	0,20 a	8,3 a	622,5 a	32,5 a	1,1 a	2,9 a

T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en columnas de cada año indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamiento.

En las Tabla 17 y 18 se presentan los resultados de los análisis del ciclo de primavera 2008 y 2009. Se puede observar que existen diferencias significativas en el contenido de N total, K disponible y P extractable, con los valores mayores para los suelos de los tratamientos CE, E, DE y B con diferencias significativas respecto a T. En todos los casos los valores de Nt, K y P resultan suficientes para la espinaca. En tanto, no se encontraron diferencias entre tratamientos para el pH, CE y RAS, siendo valores normales para el cultivo.

**Tabla 17.** Análisis de suelo antes de los trasplantes del ciclo primavera 2008.

Tratamiento	Nt (%)	PH	Kdisp (ppm)	Pe (ppm)	CE (dS/m)	RAS
T	0,15 a	8,0 a	312,6 a	33,5 a	3,4 a	4,9 a
CE	0,21 b	7,9 a	576,4 b	40,7 b	3,3 a	5,0 a
E	0,21 b	8,0 a	758,3 b	57,3 b	3,6 a	6,6 a
DE	0,24 b	7,9 a	721,4 b	73,8 b	4,0 a	6,0 a
B	0,22 b	7,9 a	640,5 b	42,2 b	3,6 a	3,3 a

T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en columnas de cada año indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamiento.

**Tabla 18.** Análisis de suelo antes de los trasplantes del ciclo primavera 2009

Tratamiento	Nt (%)	PH	Kdisp (ppm)	Pe (ppm)	CE (dS/m)	RAS
T	0,15 a	8,2 a	372,1 a	28,2 a	3,1 a	4,9 a
CE	0,30 b	8,2 a	815,2 b	74,9 b	5,0 a	6,3 a
E	0,28 b	8,2 a	735,0 b	74,0 b	4,7 a	6,0 a
DE	0,31 b	8,0 a	804,4 b	88,5 b	5,5 a	5,4 a
B	0,25 b	8,1 a	699,0 b	72,6 b	4,5 a	4,7 a

T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

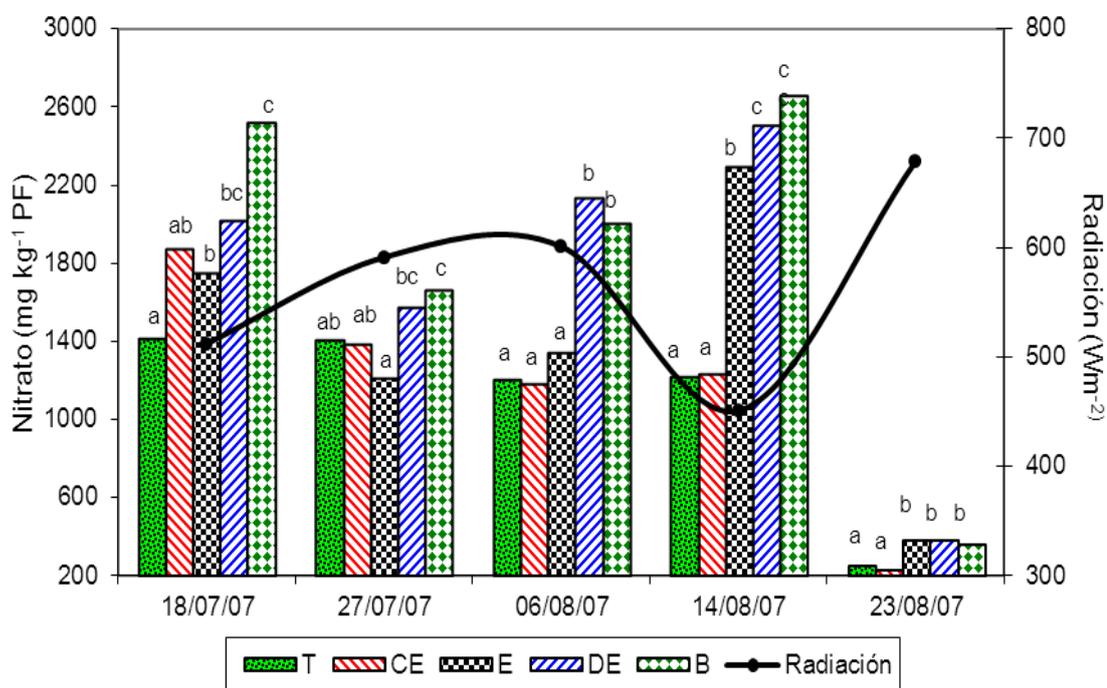
Letras diferentes en columnas de cada año indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamiento.

## 2. Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre la concentración de nitrato en función de la radiación incidente para Ciclo Otoño-invierno

### 2.1. Concentración de nitrato en pecíolo

#### 2.1.1. Año 2007

La concentración de nitrato disminuyó a medida que la radiación incidente aumentó (Figura 13). Cuando la radiación registrada fue mínima ( $450 \text{ W m}^{-2}$ ) se produjeron las máximas concentraciones de nitrato en pecíolo. A partir de mediados de invierno, cuando la radiación aumentó alcanzando valores de  $700 \text{ Wm}^{-2}$ , la concentración de nitrato disminuyó, con valores menores de  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  en base al peso fresco para el momento de cosecha.



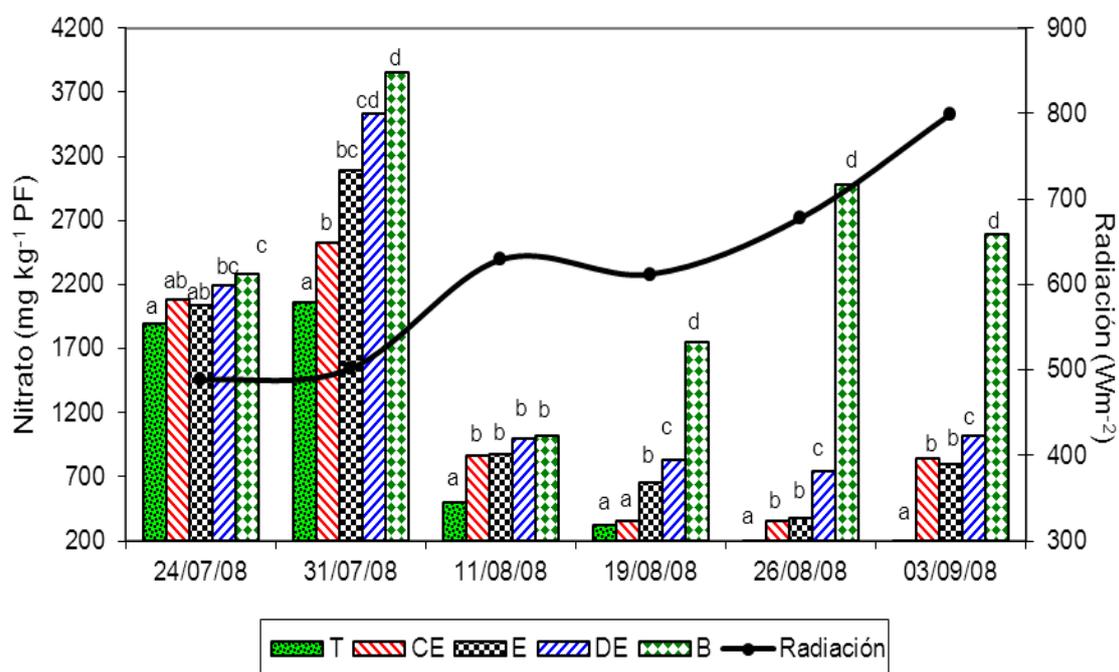
**Figura 12.** Variación de la concentración media de nitrato en pecíolo en relación a la radiación incidente para el ciclo otoño-invierno 2007. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos para cada fecha de muestreo. Bioorganutsa y Doble Estiércol presentaron los mayores valores en la mayoría de las fechas, sin diferencias significativas entre ambos. CE y T no se diferenciaron estadísticamente durante todo el ciclo productivo.

### 2.1.2. Año 2008

Todos los tratamientos a excepción del B mostraron el mismo comportamiento a lo largo del ciclo productivo, llegando a momento de cosecha con una concentración de nitrato inferior a  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  (Figura 14).



**Figura 13.** Variación de la concentración media de nitrato en pecíolo en relación a la radiación incidente para el ciclo otoño-invierno 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

Para el muestreo correspondiente al 31 de julio de 2008 se observaron las mayores concentraciones de nitrato coincidentes con la menor radiación ( $500 \text{ Wm}^{-2}$ ); los

tratamientos E, DE y B presentaron valores mayores a  $3000 \text{ mg kg}^{-1}$ , límite máximo admisible fijado por la Unión Europea. A partir de ese momento, aumentó la radiación incidente, mientras que los nitratos disminuyeron. El tratamiento con Bioorganutsa registró un aumento considerable próximo a la cosecha ( $2591 \text{ mg kg}^{-1}$ ), sin superar el límite máximo establecido por la UE. En cada fecha se detectaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos. Los valores más altos se observaron con la aplicación de Bioorganutsa diferenciándose de los tratamientos T en todos los muestreos.

El tratamiento T tuvo las menores concentraciones durante todos los muestreos. B y DE no se diferenciaron significativamente en los tres primeros muestreos, aunque al final del ciclo y cosecha, B presentó las concentraciones mayores.

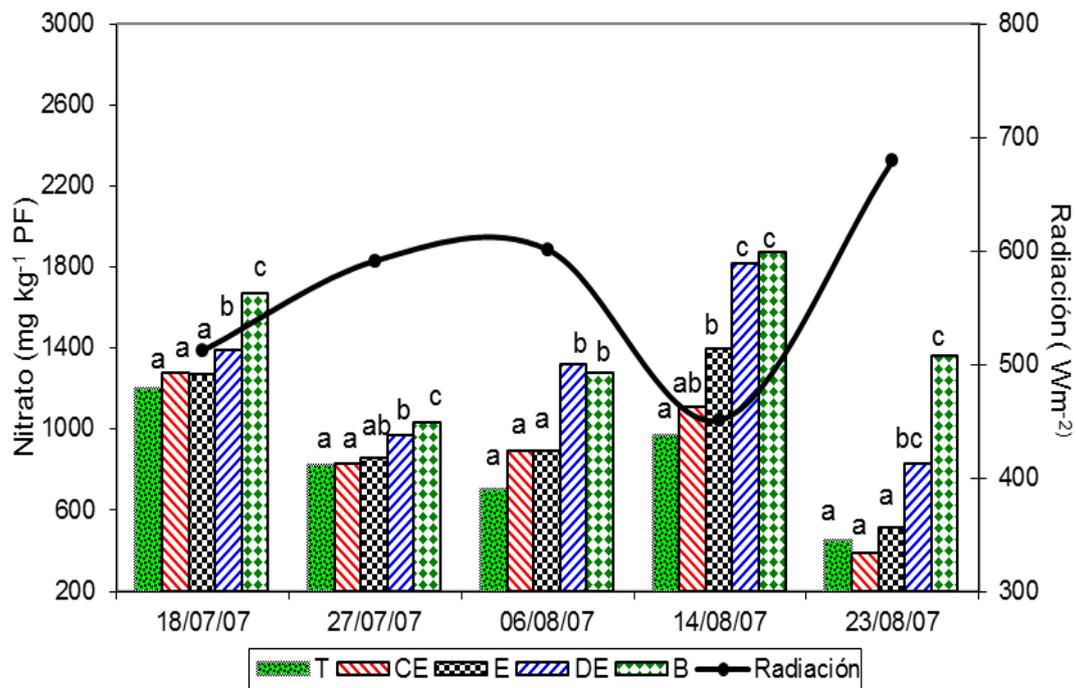
Como puede observarse en los dos ciclos productivos (Figura 13 y 14), la concentración de nitrato en pecíolo responde a la radiación incidente en todos los tratamientos a lo largo del período de evaluación. A medida que aumenta la radiación incidente disminuye la concentración de nitrato y viceversa, a excepción del tratamiento B para el ciclo 2008 que mostró un comportamiento diferente.

En ambos ciclos los menores valores se detectaron en el testigo, mientras que la aplicación de doble estiércol y Bioorganutsa mostraron las mayores concentraciones. Se observó una disminución hacia el final del ciclo productivo; en el ciclo 2007 se registraron las menores concentraciones en el momento de cosecha, mientras que en 2008 esto ocurrió una semana antes de la cosecha. Sólo se detectaron valores superiores al máximo admisible en los tratamientos E, DE y B en el muestreo del 31/07/08.

## 2.2. Concentración de nitrato en lámina

### 2.2.1. Año 2007

a concentración de nitrato en lámina respondió en forma inversamente proporcional a la radiación incidente (Figura 15), llegando a los máximos valores cuando la radiación fue mínima ( $500 \text{ Wm}^{-2}$ ), descendiendo nuevamente hasta el momento de cosecha.



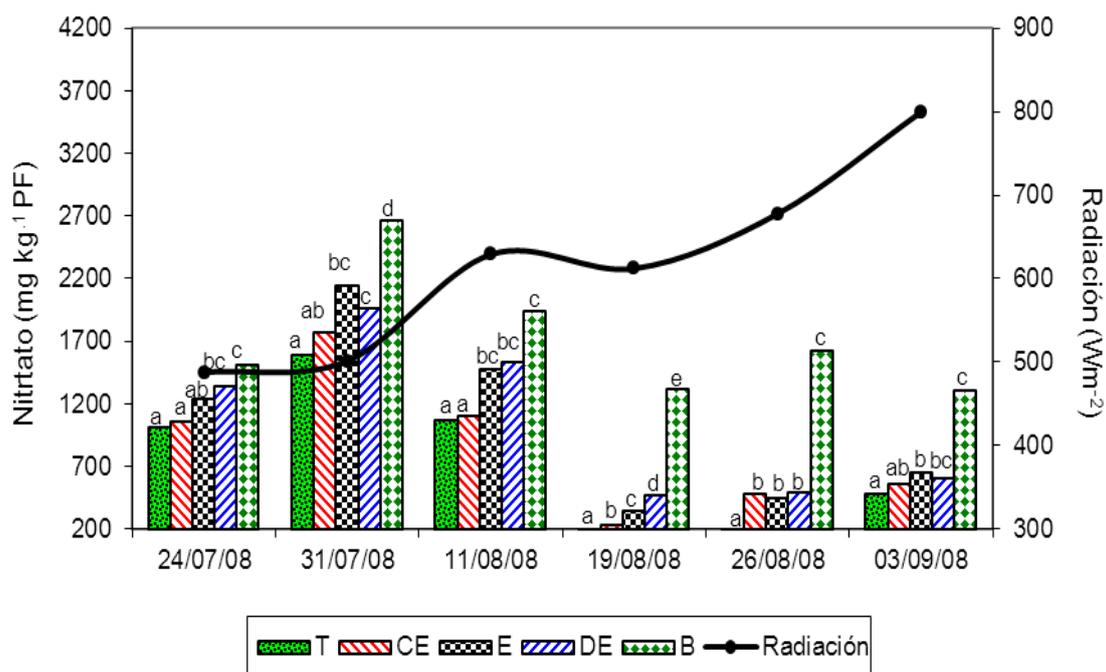
**Figura 14.** Variación de la concentración de nitrato en lámina en relación a la radiación incidente para el ciclo otoño-invierno 2007. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

La concentración media de  $\text{NO}_3^-$  en lámina mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos para cada fecha. Las mayores concentraciones de nitrato se observaron en el tratamiento B, sin diferenciarse estadísticamente del DE en la mayoría

de los muestreos. Los tratamientos T y CE presentaron los niveles más bajos sin encontrar diferencias estadísticas entre ellos.

### 2.2.2. Año 2008

La concentración de nitrato en lámina respondió en forma inversa a la radiación incidente (Figura 16). Las concentraciones mayores se observaron a menor radiación, llegando a cosecha con valores inferiores a  $1500 \text{ mg kg}^{-1}$ . Todos los tratamientos tuvieron el mismo comportamiento a lo largo del ciclo productivo.



**Figura 15.** Variación de la concentración de nitrato en lámina en relación a la radiación incidente para el ciclo otoño-invierno 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

La concentración media de  $\text{NO}_3^-$  en lámina mostró diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos para cada fecha. El tratamiento T presentó los menores valores y el B los mayores, aunque en ningún caso se superaron los límites establecidos por la UE.

Se observó que en los dos ciclos productivos la concentración de nitrato en lámina respondió en forma inversa a la radiación incidente.

En ambos ciclos se encontraron diferencias significativas entre tratamientos y en todas las fechas de muestro, observándose que el tratamiento testigo registró las menores concentraciones de nitrato. En tanto, los tratamientos DE y B presentaron los mayores valores, con diferencias significativas sólo en año 2008 para el B.

La concentración de nitrato disminuye hacia el final del ciclo productivo, sin superar el límite máximo admisible de la Unión Europea.

### **2.3. Discusión**

El factor ambiental que mayor influencia ejerce en la concentración de nitrato en planta es la radiación, ya que afecta varios procesos relacionados con la absorción y asimilación de nitrato. Al disminuir la intensidad lumínica, se reduce la actividad de la enzima “nitrato reductasa” elevando las concentraciones de nitrato en planta e incrementando la concentración de ácidos orgánicos (Blom- Zandstra y Lampe, 1983, 1985).

En este estudio los resultados obtenidos, durante los dos ciclos productivos de otoño invierno (8 de junio al 23 de agosto), se observó que la concentración de nitrato en espinaca respondió en forma inversa a la intensidad de la radiación incidente, tanto en pecíolo como en lámina, que se confirmó con el análisis de correlación realizado, donde

se observó una correlación negativa (-0.58) altamente significativa ( $p \ll 0.01$ ) para el ciclo otoño invierno.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores sobre cultivos convencionales como espinaca, lechuga, acelga y achicoria, (Cantliffe, 1972 a,b,c; Maynard *et al.*, 1976; Roorda van Eysinga, 1984; Cabado, *et al.* 1987; Carrasco *et al.* 1994; Marschner, 1995; Gregoire *et al.*, 2001; Guadagnin *et al.*, 2005; Rincón Sánchez, 2005; Villalba, 2006; Mozzicafreddo, 2006; Cutini, 2008; Crescenzi, 2008; Apcrián, 2008; Citak y Sonmez, 2010; Tamme, *et al.*, 2010).

La fertilización nitrogenada es otro factor relevante en la acumulación de nitrato en hortalizas de hoja. La cantidad y fuente, o especie química, en que el nitrógeno está disponible para la planta afecta la concentración de nitrato que se acumula tanto en espinaca como en otras hortalizas de hojas, en zanahoria y remolacha (Cantliffe, 1973; Briemer, 1982; Dapigny, *et al.*, 2000; Gülser, 2005; Ahmadil, *et al.*, 2010; Mubashir, 2010; Gairola *et al.*, 2009).

Dadas las variaciones en las concentraciones medias de nitrato para cada tratamiento, tanto en pecíolo como lámina, se puede decir que los tratamientos T y CE fueron los que menos acumularon nitrato y DE y B los que presentaron mayor concentración. Estos resultados concuerdan con Anjana *et al.* (2006), quienes indicaron que la acumulación de nitrato en los vegetales es diferencial según los distintos tipos de enmiendas utilizadas.

Por su parte Zhou *et al.* (2002) mencionó que la correcta aplicación de fertilizantes a base de nitrógeno, fósforo y potasio, así como de abonos verdes y estiércoles, podría reducir la acumulación de nitratos en vegetales. Otros autores afirmaron que los

vegetales tratados con enmiendas orgánicas tienen menor contenido de nitrato que aquellos que recibieron tratamientos convencionales (Raupp, 1996; Muramoto, 1999; Citak y Sonmez, 2010).

La menor concentración de nitrato observada hacia el final del ciclo productivo, coincide con los resultados obtenidos por Mozzicafreddo (2006), Villalba (2006), Apcrián (2008) y Crescenzi (2008), quienes utilizaron espinaca, lechuga y acelga como cultivos indicadores, aunque en producción convencional.

La acumulación de nitrato depende de la edad fisiológica de la planta (Santamaría *et al.* 1999, 2006; Anjana *et al.*, 2007). Otros autores sostienen que el contenido de nitrato disminuye con la edad de la planta debido a que ésta, a medida que va envejeciendo, pierde su capacidad de asimilar nitratos debido a una reducción en la síntesis de proteínas, aumentando así la concentración de nitritos. Esta disminución no es independiente de los factores ambientales y nutricionales (Cabado *et al.*, 1987; Irigoyen Iriarte, 2001). A su vez es importante considerar que la utilización de fertilizantes o abonos de liberación lenta disminuye el contenido de nitrato en planta (Belligno *et al.*, 1996).

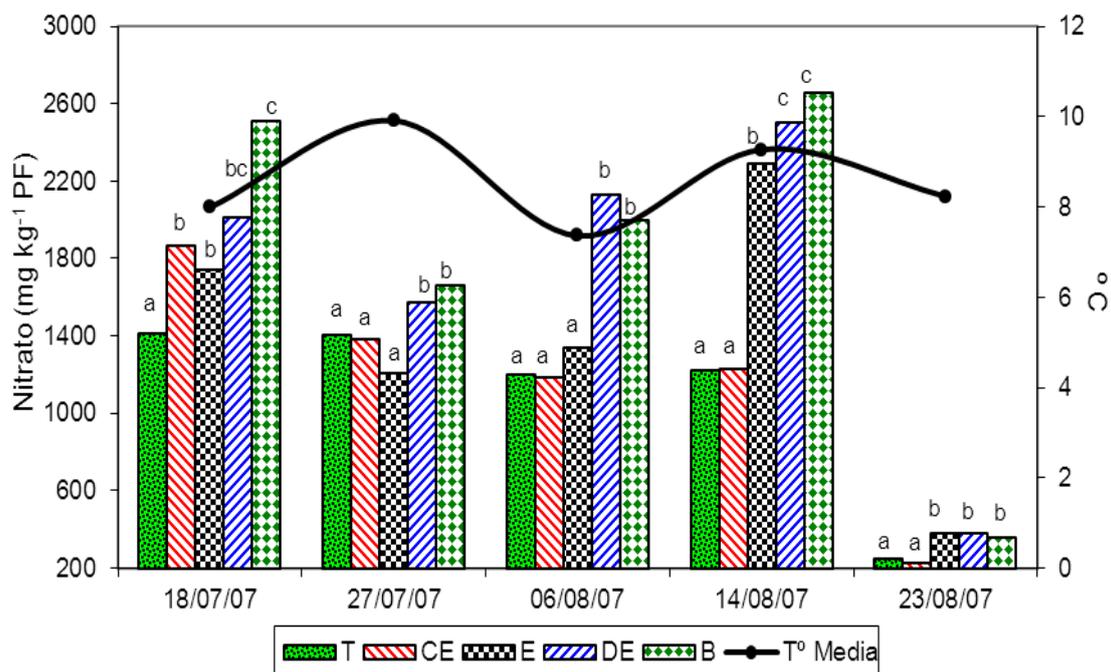
Para los dos ciclos estudiados se encontraron mayores concentraciones en pecíolo que en lámina, a excepción del momento de cosecha para 2007. Esto concuerda con Irigoyen Iriarte (2001) y Anjana e Iqbal (2006), quienes mencionaron que la espinaca concentra mayor cantidad de nitrato en raíz y, dentro de la parte aérea, la concentración en pecíolo es mayor que en lámina.

### 3. Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre la concentración de nitrato en función de la temperatura para Ciclo Otoño-invierno

#### .1. Contenido de nitrato en pecíolo

##### 3.1.1. Año 2007

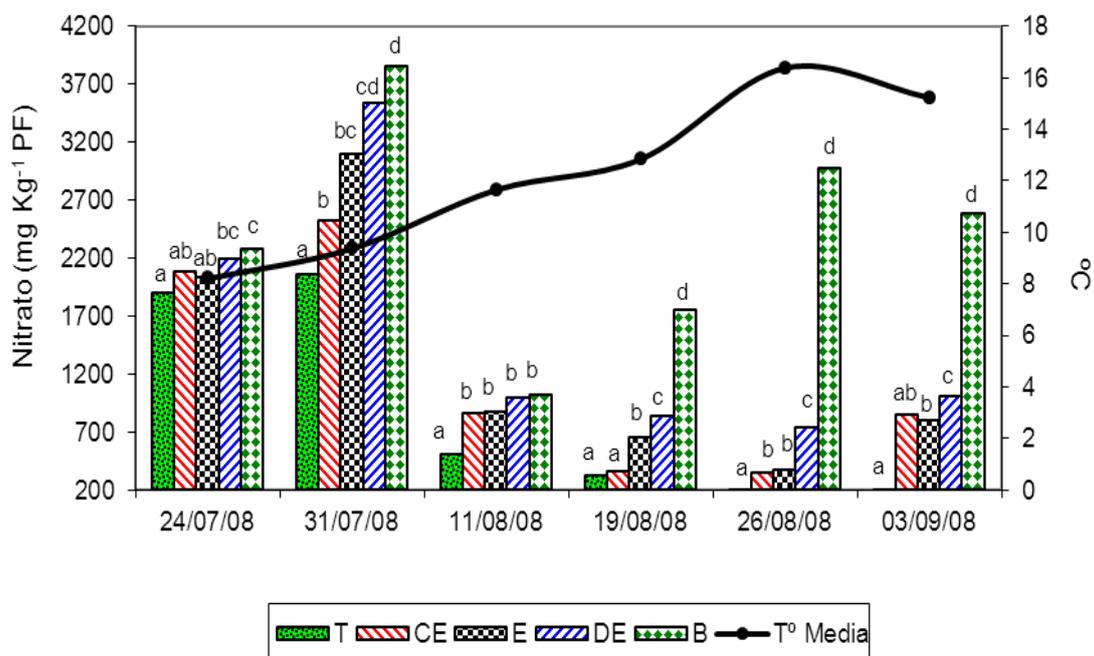
La temperatura media osciló entre 0 y 8,5 °C durante el período evaluado. Se observó que el comportamiento de la concentración de nitrato en pecíolo, mantuvo una tendencia inversa en relación a la temperatura media, en una primera etapa. Al final del ciclo de cultivo, los contenidos, disminuyeron y la temperatura se mantuvo levemente decreciente.



**Figura 16.** Variación de la concentración media de nitrato en pecíolo en relación a la temperatura media para el ciclo otoño-invierno 2007. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 3.1.2. Año 2008

Para este ciclo productivo las temperaturas medias variaron entre 8 y 16,5 °C. En todos los tratamientos con excepción del B al final del ciclo, el contenido de nitrato mostró una tendencia decreciente, mientras que la temperatura fue ascendiendo (Figura 18).



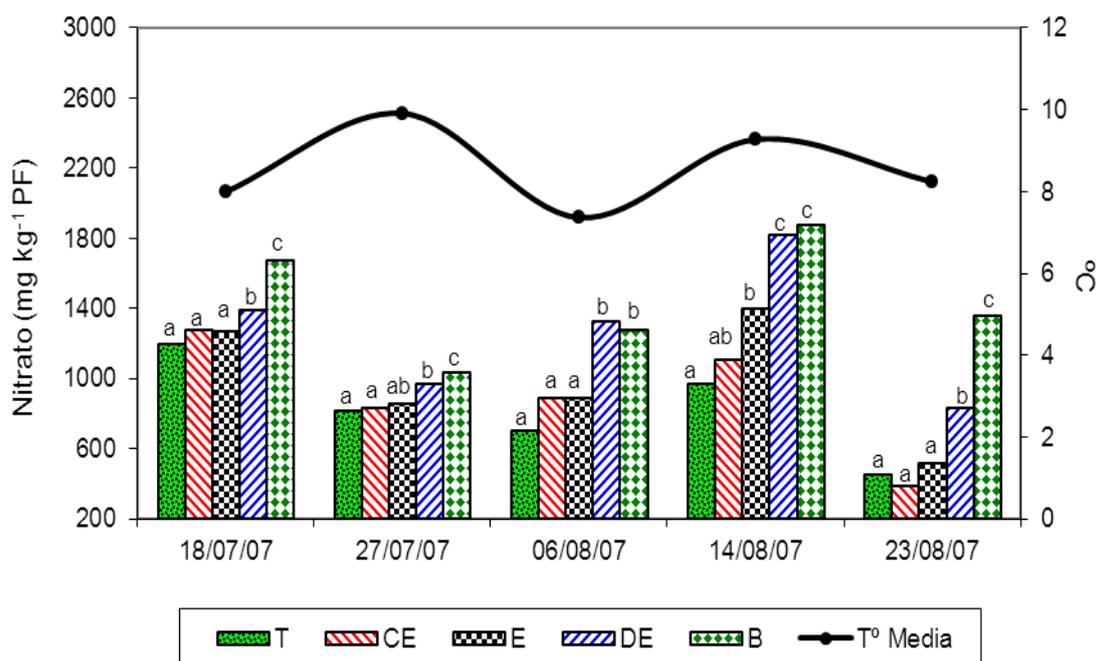
**Figura 17.** Variación de la concentración media de nitrato en pecíolo en relación a la temperatura media para el ciclo otoño-invierno 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 3.2. Contenido de nitrato en lámina

#### 3.2.1. Año 2007

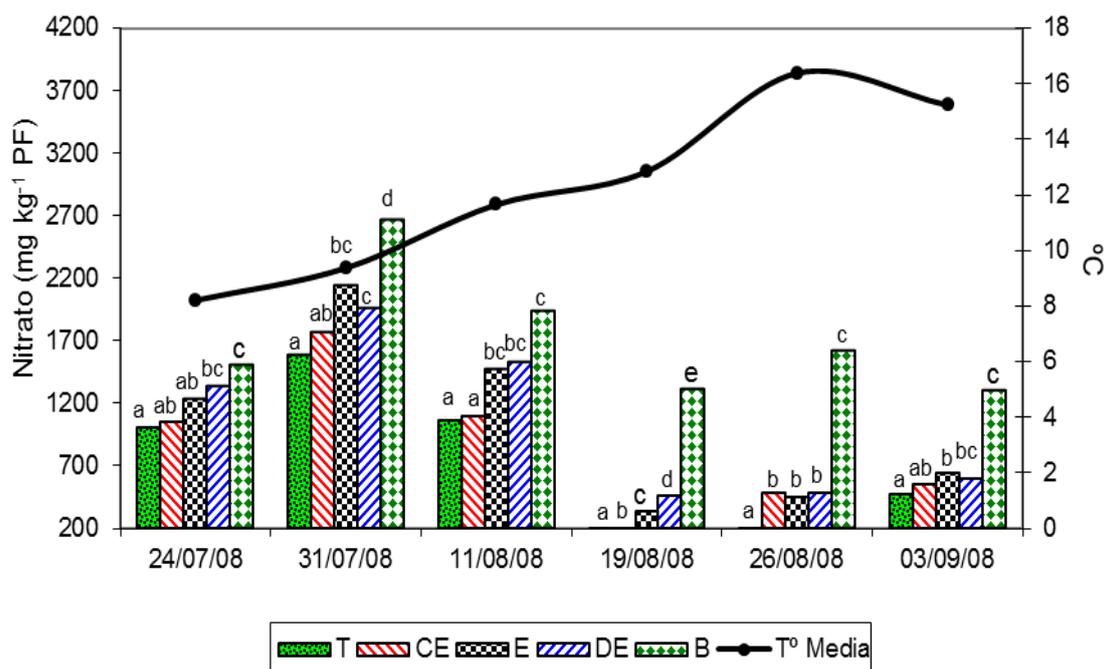
La concentración de nitrato en lámina presentó un comportamiento similar a lo indicado en el pecíolo (Figura 19), aunque con valores menores. En el momento de la cosecha se verificaron los contenidos menores, salvo en el tratamiento B (Figura 19).



**Figura 18.** Variación de la concentración de nitrato en lámina en relación a la temperatura media para el ciclo otoño-invierno 2007. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

#### 3.2.2. Año 2008

La concentración de nitrato en lámina mostró una tendencia similar a la observada en pecíolo, aunque con valores inferiores (Figura 20).



**Figura 19.** Variación de la concentración de nitrato en lámina en relación a la temperatura media para el ciclo otoño-invierno 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganuista. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 3.3. Discusión

El incremento de la temperatura, según la investigación realizada por Cantliffe, (1972c), provoca mayor concentración en nitrato en espinaca.

La temperatura aumenta la transpiración, lo que provoca un flujo ascendente de nitratos desde la raíz, donde son más abundantes, hacia la parte aérea. A su vez, al aumentar la demanda de azúcares con fines respiratorios y para síntesis de moléculas estructurales, se limita su disponibilidad para fines osmóticos, por lo cual son reemplazados por aniones como nitrato (Seginer *et al.* 1998). Del mismo modo, el aumento de la temperatura disminuye la tasa de síntesis de proteína aumentando la disponibilidad de nitrato susceptible de ser acumulado en las vacuolas (Irigoyen Iriarte 2001). Por otra parte, el incremento de la temperatura edáfica aumenta la disponibilidad

de nitrato para la planta, debido a un incremento en la amonificación y nitrificación del nitrógeno orgánico del suelo (Irigoyen Iriarte 2001).

Sin embargo, los resultados obtenidos en los ensayos durante los dos ciclos productivos, indican que la concentración de nitrato tanto en pecíolo como en lámina respondió a la temperatura media de forma inversa, en contraposición a los resultados obtenidos por Cantliffe, (1972 c). Estos resultados fueron confirmados a través del análisis de correlación, entre la concentración de nitrato y la temperatura, siendo altamente significativo ( $p < 0,01$ ), con un coeficiente de -0,38.

Similares resultados obtuvo Villalba (2006), quien realizó estudios sobre la concentración de nitrato en lechuga durante el ciclo invierno primaveral con diferentes fertilizantes.

Si se observa el comportamiento de la temperatura y la radiación a lo largo del período analizado, se podría afirmar que el efecto de la temperatura sobre la acumulación de nitrato estaría encubierto por la radiación, puesto que el aumento de la radiación incidente sobre el cultivo suele conllevar un incremento de la temperatura (Irigoyen Iriarte, 2001). Por ello, para estudiar su efecto, es recomendable desarrollar ensayos en condiciones estrictamente controladas.

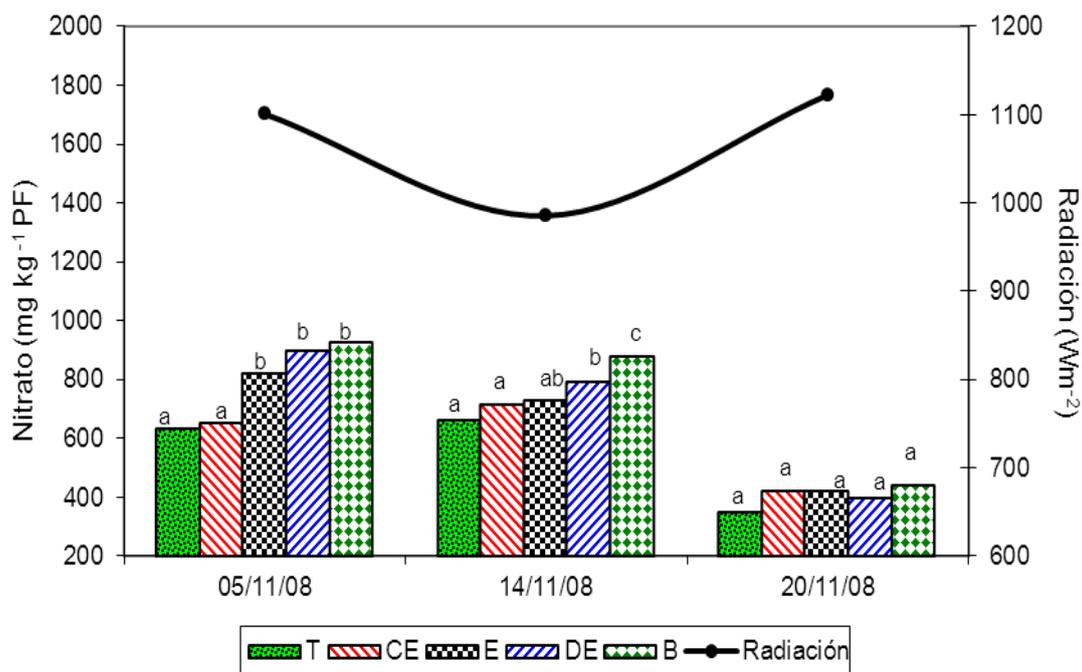
#### **4. Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre la concentración de nitrato en función de la radiación incidente para ciclo de primavera**

##### **4.1. Concentración de nitrato en pecíolo**

###### **4.1.1. Año 2008**

En la Figura 21 se observa que todos los tratamientos tuvieron similar comportamiento en la respuesta a la radiación incidente sobre el contenido de nitrato en

pecíolo para el ciclo de primavera 2008. El mismo descendió a medida que aumentó la radiación incidente, llegando, a valores mínimos en el momento de la cosecha. Resulta importante destacar que el cultivo se cosechó en estado de floración.



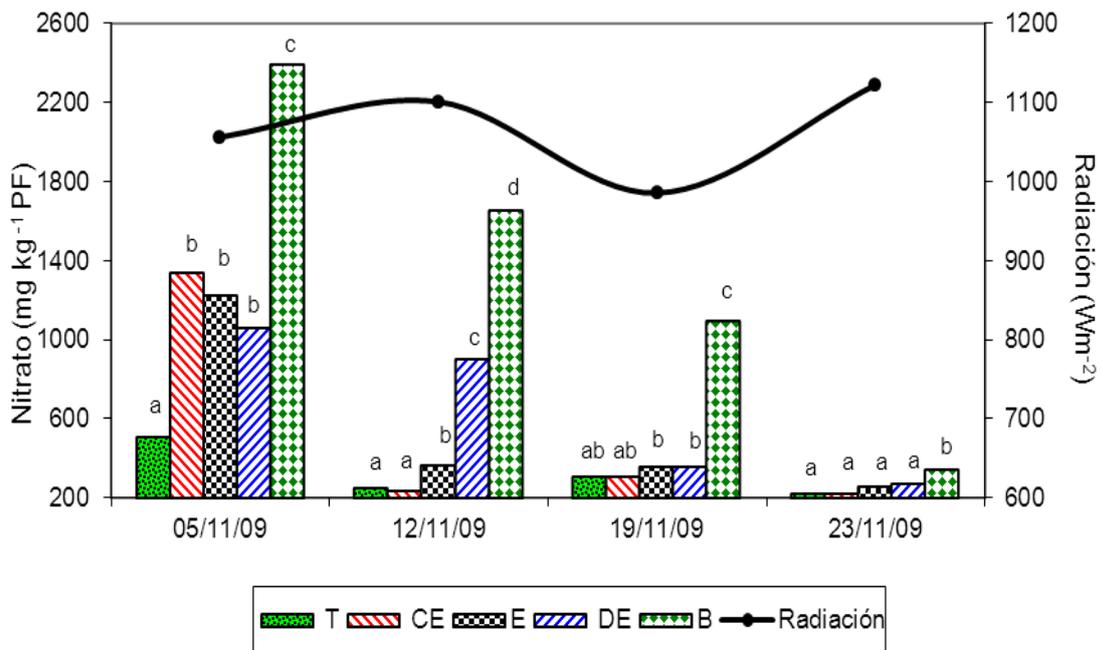
**Figura 20.** Variación de la concentración media de nitrato en pecíolo en relación de la radiación incidente para el ciclo primavera 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

La concentración de nitrato en pecíolo varió entre 350 a 900 mg kg<sup>-1</sup> y la radiación incidente se ubicó entre 900 a 1100 Wm<sup>-2</sup>. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para las dos primeras fechas de muestreo, no así para el momento de cosecha. En los tratamientos E, DE y B, las mayores concentraciones se verificaron en el primer muestreo, disminuyendo hasta momento de cosecha, mientras que en T y CE, los valores máximos fueron en la segunda fecha, llegando a cosecha con valores similares a los tratamientos anteriores. Los valores máximos no superaron las 950 mg

$\text{kg}^{-1}$ , llegando a su cosecha por floración, etapa fenológica no es apta para su comercialización, con valores entre 350 y 500  $\text{mg kg}^{-1}$ .

#### 4.1.2. Año 2009

Se pudo observar que la concentración de nitrato en pecíolo fue mínima cuando la radiación se encontraba en su máximo valor, comportándose de manera similar al ciclo primaveral 2008. Las mayores concentraciones se registraron al inicio del muestreo y al momento de cosecha las mínimas (Figura 22).



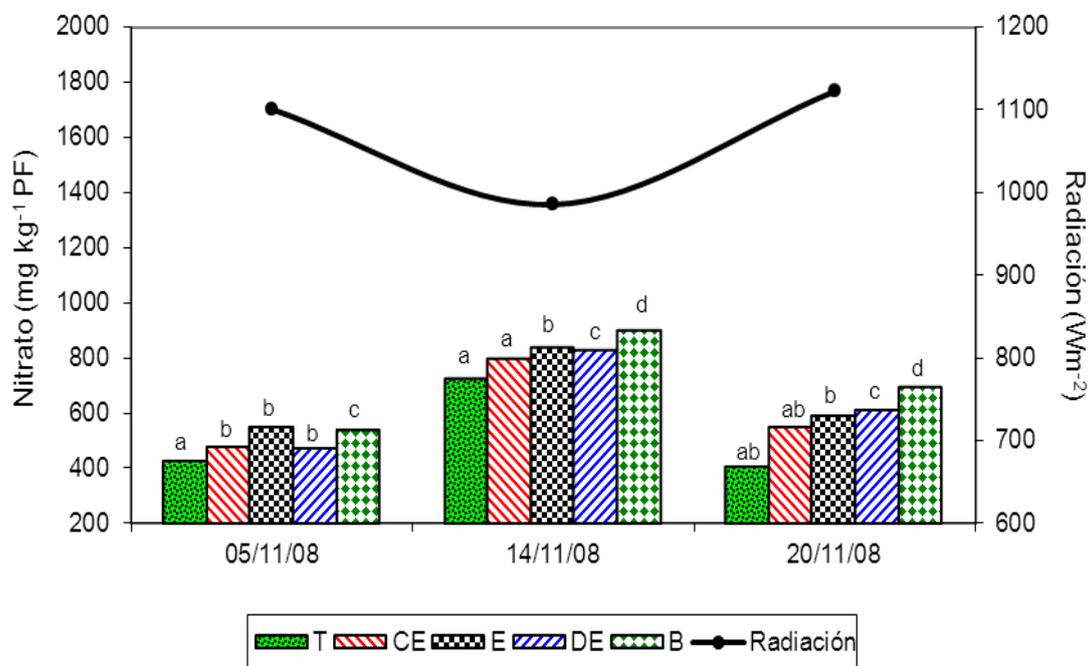
**Figura 21.** Variación de la concentración media de nitrato en pecíolo en relación a la radiación incidente para el ciclo primavera 2009. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

Se encontraron diferencias significativas en todos los tratamientos y fechas de muestreo, registrándose los valores más altos en el B, que se diferenció estadísticamente de los demás. El T presentó las concentraciones más bajas junto a CE.

## 4.2. Concentración de nitrato en lámina

### 4.2.1. Año 2008

Durante el ciclo productivo primavera 2008 la concentración de nitrato en lámina respondió inversamente a la radiación incidente, las mayores concentraciones se observaron cuando la radiación disminuyó (segunda fecha) llegando a valores máximos de  $900 \text{ mg kg}^{-1}$  (Figura 23).



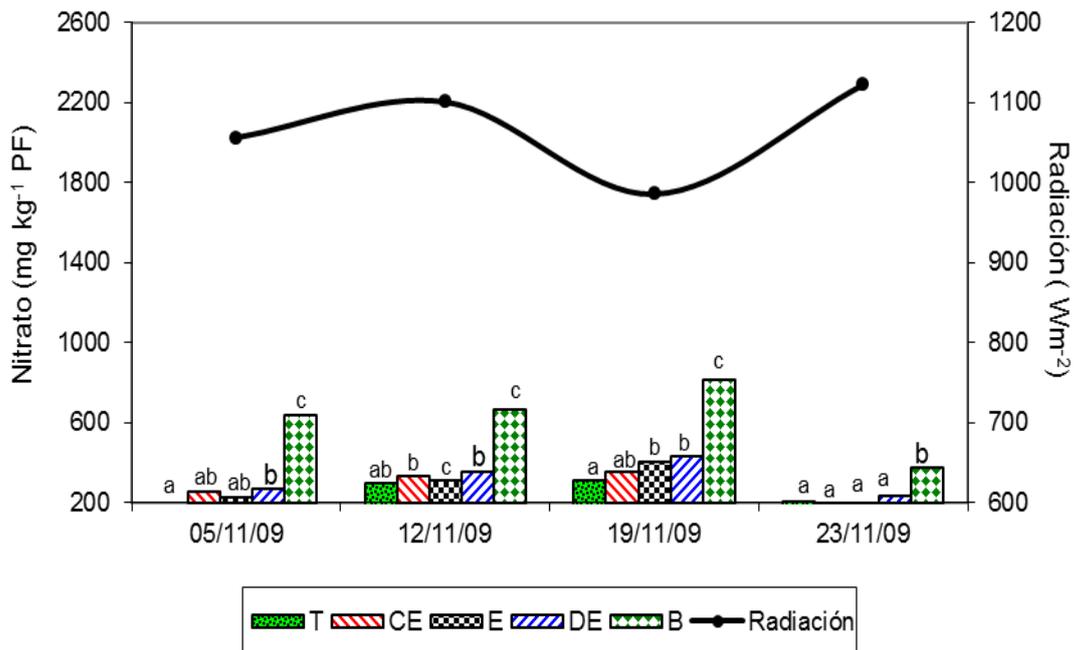
**Figura 22.** Variación de la concentración media de nitrato en lámina en relación a la radiación incidente para el ciclo primavera 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

Se encontró diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) únicamente para la primer fecha de muestreo, donde el tratamiento bioorganutsa se diferenció del resto. Para las dos fechas siguientes no se encontraron diferencias significativas. Los valores oscilaron entre  $400$  y  $900 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Tanto en pecíolo como en lámina las concentraciones de nitrato se encuentran muy por debajo de  $3000 \text{ mg kg}^{-1}$ . Durante el ciclo primavera 2008, en cultivo no comercial por su floración, la mayor concentración de nitrato se observó en lámina contrariamente al resto de los ciclos, donde la mayor concentración de nitrato se registro en el pecíolo. Esto podría indicar que hubo una translocación de nitrato de pecíolo a lámina.

#### 4.2.2. Año 2009

Se pudo observar que todos los tratamientos, a excepción del B, tuvieron el mismo comportamiento en todas las fechas de muestreo con valores que oscilaron entre 180 y  $430 \text{ mg kg}^{-1}$ , llegando a cosecha con iguales concentraciones de nitrato. Para el tratamiento B el contenido de nitrato fue superior ( $630 \text{ a } 815 \text{ mg kg}^{-1}$ ) (Figura 24).



**Figura 23.** Variación de la concentración media de nitrato en lámina en relación a la radiación incidente para el ciclo primavera 2009. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

Las concentraciones de nitrato se diferenciaron estadísticamente en todas las fechas de muestreo para los distintos tratamientos. El B concentró los valores más altos diferenciándose del resto y T los más bajos sin diferenciarse del CE.

Para el ciclo primaveral 2009 los valores más altos de nitrato se observaron en pecíolo, con la misma tendencia que los ciclos anteriores, mostrando las concentraciones mayores de nitrato en el tratamiento B ( $2389 \text{ mg kg}^{-1}$ ), en tanto que en lámina los valores no superaron las  $815 \text{ mg kg}^{-1}$  (Figura 23 y 24).

### **4.3. Discusión**

Los resultados obtenidos del efecto de las diferentes enmiendas orgánicas sobre la concentración de nitratos en función de la radiación incidente en los ciclos primaverales fueron coincidentes con los obtenidos para los ciclos de otoño-invierno, por lo cual la discusión se corresponde con las citas mencionadas oportunamente.

En el análisis de correlación entre la radiación incidente y la concentración de nitrato se observó una correlación negativa (-0,34), altamente significativa ( $p < 0,01$ ), lo cual confirma lo mencionado para los ciclos otoño-invierno, a mayor radiación menor concentración de nitrato.

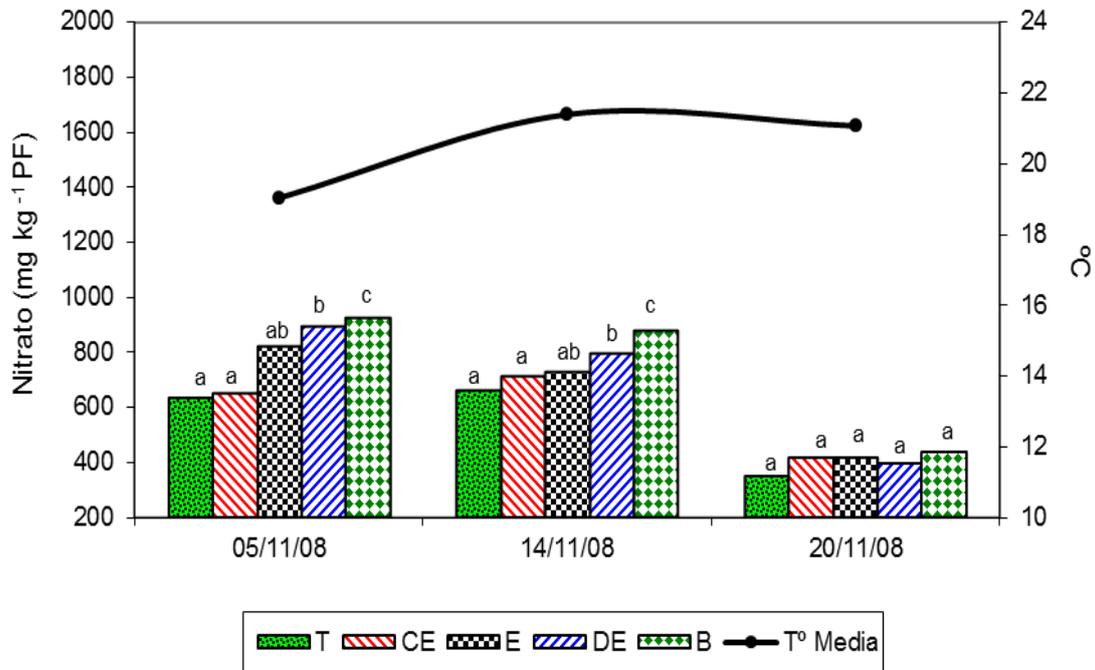
## **5. Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre la concentración de nitrato en función de la temperatura para Ciclo de primavera**

### **5.1. Concentración de nitrato en pecíolo**

#### **5.1.1. Año 2008**

Las temperaturas medias registradas durante el muestreo oscilaron entre  $25$  y  $27$  °C. En la figura 25 se observa que a altas temperaturas, la concentración de nitrato

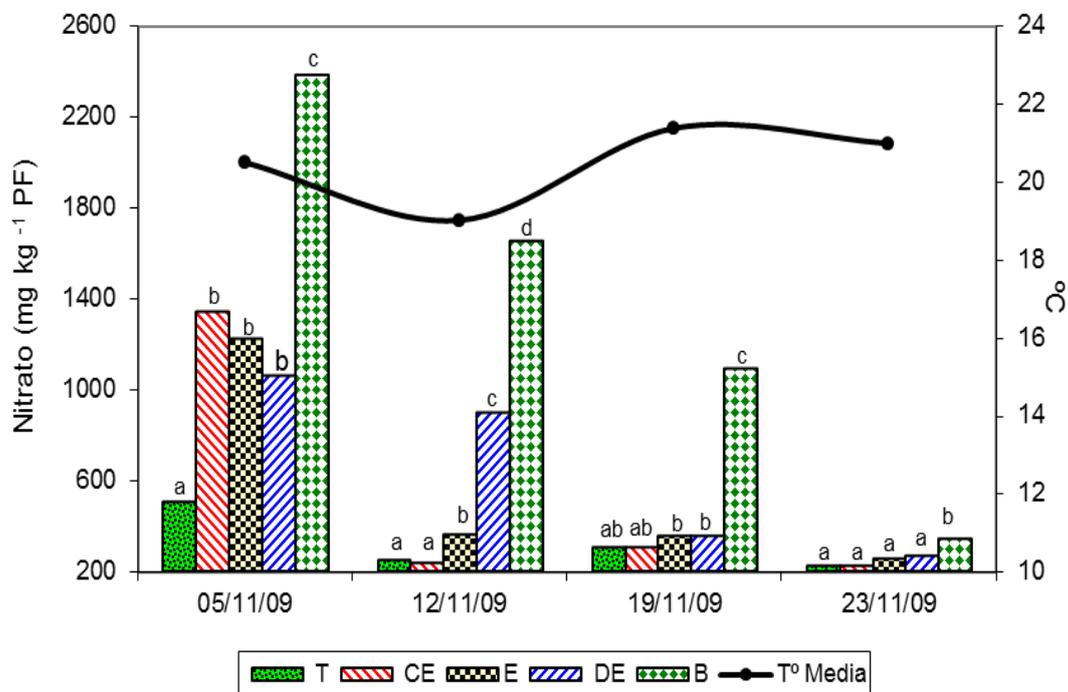
disminuyó. Este comportamiento es coincidente con el efecto producido por la radiación incidente.



**Figura 24.** Variación de la concentración media de nitrato en pecíolo en relación a la temperatura media para el ciclo primavera 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 5.1.2. Año 2009

Durante el ciclo 2009 las temperaturas medias estuvieron comprendidas entre 19 y 22 °C, inferiores a las registradas en el ciclo de primavera 2008. La concentración de nitrato disminuyó hacia la cosecha en todos los tratamientos, siendo el B el que presentó el descenso más marcado (Figura 26).

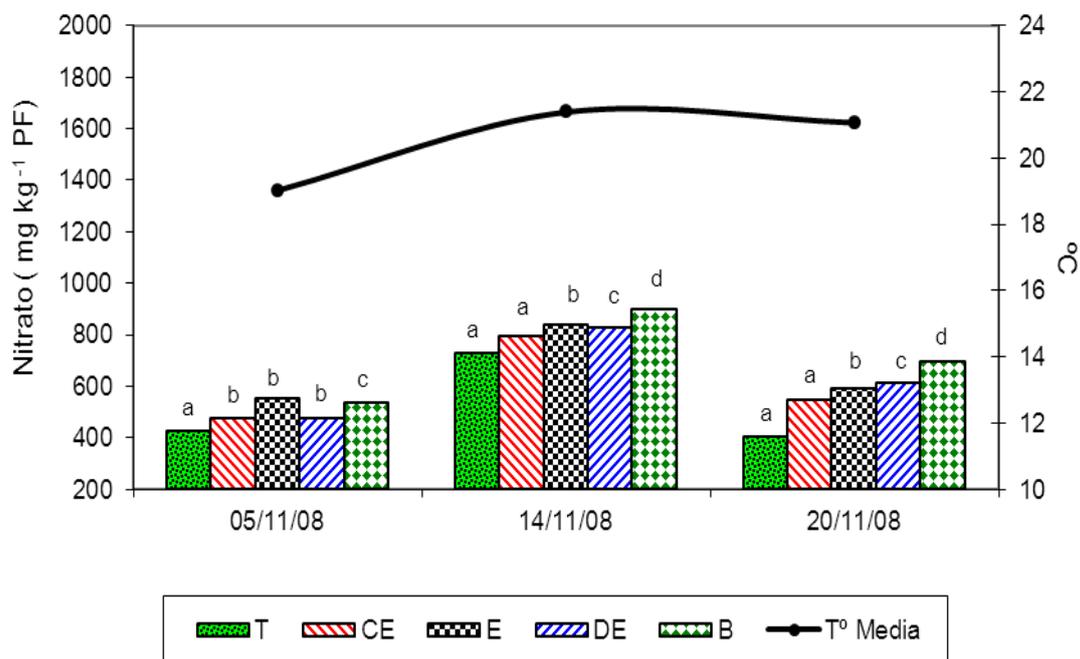


**Figura 25.** Variación la concentración media de nitrato en pecíolo en relación a la temperatura media para el ciclo primavera 2009. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

## 5.2. Concentración de nitrato en lámina

### 5.2.1. Año 2008

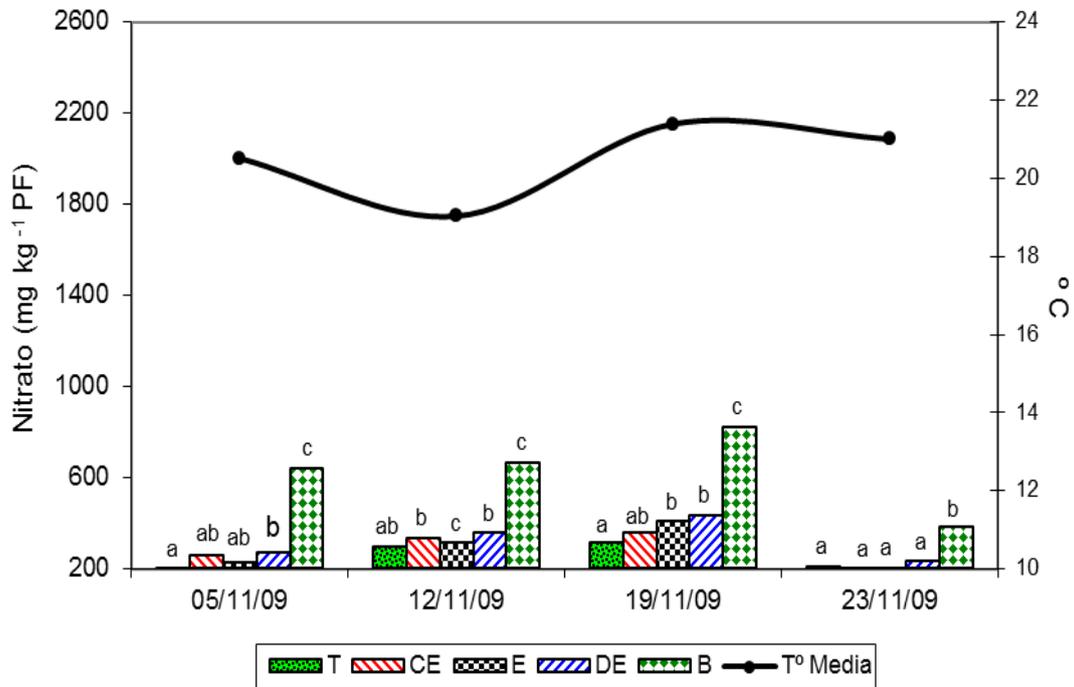
Al igual que lo sucedido con el pecíolo, las concentraciones de nitrato en lámina descendieron marcadamente con el aumento de la temperatura (Figura 27).



**Figura 26.** Variación de la concentración media de nitrato en lámina en relación a la temperatura media para el ciclo primavera 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 5.2.2. Año 2009

Las temperaturas medias registradas durante el período de muestreo oscilaron entre 19 y 22 °C, por lo que se podría suponer que las variaciones en el contenido de nitrato respondieron más al efecto radiación que a las variaciones de temperatura. El contenido de nitrato en lámina para este ciclo, como en el caso del pecíolo, presentó una tendencia a disminuir al acercarse el momento de cosecha. A pesar que las temperaturas no fueron muy elevadas, los contenidos de nitrato fueron bajos, oscilando entre 150 y 400 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 28).



**Figura 27.** Variación de la concentración media de nitrato en lámina en relación a la temperatura media para el ciclo primavera 2009. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 5.3. Discusión

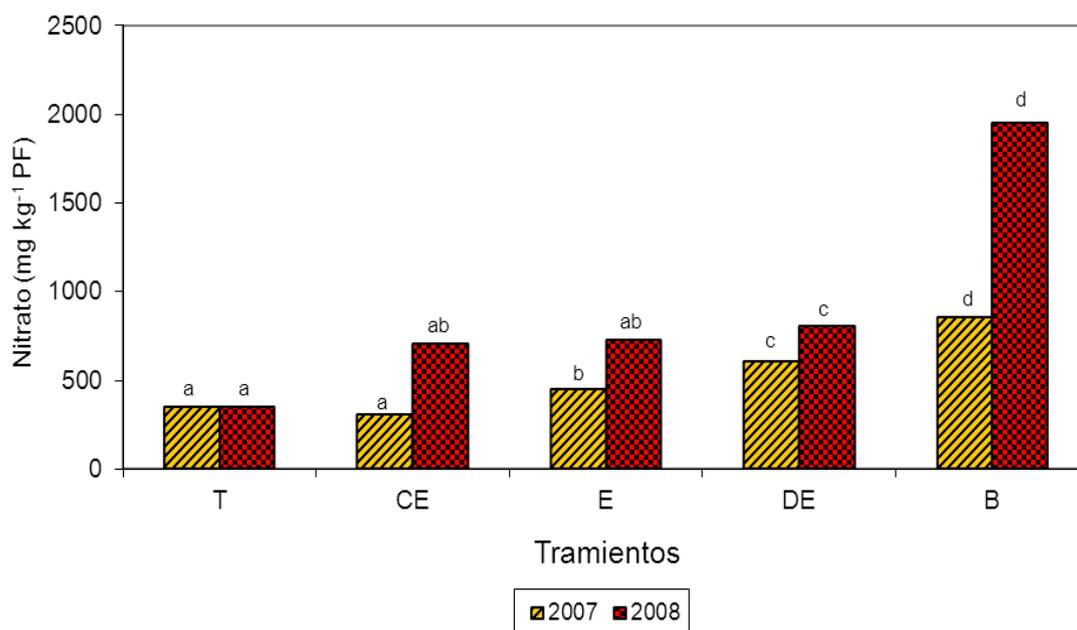
Los resultados obtenidos de los efectos de las diferentes enmiendas orgánicas sobre la concentración de nitratos en función de la temperatura de los ciclos primaverales fueron coincidentes con los obtenidos para los ciclos de otoño-invierno, por lo tanto la discusión se corresponde con las citas mencionadas en el punto 3.3.

## 6. Efecto de distintas enmiendas orgánicas sobre la concentración de nitrato en parte aérea (lámina y pecíolo) al momento de cosecha.

### 6.1. Ciclo otoño-invierno

La concentración de nitrato en el momento de cosecha en parte aérea fue superior durante el ciclo 2008, a excepción del tratamiento testigo donde las concentraciones fueron similares. Los niveles de nitrato no superaron las 3000 mg Kg<sup>-1</sup> en ninguno de los casos.

En los dos períodos se observó la misma tendencia, resultando un orden de los tratamientos de menor a mayor concentración (T < CE < E < DE < B), con diferencias significativas entre los mismos (Figura 29).

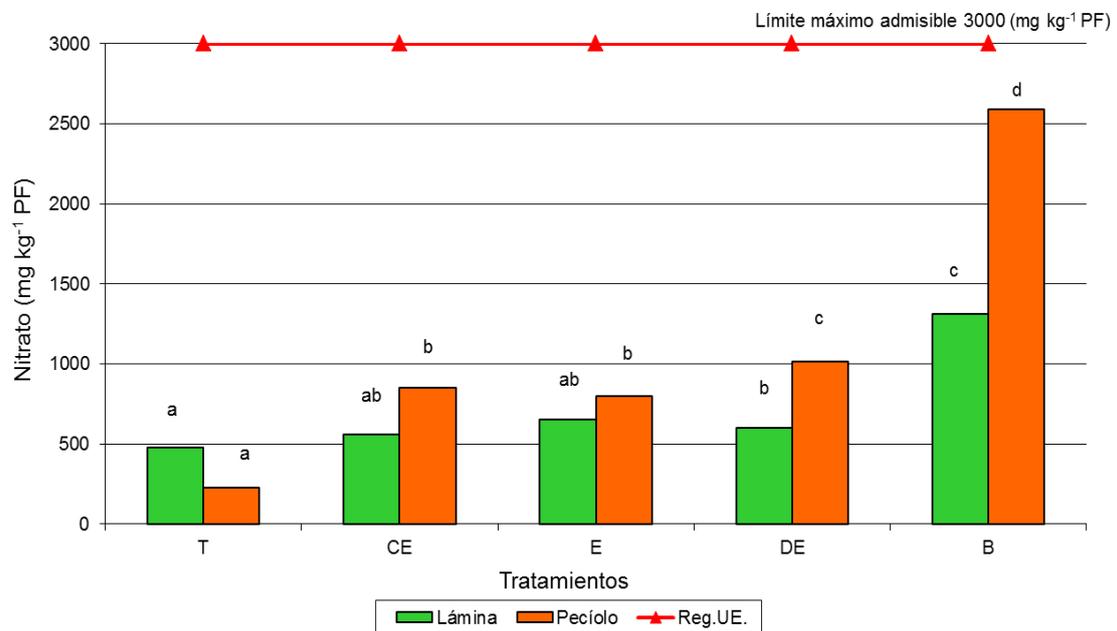


**Figura 28.** Concentración de nitrato en parte aérea al momento de cosecha para los ciclos otoño-invierno. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en columnas para cada año indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 6.1.1. Concentración de nitrato en el ciclo productivo 2008 en lámina y pecíolo.

Las concentraciones de nitrato en pecíolo fueron superiores a las encontradas en lámina para los tratamientos CE, E, DE y B; en el tratamiento testigo fue a la inversa. Tanto en lámina como en pecíolo las mayores concentraciones se dieron en el tratamiento bioorganutsa y las menores en el tratamiento testigo. Las concentraciones de nitrato fueron inferiores a las citadas por la Unión Europea.

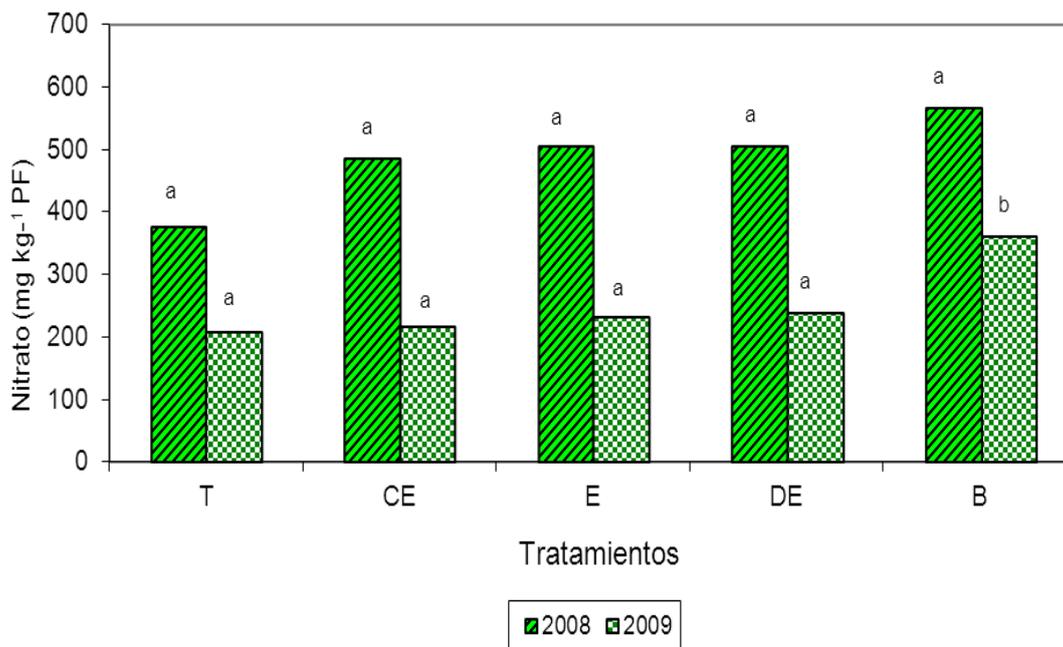


**Figura 29.** Concentración de nitrato en lámina y pecíolo al momento de cosecha para el ciclo otoño-invierno 2008. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en columnas para cada parte comestible indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 6.2. Ciclo primavera

La concentración de nitrato para el momento de cosecha en la parte aérea (lámina más pecíolo) fue superior en el año 2008 para todos los tratamientos, sin encontrar

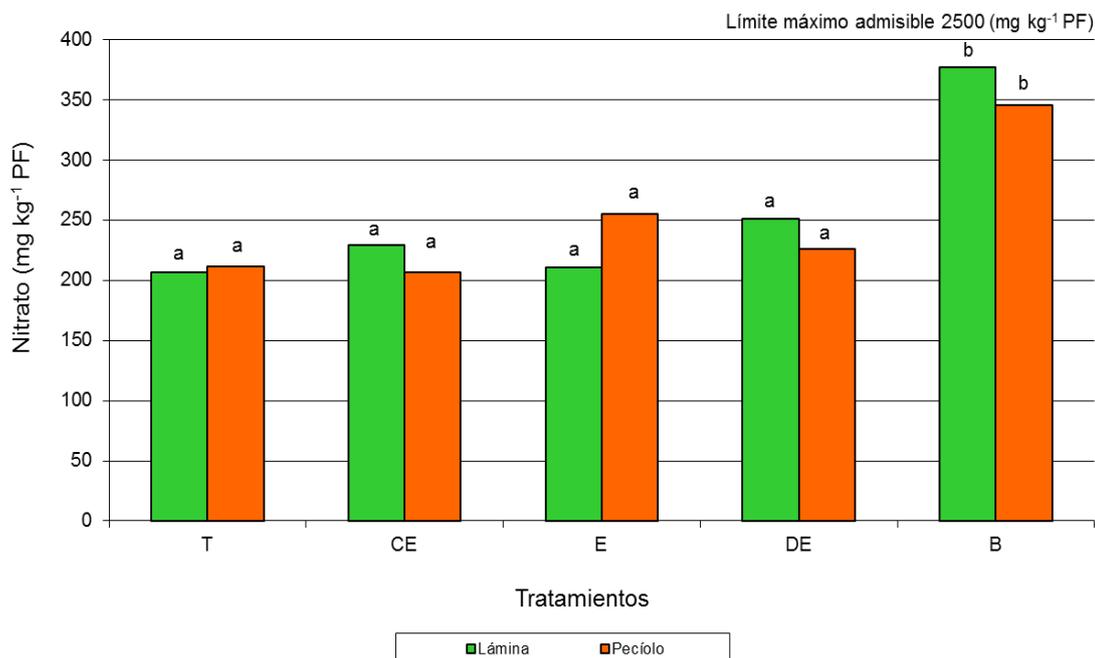
diferencias significativas entre ellos, mientras que en el año 2009 el tratamiento B se diferenció estadísticamente del resto (Figura 30).



**Figura 30.** Concentración de nitrato en parte aérea (lámina y pecíolo) al momento de cosecha para ciclos de primavera en ambos años. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en columnas para cada año indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 6.2.1. Concentración de nitrato en el ciclo productivo 2009 en lámina y pecíolo.

Para el ciclo productivo primavera 2008 las concentraciones de nitrato en pecíolo, fueron similares a las encontradas en lámina para todos los tratamientos. Tanto en lámina como en pecíolo las mayores concentraciones se dieron en el tratamiento bioorganutsa y en el resto de los tratamientos fueron similares; sin superar los 400 mg kg<sup>-1</sup> PF.



**Figura 31.** Concentración de nitrato en lámina y pecíolo al momento de cosecha para el ciclo primavera 2009. T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa. Letras diferentes en columnas para cada parte comestible indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 6.3. Discusión

Estos resultados concuerdan con autores que afirman que la concentración de nitrato es superior en los tejidos envejecidos (Maynard 1972). Por su parte Carrasco *et al.* (2006), estudiando el contenido de nitrato en lechugas cultivadas en sistemas hidropónicos, encontraron mayores concentraciones de nitrato en hojas viejas en relación con las hojas nuevas. Otros autores indican que la mayor concentración de nitrato en hojas viejas se debería a una menor actividad de la enzima nitrato reductasa, la cual es sustrato inducible (Bellaloui y Pilbeam 1990; Carrasco *et al.*, 1994).

Cabado *et al.* (1987) mencionaron que a medida que la planta va envejeciendo, pierde su capacidad de asimilar nitratos debido a una reducción en la síntesis de

proteínas, aumentando así la concentración de nitritos. Por lo mencionado anteriormente, se puede decir que la mayor concentración de nitrato encontrada durante el ciclo 2008 se debe al estado fenológico de floración del cultivo.

Con respecto a las concentraciones de nitrato en partes comestibles, los resultados obtenidos coinciden con los mencionados por Anjana e Iqbal, 2006 quienes mencionan que las mayores concentraciones se observan en pecíolo con respecto a lámina en parte aérea de la planta de espinaca

En los ciclos primaverales (2008 y 2009) las concentraciones de nitrato resultaron menores que las observadas en los ciclos otoño invierno (2007 y 2008), a excepción de la muestra correspondiente a la fecha 5 de septiembre de 2009 para el tratamiento bioorganútsa. La acumulación de nitrato varía con las estaciones, siendo mayor en otoño-invierno que en primavera (Santamaria *et al.*, 1999).

Diversas investigaciones realizadas en distintos países acuerdan con lo mencionado anteriormente (Bélgica: Dejonckheere *et al.* (1994); Finlandia: Penttilä, 1995; Dinamarca: Petersen and Stoltze, 1999; Italia: Santamaria *et al.*, 1999, 2006; Brasil: Guadagnin *et al.*, 2005; Estonia: Tamme, *et al.*, 2010; India: Sajirani *et al.*, 2012; USA: Cantliffe, 1972b; Marschner, 1995; Maynard *et al.*, 1976; Cabado, *et al.* 1987; Roorda van Eysinga, 1984).

La bibliografía consultada menciona que a baja intensidad de luz, la producción de ácidos orgánicos es baja debido a la menor tasa de fotosíntesis; en consecuencia disminuyen los compuestos orgánicos disponibles para el almacenamiento en las vacuolas (Blam – Zandstra y Lampe, 1985; Anjana y Iqbal, 2006). Este proceso requiere bajo costo de energía, ya que los procesos de extracción de nitrato (uptake), transferencia a través del citoplasma y acumulación en las vacuolas, no requieren tanta energía derivada del ATP como la producción y acumulación de compuestos orgánicos

(Lambers y Steingrover, 1978). Por ello es que la relación entre la acumulación de compuestos orgánicos y la acumulación de nitrato es dependiente de la luz.

## 7. Análisis microbiológico de la espinaca

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación de la Nación, resolvió incorporar al capítulo XI del código alimentario “Rotulado Alimentos Vegetales” el artículo 925 quater; de esta manera las frutas y verduras deberán ajustarse a las siguientes normas microbiológicas (Tabla 19)

**Tabla 19.** Criterios microbiológicos y metodología autorizada para los análisis microbiológicos (SAGPyA).

Parámetro	Criterio microbiológico	Método de referencia
<i>E. Coli</i> NMP/g	n=5 c=2 m=10 M=100	BAM-FDA:2002 ISO/TS 16649-3:2005*
<i>Salmonella</i> spp./25g	n=5 c=0 m= ausencia	BAM-FDA:2007* ISO6579:2002*
<i>E. coli</i> O157:H7/NM/25g	n=5 c=2 m=ausencia	BAM-FDA:2002* ISO 16654:2001*

*Escherichia coli* es una enterobacteria que se encuentra generalmente en los intestinos de animales, y por ende en las aguas negras y estiércoles, pero se lo puede encontrar en diversos ambientes dado que es un organismo ubicuo. La *E. coli* O157:H7 es una cepa enterohemorrágica de la bacteria *E. coli* y es la causante de una intoxicación alimentaria debido a la producción de verotoxina. La infección con esta bacteria conduce frecuentemente a una diarrea hemorrágica y ocasionalmente a una falla renal (Síndrome Urémico Hemolítico), especialmente en infantes y ancianos (Griffin, 1995). La infección se da a través de la vía fecal oral, asociada a comer alimentos crudos, carne contaminada y a nadar o beber en aguas contaminadas. Los análisis realizados en este

trabajo se realizaron para los tratamientos que incluyeron como enmienda el estiércol, por considerarse los más riesgosos en la producción de hortalizas.

Como se observa en la Tabla 20 no se detectó presencia de *E. coli* en ninguna de las espinacas cosechadas en los tratamientos evaluados. Los valores de recuento de coliformes totales se encuentran dentro de los parámetros establecidos por el Código Alimentario Argentino, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación de la Nación. Los mismos fueron inferiores en el T y E para la primavera respecto al ciclo otoño invierno, en tanto para el DE fueron similares ambos ciclos.

**Tabla 20.** Análisis microbiológico del ciclo otoño- invierno 2008 y primavera 2009

Ciclo	Tratamiento	Coliformes totales (UFC/g)	<i>E Coli</i>
Otoño invierno 2008	Testigo	4000	Sin desarrollo
	Estiércol	4560	Sin desarrollo
	Doble estiércol	4880	Sin desarrollo
Primavera 2009	Testigo	2000	Sin desarrollo
	Estiércol	2560	Sin desarrollo
	Doble estiércol	5040	Sin desarrollo

Varios autores acuerdan que en relación a los riesgos de contaminación por presencia de microorganismos patógenos, micotoxinas y/o bacterias, los productos alimentos orgánicos resultan igual de seguros que los convencionales (AFSSA, 2003; Velimirov y Muller, 2003; Tauscher *et al.*, 2003). Los resultados obtenidos resultan muy importantes en función de la calidad higiénico-sanitaria de las espinacas producidas en forma orgánica. El hecho de utilizar abonos orgánicos en base a estiércoles, conllevan un riesgo asociado a la contaminación por los microorganismos fecales citados (Fernández y Peña 2012). Por esta razón, resulta fundamental realizar el

compostado previo de estos materiales, para eliminar dicha posibilidad. La correcta transformación de los estiércoles mediante el compostado, a causa de las temperaturas que se alcanzan, disminuyen o eliminan los riesgos de presencia y desarrollo de microorganismos potencialmente patógenos, que puedan resultar peligrosos para la salud de los consumidores. Asimismo, adquiere una gran importancia la manipulación segura de los estiércoles por parte del productor, máxima cuando se utilizan sobre cultivos de hortalizas para consumo en fresco.

## **8. Composición elemental de la espinaca**

### **.1. Ciclo otoño invierno**

#### **8.1.1. Año 2007**

De acuerdo a lo establecido por Mills y Benton Jones (1996), el contenido de N total es suficiente con valores entre 4 y 6%; por lo tanto en la fecha correspondiente a los 45 días de muestreo, el contenido de N total en la planta resultó suficiente para todos los tratamientos. En tanto, para el resto de los nutrientes analizados las concentraciones fueron altas, de acuerdo a los mismos autores que proponen valores de P > 0,7 %, de K > 8 %; y de Ca > 1,2%. Para la fecha correspondiente a momento de cosecha, el contenido de N total fue suficiente para el tratamiento B y bajo (de 3 a 3,49 %) para el resto de los tratamientos. Para los otros elementos analizados, las concentraciones fueron altas según los mismos autores. No se encontró diferencia estadística entre los tratamientos, para cada elemento y momento de muestreo (Tabla 21).

**Tabla 21.** Contenido de elementos esenciales, ciclo otoño- invierno 2007 a los 45 días del trasplante y al momento de cosecha.

Tratamientos	Muestreo	Nt (%)	Ca (%)	K (%)	P (%)	Zn (ppm)	Fe(ppm)
T	45 días	4,4 a	2,53 a	11,61 a	1,10 a	173,1 a	220,8 a
	Cosecha	3,3 a	2,88 a	15,21 a	1,05 a	218,7 a	125,2 a
CE	45 días	4,1 a	1,88 a	10,89 a	0,95 a	138,0 a	266,4 a
	Cosecha	3,3 a	2,46 a	14,47 a	1,23 a	213,2 a	133,4 a
E	45 días	4,2 a	1,92 a	11,18 a	1,06 a	131,6 a	256,0 a
	Cosecha	3,3 a	1,98 a	15,10 a	1,23 a	184,7 a	126,4 a
DE	45 días	4,5 a	2,06 a	11,83 a	1,12 a	140,5 a	229,0 a
	Cosecha	3,4 a	1,99 a	15,60 a	1,19 a	185,4 a	181,1 a
B	45 días	4,6 a	2,39 a	11,76 a	1,17 a	189,1 a	220,2 a
	Cosecha	3,7 a	2,18 a	16,32 a	1,22 a	203,1 a	125,1 a

T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.  
tes en columnas para cada momento de muestreo indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamiento.

### 8.1.2. Año 2008

En el primer muestreo, realizado el 31 de julio de 2008, se pudo comprobar que para los tratamientos DE y B el contenido de N total resultó suficiente, mientras que para el resto de los tratamientos fue bajo (Tabla 22).

Para el caso del Hierro, resultó suficiente (de 60 a 200 ppm) para DE y B y alto ( $>200$  ppm) para el resto de tratamientos. Mientras que para el Ca, P y K las concentraciones fueron altas (Ca  $>1,2$  %; P  $> 0,7\%$  y K  $> 8\%$ ) para todos los tratamientos (Mills y Benton Jones 1996).

En el momento de la cosecha de la espinaca, el contenido de N total mostró un comportamiento similar que en los casos anteriores. Para el tratamiento B el contenido fue suficiente y para el resto de los tratamientos bajo. No se encontró diferencia

estadística entre los tratamientos, para cada elemento y momento de muestro Los valores para el resto de los nutrientes fueron altos para todos los tratamientos.

**Tabla 22.** Contenido de elementos esenciales, ciclo otoño- invierno 2008 a los 45 días del trasplante y al momento de cosecha.

Tratamientos	Muestreo	Nt (%)	Ca (%)	K (%)	P (%)	Zn (ppm)	Fe (ppm)
T	45 días	3,8 a	3,08 a	23,97 a	0,99 a	252,3 a	242,9 a
	Cosecha	2,2 a	4,48 a	19,88 a	1,26 a	440,5 a	480,7 a
CE	45 días	3,5 a	3,41 a	24,90 a	1,19 a	254,5 a	366,9 a
	Cosecha	2,6 a	4,33 a	21,54 a	1,23 a	347,0 a	412,3 a
E	45 días	3,9 a	2,92 a	24,10 a	1,22 a	251,4 a	207,2 a
	Cosecha	2,4 a	4,59 a	21,22 a	1,05 a	314,0 a	348,1 a
DE	45 días	4,2 a	3,00 a	24,21 a	1,17 a	246,2 a	190,7 a
	Cosecha	2,5 a	4,10 a	20,84 a	1,22 a	352,5 a	336,9 a
B	45 días	4,3 a	3,45 a	23,62 a	1,00 a	285,2 a	170,9 a
	Cosecha	3,7 a	4,52 a	21,97 a	8,6 a	391,2 a	464,0 a

T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en columnas para cada momento de muestreo indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

## 8.2. Ciclo primavera

### 8.2.1. Año 2008

Para el ciclo primaveral del año 2008, al igual que los anteriores, se realizaron dos momentos de muestreos, el primero fue a los 45 días de trasplante y el segundo en el momento de cosecha. En esta oportunidad el contenido de N total fue bajo para todos los tratamientos, en cambio para el resto de los nutrientes la concentración fue elevada para ambas fechas de muestreo (Mills y Benton Jones, 1996).

El contenido de N total para el momento de cosecha, fue bajo para todos los tratamientos; para el resto de los nutrientes la concentración fue alta. No se encontró diferencia estadística entre los tratamientos, para cada elemento y momento de muestro (Tabla 23).

**Tabla 23.** Contenido de elementos esenciales, ciclo primavera 2008 a los 45 días del trasplante y al momento de cosecha.

Tratamientos	Muestreo	Nt (%)	Ca (%)	K (%)	P (%)	Zn (ppm)	Fe (ppm)
T	45 días	3,07 a	5,70 a	16,57 a	0,82 a	281,7 a	447,2 a
	Cosecha	2,0 a	5,76 a	14,58 a	1,71 a	488,5 a	287,0 a
CE	45 días	3,09 a	5,17 a	18,02 a	0,89 a	350,8 a	336,8 a
	Cosecha	1,9 a	5,56 a	14,46 a	1,74 a	476,7 a	399,8 a
E	45 días	3,46 a	5,95 a	17,69 a	0,84 a	251,5 a	426,6 a
	Cosecha	1,8 a	5,27 a	15,81 a	1,57 a	455,1 a	287,4 a
DE	45 días	3,39 a	5,32 a	19,01 a	0,91 a	259,4 a	355,7 a
	Cosecha	1,9 a	4,73 a	15,96 a	1,35 a	381,5 a	255,2 a
B	45 días	2,88 a	5,59 a	17,43 a	0,83 a	353,5 a	461,2 a
	Cosecha	1,7 a	5,94 a	15,76 a	1,58 a	455,9 a	352,2 a

T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

Letras diferentes en columnas para cada momento de muestreo indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

### 9.2.2. Ciclo 2009

El contenido de nitrógeno total fue bajo para todos los tratamientos al momento del primer muestreo en el ciclo de primavera 2009. Para el resto de los nutrientes la concentración fue alta, coincidiendo el segundo muestreo al momento de cosecha, al igual que sucedió en los años anteriores. No se encontró diferencia estadística entre los tratamientos, para cada elemento y momento de muestro (Tabla 24) (Mills y Benton Jones, 1996).

**Tabla 24.** Contenido de elementos esenciales, ciclo primavera 2009 a los 45 días del trasplante y al momento de cosecha.

Tratamientos	Muestreo	Nt (%)	Ca (%)	K (%)	P (%)	Zn (ppm)	Fe (ppm)
T	45 días	2,8 a	5,04 a	11,39 a	0,74 a	273,0 a	384,8 a
	Cosecha	1,2 a	5,76 a	6,55 a	1,40 a	348,0 a	284,5 a
CE	45 días	2,6 a	4,29 a	12,49 a	0,96 a	266,9 a	430,9 a
	Cosecha	1,1 a	4,93 a	8,60 a	1,26 a	354,8 a	419,3 a
E	45 días	3,1 a	5,30 a	13,54 a	0,75 a	264,2 a	464,4 a
	Cosecha	1,3 a	5,14 a	9,31 a	1,38 a	364,3 a	327,4 a
DE	45 días	2,9 a	3,54 a	15,00 a	0,99a	278,5 a	405,2 a
	Cosecha	1,0 a	4,16 a	8,82 a	1,40 a	324,9 a	413,0 a
B	45 días	3,6 a	5,40 a	13,51 a	0,86 a	264,2 a	386,2 a
	Cosecha	1,5 a	46,6 a	10,62 a	1,18 a	319,6 a	414,7 a

T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

cada momento de muestreo indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

## 9. Contenido de ácido ascórbico y beta caroteno

En el ciclo otoño invierno 2008, se realizaron análisis para determinar el contenido de vitamina C (ácido ascórbico) y precursor de vitamina A (beta caroteno) al momento de cosecha. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, para ninguno de los nutrientes.

Los valores obtenidos de ácido ascórbico y beta caroteno encontrados fueron superiores a los citados por Salunke y Kadam (2004), referidos a espinaca, aunque sin diferenciar el tipo de producción orgánica o convencional (Tabla 25).

**Tabla 25.** Contenido de vitaminas en el ciclo otoño- invierno 2008.

Tratamiento	Acido Ascórbico (mg/100g)	Beta Caroteno (mg/100g)
T	68,6 a	9,3 a
CE	74,9 a	9,0 a
E	66,9 a	8,3 a
DE	71,4 a	7,5 a
B	77,3 a	10,9 a

T, testigo; CE, compost de cebolla-estiércol; E, estiércol; DE, doble estiércol; B, bioorganutsa.

diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos.

Algunos autores indican que las hortalizas producidas orgánicamente poseen mayor contenido de nutrientes esenciales como Fe, Mg, P y K y vitamina C, en relación a las producidas de manera convencional (Worthington, 2001; Gennaro y Quaglia, 2003). En tomate, lechuga, espinaca y repollo se hallaron mayores concentraciones de P y Mg, mientras que el contenido de vitamina C fue mayor en hortalizas orgánicas como papa, zanahoria, lechuga, espinaca y repollo (Gennaro y Quaglia, 2003). En lechuga, la incorporación de humus incrementó el peso seco, los contenidos de P, K, Ca, Mg, Mn y Cu (Granval *et al.*, 2013). Los resultados obtenidos en este estudio, concuerdan con los mismos para la mayoría de los elementos minerales y vitaminas estudiados, fortaleciendo la calidad de la espinaca orgánica.

## CONCLUSIONES

### **Rendimiento**

El rendimiento de espinaca producida en forma orgánica bajo cubierta en el valle inferior del Río Negro, respondió a la dosis y el tipo de enmienda orgánica aplicada como fertilizante. En consecuencia, se podrían superar los rendimientos medios obtenidos por los productores de la región con producción convencional.

Todas las enmiendas aplicadas se diferenciaron del tratamiento testigo; durante los ensayos de otoño-invierno 2007 no se encontraron diferencias estadísticas entre estiércol, doble estiércol y Bioorganutsa. En tanto que en el resto de los ciclos productivos, los mayores rendimientos se obtuvieron con la aplicación de Bioorganutsa.

En los ciclos de otoño invierno y primaverales los tratamientos a base de estiércol (dosis única y doble) y compost no se diferenciaron entre ellos, por lo que no se justificaría aumentar la dosis única de estiércol propuesta.

La utilización de compost de residuos de cebolla-estiércol provocó la misma respuesta productiva en el cultivo que la aplicación de estiércol a dosis única. Por lo tanto, podría utilizarse una u otra enmienda en función de la disponibilidad de las mismas.

En todos los casos los contenidos de Ca, K, P, Zn y Fe fueron óptimos para el desarrollo del cultivo; mientras que el N sólo fue elevado en el año 2007 y luego mantuvo esta condición sólo para el tratamiento Bioorganutsa.

## **Contenido de Nitrato**

La concentración de nitrato en espinaca respondió a la radiación incidente, los mayores contenidos se observaron en los períodos de menor radiación, durante el ciclo de otoño invierno. En primavera las concentraciones detectadas fueron muy bajas, sin superar las 600 ppm en el momento de cosecha del cultivo.

Con respecto a la temperatura, en los ensayos realizados no se pudo determinar el efecto directo de la misma sobre la acumulación de nitrato en el cultivo, probablemente debido a que el mismo estaría encubierto por la radiación incidente.

Las mayores concentraciones se registraron en pecíolo a mediados del ciclo de cultivo invernol, donde se superaron las 3000 ppm en los tratamientos estiércol (doble dosis) y Bioorganutsa.

Los contenidos de nitratos en el momento de cosecha, para los ciclos otoño invierno y primavera, tanto en pecíolo como lámina, no superaron los límites máximos admisibles establecidos por la Unión Europea. Las concentraciones más bajas se detectaron en lámina en el ciclo primaveral.

En función de ello, sería recomendable en el ciclo otoño invierno, efectuar la cosecha total de la planta al final de su ciclo productivo. En tanto, en primavera, sería posible realizar esto o bien una cosecha escalonada de hojas y pecíolos, sin riesgo de un alto contenido de nitrato en las mismas.

La aplicación de compost de residuos de cebolla, produjo la menor concentración de nitrato en las partes comestibles de la planta de espinaca, en comparación con estiércol y Bioorganutsa.

En todos los ensayos realizados el abono que produjo mayor concentración de nitrato es el Bioorganutsa, por lo que debería ajustarse correctamente la dosis a aplicar, sobre todo en el ciclo otoño-invernal.

En el Valle Inferior del Río Negro es factible la producción de espinaca orgánica en invernadero, en ambos ciclos de cultivo, manteniendo el contenido de nitrato por debajo de los límites establecidos por la reglamentación internacional.

### **Calidad nutricional y seguridad alimentaria**

El contenido de Ácido ascórbico y beta caroteno, en los dos ciclos analizados para el momento de cosecha, fue elevado. Para el caso del hierro los valores obtenidos fueron bajos en el ciclo otoño 2008 y elevados en 2009. Para el resto de los nutrientes estudiados, las concentraciones fueron superiores a lo indicado en la bibliografía para espinaca de producción convencional.

En los análisis microbiológicos realizados no se detectó presencia de *E. Coli* y los valores de coliformes totales se encuentran muy por debajo de los citados por el Código Alimentario Argentino.

De acuerdo a lo expuesto, la espinaca producida en forma orgánica en invernadero, presenta una buena calidad nutritiva, con elevado contenido de vitaminas A y C. En tanto, resulta factible conseguir una hortaliza segura para su consumo, referido a sus riesgos higiénico-sanitarios, aún utilizando estiércol durante su producción.

### **Recomendaciones para reducir el contenido de nitrato en hortalizas de hoja**

A continuación se presentan algunas recomendaciones factibles de ser realizadas por los productores, de acuerdo con los resultados obtenidos en la presente tesis y de la revisión bibliográfica realizada, las que posibilitarían reducir la acumulación de nitrato en espinacas y otras hortalizas de hoja (Tabla 26).

Debido a la cantidad de factores que intervienen en la acumulación de nitrato y sus interacciones, el cumplimiento únicamente de algunas de estas medidas no asegura la obtención de espinacas con menos de 3000 ppm, tal como exige la normativa europea. Sin embargo, podría reducirse al mínimo su contenido en espinaca y además, pueden ser consideradas como referencia para otras hortalizas de hoja.

**Tabla 26:** Métodos para reducir la acumulación de nitrato en espinacas aplicables por los productores incluyendo sus principales condiciones y/o desventajas.

<b>Medidas</b>	<b>Condicionantes/ desventajas</b>
<p><b>Material vegetal</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Empleo de variedades de baja acumulación de nitratos.</li> <li>• Empleo de variedades con mayor radio limbo/ pecíolo, debido a que el pecíolo es la parte del cultivo que más nitrato acumula.</li> <li>• Eliminación de pecíolo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hasta el momento las semilleras no informan sobre esta característica de las variedades que comercializan.</li> <li>• La selección se realiza principalmente por criterios de adaptación de cultivo y de mercado. La relación limbo/pecíolo varía con las condiciones de cultivo (densidad e siembra, radiación, etc.).</li> <li>• Se reduce la producción cosechada</li> </ul>
<p><b>Fertilización</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reducción de las dosis de N aplicadas actualmente, especialmente en los ciclos otoño invierno y en suelos pesados.</li> <li>• Realizar la fertilización teniendo en cuenta el nitrógeno del suelo en siembra así como el nitrógeno potencialmente mineralizable a lo largo del ciclo de cultivo.</li> <li>• Cultivo en suelos con textura ligera donde la predisposición para obtener espinacas con bajo contenido de nitrato es mejor que en suelos pesados</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Productores reacios a reducir las dosis de fertilizantes N aplicados. Necesidad de informar.</li> <li>• Necesidad de realizar análisis químicos, precios elevados, dificultad de obtener resultados rápidos.</li> <li>• Mayor riesgo de lixiviación</li> </ul>
<p><b>Condiciones de cultivo</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cultivos en otoño y primavera cuando normalmente la radiación y temperatura son más adecuadas para el cultivo de espinaca.</li> <li>• Cosechar tras un período de entre 3 y 7 días de elevada radiación solar.</li> <li>• Regar abundantemente durante la última fase de cultivo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Necesidad de abastecer el mercado durante todo el año.</li> <li>• La recolección se condiciona por la demanda del mercado.</li> <li>• Dificultades de accesibilidad para acceder a la parcela</li> </ul>

**BIBLIOGRAFÍA**

- Abboud A. C. S., Duque F.F., 1986. Efeito da Aplicação ao Solo de Diferentes Materiais Orgânicos e Vermiculita na Sequência Cultural. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 21: 227-236.
- AFSSA (Agence française de Sécurité Sanitaire des Aliments, 2003. Evaluation nutritionnelle et sanitaire des aliments issus de l'agriculture biologique. 265 S. <http://www.anses.fr/Documents/NUT-Ra-AgriBio.pdf>
- Ahmadil H., Akbarpour V., Dashti F., Shojaeian A., 2010. Effect of different levels of nitrogen fertilizer on yield, nitrate accumulation and several quantitative attributes of five Iranian spinach accessions. Journal of Agriculture & Environmental Science, 8: 468- 473.
- Amlinger F., Götz B., Drehe, P., Geszti J., Weissteiner C., 2003. Nitrogen in biowaste and yard waste compost: dynamics of mobilisation and availability- a review. El Sevier. European Journal of Soil Biology 39: 107-117.
- Anjana S.U., Iqbal M., 2006. Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications. A review. Agronomi Sustain. New Delhi, India, 45-57.
- Anjana S.U., Iqbal M., Abrol Y.P., 2007. Are nitrate concentrations in leafy vegetables within safe limits? Current Science, 92 (3): 355-360.
- Anónimo. 2000. Espinaca: Híbridos y Variedades. Revista Produciendo: Actividad Frutihortícola, vivero, Flores, Ornamentales y Riego. N° 58. Año VIII.
- Apcarián E., 2008. Contenido de nitrato en acelga (*beta vulgaris L.var. Cicla*) ciclo invierno – primaveral en la región de Bahía Blanca. Trabajo de intensificación. Dpto de Agronomía, UNS, 54 pp.

- Avendaño D., 2003. El proceso de Compostaje. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Fruticultura y Enología. Santiago de Chile, 33 pp.
- Ayastuy M.E., Miglierina, A.M., Rodríguez R.A y Grondona A.2008. Evaluación preliminar de materiales alternativos como sustratos para la producción de plantines. Resúmenes XXI Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Trabajo completo en CD-ROM.
- Ayastuy M. E. y Rodríguez R. A., 2009. Agricultura orgánica, AGRO UNS. Año VI. 11: 5-11.
- Ayaz A., Topeu A., Yurttagul M., 2007. Survey of nitrate and nitrite levels of fresh vegetables in Turkey. Journal of Food Technology, 5: 177-179.
- Balcaza L., 2010. Utilización de compost en la conservación de suelos cultivados bajo cubierta en el Cinturón Hortícola Platense. Boletín Hortícola. Año 15. N° 15: 16- 19.
- Bellaloui N., Pilbeam L., 1990. Reduction of nitrate in leaves of tomato during vegetative growth. Journal of plant Nutrition 13: 39-55.
- Bellino A., Muratore G., Izoo R., 1996. NO<sub>3</sub>-N contents in *Lactuca sativa* L. Induced by slow-release nitrogenous fertilizers coated with NPK. Agricultura Mediterranea 127 (2): 126-133.
- Blom- Zandstra M., Lampe J., 1983. The effect of chloride and sulphate salts on the nitrate content in lettuce plants. Journal of Plant Nutrition, 6: 611- 628.
- Blom- Zandstra, M., Lampe J., 1985. The role of nitrate in the osmoregulation of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown at different light intensities Journal Experimental Botany, 36: 1043-1052.

- Bourn D., Prescott J., 2002. A comparison of the nutritional value, sensory qualities and food safety of organically and conventionally produced foods. *Food Science and Nutrition*, 42: 1-34.
- Bremner S.M., 1996. Nitrogen Total. En: Sparks, D.L. *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. ASA-SSSA. Madison, WI, 1085-1121.
- Brewer L., Sullivan D.M., 2003. Maturity and stability evaluation of composted yard trimmings. *Compost Science & Utilization*, 2: 96-112.
- Briemer T., 1982. Environmental factors and cultivar measures affecting the nitrate content in spinach. *Fert. Res.*, 3: 191-192.
- Buwalda F., Warmenhaven M., 1999. Growth limiting phosphates nutrition suppress nitrate accumulation in greenhouse lettuce. *Journal of Experimental Botany*, 335: 813-821.
- Cabado C. G., Fracchina A., Chiesa A., 1987. Acumulación de nitrato en espinaca (*Spinacia oleracea L.*). *Horticultura Argentina*, 6: 12-14.
- Cabrera M.L., 2007. Mineralización y nitrificación: Procesos claves en el ciclo del nitrógeno en *Informaciones Agronómicas del cono sur*. 34: 1-9.
- Cánovas J., Molina E., Vicente F., Alcaraz N., Gómez M.C., Angosto P., Navarro J., 2002. Influencia del abonado nitrogenado en un cultivo de pimiento bajo invernadero sobre la producción y la contaminación por nitrato. *Agrícola Vergel. España Año XXI. N° 245*, 292 – 301.
- Cantliffe D.J., 1972a. Nitrate accumulation in spinach grown under different light intensities. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 97:152-154.
- Cantliffe D.J., 1972b. Nitrate accumulation in vegetable crops as affected by photoperiod and light duration. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 97: 414 - 418.

- Cantliffe D.J., 1972c. Nitrate accumulation in spinach crops at different temperatures. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 97: 674 - 676.
- Cantliffe D.J., 1973. Nitrate accumulation in table beets and spinach as affected by nitrogen, phosphorus, and potassium nutrition and light intensity, *Agron. J.*, 65: 563-565.
- Cardoso C.E., Laurent G.C., Rodríguez R.A., Minoldo G.V., 2012. Estimación de nitrógeno potencialmente mineralizable de diferentes enmiendas orgánicas mediante incubación anaeróbica. XIX Congreso Latinoamericano de la ciencia del suelo. Mar del Plata, Argentina. Trabajo completo en CD-ROM.
- Carrasco G., Burrage S., Kazakidou D., 1994. Nitrate accumulation in red chicory (*Cichorium intybus L.*) grown at a low level of light intensity. *Acta Horticulturae*, 61: 274 - 281.
- Carrasco G., Tapia J., Urrestarazu M., 2006. Contenido de nitratos en lechugas cultivadas en sistemas hidropónicos. *IDESIA. Chile*, 1: 25-30.
- Castagnino A.M., 2009. Manual de cultivos hortícolas innovadores. Ed. Hemisferio Sur S.A. 1° ed. Buenos Aires, Argentina, 356 pp.
- Castellanos J.Z., Uvalle Bueno J.X., Aguilar Santelises A., 2000. Manual de interpretación de suelos, aguas agrícolas, plantas y ECP. 2<sup>da</sup> Ed. INIFAP - Gto. Chapingo – Edo de México, 1- 6.
- Cataldo D.A., Haroon M., Schrader L.E., Youngs V.L., 1975. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Science and Plant Analysis*.6: 71-80
- Chacrabarti J., 1989. Composición química de la espinaca. En: Salunke D.K. y Kadan S.S., 2004. Tratado de ciencia y tecnología de las hortalizas. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España, 739 pp.

- Chapin F.S., 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 11: 233-260.
- Chun C., Watanabe A., Kim H. H., Kozai T. and Fuse J., 2000. Bolthing and growth of *Spinacea Oleracea* L. can be altered by modifying the photoperiod during transplant production. *HortScience*, 35: 624- 626.
- Citak S., Sonmez S., 2010. Effects of conventional and organic fertilization on spinach (*Spinacia oleracea* L.) growth, yield, vitamin C and nitrate concentration during two successive seasons. *Scientia Horticulturae*, 126: 415- 420.
- Civeira G., Lavado R.S., 2006. Efectos del aporte de enmiendas orgánicas sobre propiedades físicas e hidrológicas de un suelo urbano degradado. *Ciencia del Suelo*, 24: 123 - 130.
- Climet Morató M.D., Abad M., Aragón P., 1996. El compost de residuos sólidos urbanos (RSU). Sus características y aprovechamiento en la agricultura. Ed. Universidad Politécnica de Valencia, España, 57 pp.
- Código Alimentario Argentino, 2005, 2008. En [http://www.conal.gob.ar/actas/Acta\\_77.pdf](http://www.conal.gob.ar/actas/Acta_77.pdf)
- Conti M., 2000. Principios de la edafología. Ed. Facultad de Agronomía. UBA, Argentina, 430 pp.
- Costa L.L., Frascina A., Chiesa A., 1987. Acido oxálico en espinaca (*Spinacia oleracea* L.). *Horticultura Argentina*, 6: 31-36.
- Crescenzi A., 2008. Determinación del contenido de nitrato en espinaca (*Spinacia oleracea* L.) comercializada en Bahía Blanca en época invernal. Trabajo de intensificación, Dpto de Agronomía, UNS, 42 pp.

- Cutini V. A., 2008. Determinación del contenido de nitrato en acelga (*Beta vulgaris L.* var. *cicla*), comercializada en Bahía Blanca en época invernal. Trabajo de intensificación, Dpto de Agronomía, UNS, 38 pp.
- Dapigny L., Tourdonnet S., Roger Estrade J., Jeuffroy M.H., Fleury A., 2000. Effect of nitrogen nutrition on growth and nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa L.*), under various conditions of radiation and temperature. *Agronomie*, 20: 843-855.
- Daasons S.A., 2013 en [www.daasons.com.ar/ index.php/ Action/bio-organutsa&main/productos](http://www.daasons.com.ar/index.php/Action/bio-organutsa&main/productos).
- Dejonckheere W., Streubaut W., Drieghe S., Verstraeten R., Braeckman H., 1994. Nitrate in food commodities of vegetable origin and the total diet in Belgium, 1992 – 1993. *Microbiologie Aliments Nutrition*, 12: 359-370.
- Di Benedetto A., 2010. Manejo de cultivos Hortícolas. Bases ecofisiológicas y tecnológicas. Ed. Orientación. 1° ed. Buenos Aires, Argentina, 400 pp.
- Domínguez Gento A., Raigón M.D., Terregosa S., Gomes J, Carot J. M., 2005. Efecto del sistema de riego y del cultivo ecológico sobre la asimilación de nitratos. Universidad Politécnica de Valencia. En: <http://fci.uib.es/Servicios/libros/conferencias/seae/Efecto-del-sistema-de-riego-y-de-cultivo-ecologico.cid221878>.
- Dondo G., Rothman S., Tonelli B., Días M., 2004. Evaluación de densidades de siembra en espinaca *Spinacia oleracea L.* bajo cubierta. Libro de resúmenes del XXVI Congreso Argentino de Horticultura, San Luis, 49.

- Doñate M.T., Rodríguez R.A., Sidoti Hartmann B., Luna M., 2010. Efecto de diferentes enmiendas orgánicas sobre la productividad de espinaca de ciclo invernal en cultivo ecológico bajo invernadero. Libro de resúmenes del XXXIII Congreso Argentino de Horticultura, Rosario, Santa Fé, 488.
- Eghball B., 2000. Nitrogen mineralization from field applied beef cattle feedlot manure or compost. Soil Science Society of America Journal, 64: 2024-2030. En: <http://www.agroecology.org/documents/Joji/leafnitrate.pdf>.
- FAO (Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación), 2000. Food safety and quality as affected by organic farming. Twenty Second FAO Regional Conference for Europe. Porto, Portugal, 24- 48.
- FAO (Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación), 2003. Agricultura orgánica, ambiente y seguridad alimentaria. Colección FAO: Ambiente y recursos Naturales N° 4. 881 pp.
- FAO (Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación), 2004. Manual de producción orgánica sostenible. 141 pp.
- Fernández Escartín E. y Peña Cabriales J., 2012. Riesgos microbiológicos en la producción de alimentos frescos en áreas urbanas y periurbanas de América Latina. Ed. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. México. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/141538042/riesgos-microbianos-en-la-produccion-de-alimentos-frescos-en-areas-urbanas-y-periurbanas-de-america-latina>. Consultado el 07/08/2013.
- Ferrato, J.A. y Rodríguez Fazzone M., 2010. Buenas Prácticas agrícolas para la agricultura Familiar. Cadena de las principales hortalizas de hojas en la Argentina. FAO. Argentina, 423 pp.

- FiBl, 2007. La calidad y seguridad de los alimentos ecológicos. Comparación de los sistemas alimentarios 1° Ed. N° 4, 22 pp.
- Filippini M.F, 2006. Contenido de nitratos en alimentos de origen frutihortícola. Disponible en [http:// www.fanus.com.ar](http://www.fanus.com.ar)
- Flórez Serrano J., 2009. Agricultura Ecológica. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España, 395 pp.
- Franzluebbers A.J., 2002. Infiltration and soil structure related to organic matter and stratification with depth. Soil Tillage Research, 66: 97-205.
- Fraschina A., Chiesa A., 1993. Influencia de la fertilización nitrogenada (Urea) en el contenido de aminoácidos en Espinaca (*Spinacia Oleracea L.*). Horticultura Argentina, 8: 28-31.
- Gairola S., Umar S., Suryapani S., 2009. Nitrate accumulation, growth and leaf quality of spinacia beet (*Beta vulgaris L.*) as affected by NPK fertilization with special reference to potassium. Indian Journal of Science and Technology, 2: 35-40.
- Gaviola S., 1996. Factores de manejo que inciden sobre la calidad de las hortalizas. Avances en horticultura. Edición on- line.
- Gennaro L., Quaglia G.B., 2003. Food safety and Nutritional of Organic Vegetables. Acta Horticulturae, 614: 675- 680.
- Giacconi V., Escaff M., 1995 .Cultivo de hortalizas. Ed. Universitaria. 11° Ed. Chile, 337 pp.
- González M., López Frasca A., Maffei J., Alessandro M.S., 2006. Contenido de nitratos en cultivares anuales y bienales de zanahoria. Libro de resúmenes del XXXI Congreso Argentino de Horticultura, Mar del Plata, 353.

Granval N., González M., Maffei J., 2013. Los alimentos orgánicos y la calidad y seguridad alimentaria, 49-53. Consultado Mayo 2013.

En:[http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/revista/ediciones/47/articulos/r47\\_11\\_OrganicosCalidad.pdf](http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/revista/ediciones/47/articulos/r47_11_OrganicosCalidad.pdf)

Gregoire H., Siliquini O., Sacarone J., Cardozo M., 2001. Influencia del sombreado sobre la biomasa y el tenor de nitratos en cultivares de lechuga. Libro de resúmenes del XXVI Congreso Argentino de Horticultura, Jujuy, 71.

Griffin P.M., 1995. Escherichia Coli O157:H7 and other enterohemorrhagic Echerichia Coli. EN Fernández Escartín, E. y Peña Cabrials, J. 2011-2012. Riesgos microbiológicos en la producción de alimentos frescos en áreas en áreas urbanas y periurbanas de América Latina. Ed. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. México.

Grundmann G.L., Renault P., Rosso L., Bardin R., 1995. Differential effects of soil water content and temperature on nitrification and aeration. Soil Science Society of America Journal, 59: 1342-1349.

Guadagnin S.G., Rath S., Reyes F.G.R., 2005. Evaluation of the nitrate content in leaf vegetables produced through different agricultural systems. Food. Addit. Contam. 22: 1203.

Gülser F., 2005. Effects of ammonium sulphate and urea on NO<sub>3</sub> and NO<sub>2</sub> accumulation, nutrient contents and yield critical in spinach. HortScience, 106: 330-340.

Heaton S., 2001. Organic farming, food quality and human health: a review of the evidence. Soil association. Bristol, Great Britain, 87 pp.

- Herencia J.F., García Galavís P.A., Ruíz Dorado J.A., Maqueda C., 2011. Comparison of nutritional quality of the crops grown in an organic and conventional fertilized soil. *HortScience*, 129: 882-888.
- Hill M.J., 1999. Nitrate toxicity: myth or reality. *British Journal Nutrition*, 81: 343-344.
- IFOAM (Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Orgánica), 2002. Normas básicas. [www.ifoam.org](http://www.ifoam.org)
- Illescas E.S., Vesperinas E., 1994. Tratado de Horticultura Herbácea. Hortalizas de hoja, de raíz y hongos. Ed. Aedos. S.A. 1º Ed .Barcelona, España, 312 pp.
- INFOSTAT, 2011. 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. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Irigoyen Iriarte I., 2001. Acumulación de nitrato en espinaca para congelado: Influencia de la fertilización nitrogenada. Tesis doctoral. Universidad Pública de Navarra, España, 173 pp.
- Johnson C.M., Ulrich A., 1959. Analytical methods for use in plant analysis. *Agricultural Experiment Station Bulletin No. 766*. University of California, 766: 25-78.
- Kahnt G., 1989. Abono Verde. Ed. Hemisferio Sur. Montevideo. 156 pp.
- Labrador J., 2002. La materia orgánica en los agrosistemas. Ed. Mundi Prensa. España. 293 pp.
- Labrador J., 2006. Conocimientos, técnicas y productos para la agricultura y la ganadería ecológica. Ed. Sociedad Española de Agricultura Ecológica. España, 423 pp.

- Labrador J., 2008. El compost y su uso en la agricultura ecológica. Revista Vida Rural. N° 273: 34-40.
- Lambers H., Steingrover E., 1978. Growth respiration of a flood intolerant *Senecio* species: Correlation between calculated and experimental values.
- Lazcano C., Arnold J., Tato A., Zaller J.G, Dominguez J., 2009. Compost and vermicompost as nursery pot components: effects on tomato plant growth and morphology. Spanish Journal of Agricultural Research, 7: 944 -951.
- Lea D.J., Mifflin B.J., 1974. Alternative route for nitrogen assimilation in higher plants. Nature, 251: 614-616.
- Lewis O.A., 1986. Plant and nitrogen. Edward Arnold, London, England. 104 pp.
- Maldonado J. M., Agüera E., Pérez Vicente R., 2000. Asimilación del nitrógeno y del azufre. Fundamentos de la fisiología vegetal. Joaquín Azcón - Bieto. Manuel Talón, 235-246.
- Maroto Borrego J.V., 1995. Horticultura herbácea especial. Ed. Mundi Prensa. 2º Ed. España, 610 pp.
- Maroto Borrego J.V., Gómez M. A., Baixauli Soria C., 2000. La lechuga y la escarola. Ed. Mundi-Prensa S.A. Madrid, España, p.116-117.
- Martínez R.M., Miglierina A.M., Luna M., Van Konijnenburg A., Pellejero G., 2009. Evaluación del compostaje del procesamiento de la cebolla. Revista Pilquen. Año X, N° 9, 1-8.
- Marschner H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. 2º ed. London, 889 pp.

- Masarinrambi M.T., Hlawe M.M., Oseni O.T., Sibiya T.E., 2010. Effects of organic fertilizers on growth, yield, quality and sensory evaluation of red lettuce (*Lactuca sativa* L.) “Veneza Roxa”. Agriculture and Biology Journal of North America, 1: 1319-1324.
- Maynard D.N., Barker A.V., Minotti P.L., Peck N.H., 1976. Nitrate accumulation in vegetables. Advances in Agronomy, 28: 71-118.
- Mazzarino M.J., Satti P., Moyano S., Laos F., 2004. Compost de biosólidos: efecto del tamizado sobre la inmovilización del nitrógeno del suelo. Ciencia del Suelo, 1: 19-26.
- Merino D., Ansorena J., 2006. Recomendaciones para el cultivo de hortalizas con bajo contenido de nitratos. Horticultura, 90: 11-20.
- Mezquiriz N., 2007. Espinaca bajo cubierta plástica. Boletín Hortícola. Año 12. Nº 36.
- Miglierina A.M., Ayastuy M.E., Rodríguez R.A., Fernández J.A., Van Koinijnenburg A., 2011. Alternative materials as substrates for seedlings production. Acta Horticulturae, 898: 211-218.
- Mills H.A., Benton Jones J., 1996. Plant analysis. Handbook II. Micro- Macro Publishing, 422 pp.
- Moral-Herrero R., 2007. Manejo, dosificación y gestión agronómica del compost. En: Moreno-Casco, J., Moral Herrero, R. Compostaje. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España, 353-378.
- Mozzicafreddo N., 2006. Contenido de nitrato en espinaca producida al aire libre en ciclo otoño invernal en la región de Bahía Blanca. Trabajo de intensificación, Dpto. de Agronomía, UNS. 45 pp.

- Mubashir M., Malik S.A., Khan A.A., Ansari T.M., Wright S., Brown M.V. and Islam K.R., 2010. Growth, yield and nitrate accumulation of irrigated carrot and okra in response to nitrogen fertilization. *Pakistan Journal Botanical*, 42: 2513-2521.
- Muramoto J., 1999. Comparison of Nitrate content in leafy vegetables from organic and conventional farms in California. Center for Agroecology and Sustainable food systems. Universidad de California, 61 pp.
- Mylavarapu R.S., Zinati G.M., 2009. Improvement of soil properties using compost for optimum parsley production in sandy soil. *Scientia Horticulturae* 120: 426-430.
- Olivares Campos M.A., Hernández Rodríguez A., Vences Contreras C., Jáquez Valderrama J.L., Ojeda Barrios D., 2012. Lombricomposta y composta de estiércol de ganado vacuno lechero como fertilizantes y mejoradores de suelo. *Universidad y Ciencia. México*, 28: 27-37.
- Olsen, S.R. y Sommers. L.E., 1982. Phosphorus Soluble in Sodium Bicarbonate. In: *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chapter 24* .Ed. Page, A.L., Miller R.H. and Keeney, D.R. 421- 422.
- Pellejero G., 2013. Compostaje de residuo de cebolla (*Allium cepa L.*) generado en la planta de empaque y su aplicación agronómica en el valle inferior del Río Negro. Tesis Magíster. Universidad Nacional del Sur. Buenos Aires, Argentina, 138 pp.
- Penttilä P.L., 1995. Estimation of food additive and pesticide intakes by means of stepwise method. Doctoral thesis, University of Turku. Finland. En Tamme T., Reinik M., Roasto M., Meremäe J. and Kiis, A., 2010. Nitrate in leafy vegetables, culinary herbs, and cucumber grown under cover in Estonia: content and intake. *Food Additives and Contaminants*. 2: 108-113.

- Petersen A., Stoltze S., 1999. Nitrate and nitrite in vegetables on the Danish market: content and intake. *Food Additives and Contaminants*, 16: 291-299.
- Pía F., 2005. Huerta Orgánica Biointensiva. Centro de Investigación y Enseñanza en Agricultura Sostenible. Río Negro, Argentina, 225 pp.
- Pierini V., Ratto S., Avedissian F.A., Zubillaga M., Arancio J., 2010. Propiedades físicas de un compost obtenido a partir de residuos de poda. *Revista Facultad de Agronomía, UBA, Argentina* 30: 95-99.
- Porta J., López Acevedo M., Roquero C., 1999. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 2° Ed. Mundi Prensa. Madrid, España. 960 pp.
- Premuzic Z., Brichta J.P., Gárate A., Bonilla I., 2001. Suplementación lumínica y fertilización nitrogenada para la producción y la calidad de lechuga variedad mantecosa. Libro de resúmenes del XXIV Congreso Argentino de Horticultura, Jujuy, 62.
- Primavesi A., 1982. Manejo ecológico del suelo. 5° edic. Ed. El ateneo. Argentina. 495 pp.
- ProHuerta - Ministerio de Desarrollo Social de la Nación, 2012. Plan Operativo Anual 2012. 69 pp.
- Raupp J., 1996. Fertilization effects on product quality and examination of parameters and methods for quality assessment. En: Gairola, S., Umar S., Suryapani, S. 2009. Nitrate accumulation, growth and leaf quality of Spinacea beet (*Beta vulgaris L.*) as affected by NPK fertilization with special reference to potassium. *Indian Journal of Science and Technology*. 2: 35-40.
- Rincón Sánchez L., 2005. La fertilización de la lechuga Iceberg. Ed Consejería de Agricultura y agua de la región de Murcia. España. 183 pp.

- Rivera R., Martín G., Pérez D., 1999. Efecto de la temperatura sobre la mineralización del nitrógeno de dos especies de abonos verdes en suelo ferralítico rojo. *Cultivos tropicales*, 20: 15-19.
- Rodrigo A., Recous. S., Neel C., Mary B., 1997. Modelling temperature and moisture effects on C-N transformation in soil: comparison of nine models. En: Cabrera, M. 2007. Mineralización y nitrificación: Procesos claves en el ciclo del nitrógeno en *Informaciones Agronómicas del cono sur*, 34: 1-9.
- Rodríguez R.A., Ayastuy M.E., Miglierina A M., Lusto J., Lobartini J.C., Landriscini M.R., Crescenci F., 2007. Producción de espinaca en ciclo otoño invernal en la región de Bahía Blanca. Libro de resúmenes del XXX Congreso Argentino de Horticultura, La Plata, p. 85.
- Romaniuk R., Giuffré L., Romero R., 2010. Efecto del agregado de lombricompost sobre propiedades físicas, químicas y biológicas de un Hapludol Típico de la pampa deprimida. *Revista Facultad de agronomía UBA. Argentina*, 30: 85-93.
- Roorda van Eysinga J.P., 1984. Nitrate in vegetables under protected cultivation. *Acta Horticulturae*, 145: 251- 256.
- Rynk R., Van de Kamp M., Willson G.B., Singley M.E., Richard T.L., Kolega J.J., Gouin F.R., Laliberty J., Kay D., Murphy D. W., Hointink H.A.J., Brinton W.F., 1992. *On-farm Composting Handbook*. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Ithaca, New York, 186 pp.
- Sajirani E.B., Shakouri M. J., Mafakheri S., 2012. Response of spinach (*Spinacia oleracea*) yield and nutrient uptake to urea and manure. *Indian Journal of Science and Technology* 1: 1953-1955.

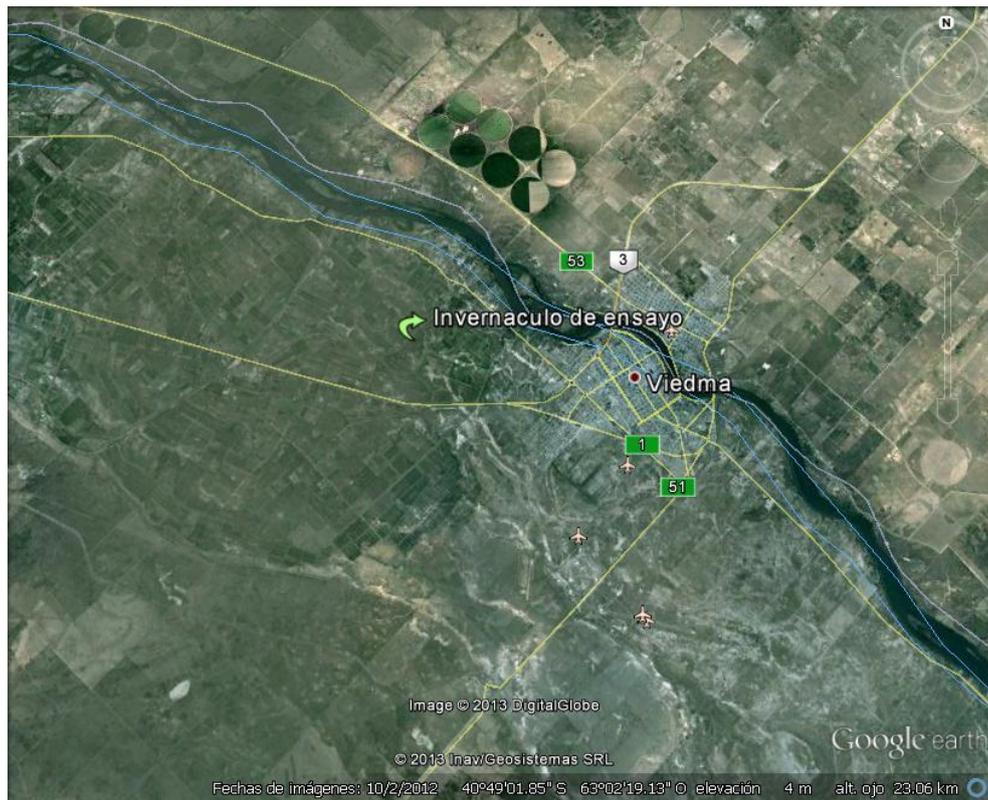
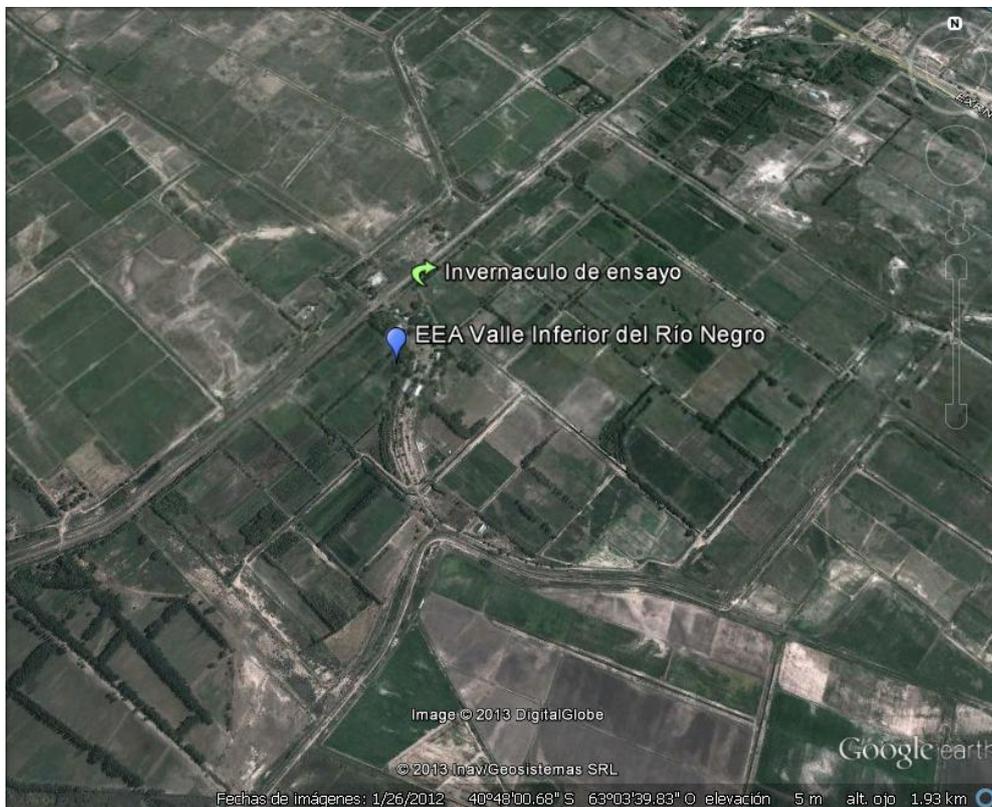
- Salcedo A., Filippini M.F., Salcedo C., Albornoz L., 1999. Evaluación de la calidad intrínseca en la hortaliza de hoja: Contenido de nitrato en deshidratado de espinaca. Libro de resúmenes del XXVI Congreso Argentino de Horticultura San Miguel de Tucumán. 388.
- Salisbury F.B., Ross C.W., 1999. Fisiología vegetal. Ed. Iberoamericana. 757 pp.
- Salunke D.K., Kadan S.S., 2004. Tratado de ciencia y tecnología de las hortalizas. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 739 pp.
- Santamaria P., Elia A., Parente, A., Serio F., 1998. Fertilization strategies for lowering nitrate content in leafy vegetables. *Journal Plant Nutr.*, 21: 1791-1803.
- Santamaria P., Elia A., Serio F., Todoro E., 1999. A survey of nitrate and oxalate content in retail fresh vegetables. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 79: 1882-1888.
- Santamaria P., 2006. Nitrate in vegetables: toxicity, conten intake and EC regulation. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 86: 10-17.
- Santos A. T., 2013. Abonos orgánicos. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. México. Consultado el 6/4/2013 en: <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasCOUSSA/Abonos%20organicos.pdf>.
- Sarli E.A., 1980. Tratado de Horticultura. Editorial Hemisferio Sur S.A. 2º Ed. Buenos Aires, Argentina, 312 pp.
- Seginer I., Van Straten J. and Buwalda F. 1998. Nitrate concentration in greenhouse lettuce: A modeling study. *Acta Horticulturae*, 456: 189-197.
- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria), Resol 423/1992

- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria), 2013. Situación de la Producción Orgánica en la Argentina durante el año 2012. Dirección Nacional de Fiscalización Agroalimentaria. Dirección de Calidad Agroalimentaria. Coordinación de Productos Ecológico. Consultado el 5/6/2013 en [http://www.oia.com.ar/documentos/informe produccion organica 2012.pdf](http://www.oia.com.ar/documentos/informeproduccionorganica2012.pdf)
- Serra X., 1988. Parámetros químicos que informen sobre la maduresa dels adobs organics. Trabajo final de carrera. En: Labrador J., 2002. La materia orgánica en los agrosistemas. Ed. Mundi Prensa. España. 293 pp.
- Siliquini O.A., Grégoire H.C., Scarone J.G., 2001. Cultivo de espinaca. Respuesta a la fertilización nitrogenada en la zona semiárida pampeana. Revista Produciendo, Año VIII N° 68, 31-33.
- Sívorí E.B., Montaldi E.R., Caso O.H., 1999. Fisiología Vegetal. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. 681 pp.
- Steingrover E., Ratering P., Siesling J., 1986. Daily changes in uptake, reduction and storage of nitrate in spinach grown at low light intensity. *Physiol. Plantarum*, 66: 550-556.
- Tamme T., Reinik M., Roasto M., Meremäe J., Kiis, A., 2010. Nitrate in leafy vegetables, culinary herbs, and cucumber grown under cover in Estonia: content and intake. *Food Additives and Contaminants*. 2: 108-113.

- Tauscher B., Brack G., Flachowsky G., Hening M., 2003. Bewertung von Lebensmitteln verschiedener Produktionsverfahren. Sonderbericht. Senatsarbeitsgruppe. Qualitative Bewertung von Lebensmitteln aus alternativer und konventioneller Produktion. En Dossier FiBl. 2007. La calidad y seguridad de los alimentos ecológicos. Comparación de los sistemas alimentarios 1° Ed. N°4, 22 pp.
- Tester C. F., 1990. Organic Amendment Effects on Physical and chemical properties of a Sandy Soil. Soil Science Society of America Journal, 54: 827-831.
- Tiquia S.M., 2002. Evolution of extracellular enzyme activities during manure composting. Journal of Applied Microbiology, 92: 764-775.
- Tiquia S.M., Wan J.H.C., Tam N.F.Y., 2002. Dynamics of yard trimming composting as determined by dehydrogenase activity, ATP content, arginine ammonification, and nitrification potential. Process Biochemistry, 37: 1057-1065.
- Tognetti C., 2007. Compostaje de residuos orgánicos urbanos: Optimización del proceso para una mayor calidad del producto final. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Comahue. Río Negro, Argentina. 175 pp.
- Tonelli B., Rothman S., Dondo G., Baldón V., 2005. Evaluación de densidades de plantación en espinaca (*Spinacia oleracea* L.) a campo. Libro de resúmenes del XVIII Congreso Argentino de Horticultura. Río Negro, Argentina, p. 208.
- Ullé, J.A. 1998. Evaluación de hortalizas de hojas, en sistemas de transplante con incorporación de enmienda orgánica. Libro de resúmenes del XXI Congreso Argentino de Horticultura, San Pedro, Buenos Aires, 127.
- UE, 2005. Regulación N° 1822/2005. Diario oficial de la Unión Europea.

- Urbano P., 2002. Fitotecnia: Ingeniería en la producción vegetal. Ed. Mundi Prensa. Madrid. 528 pp.
- Van Konijnburg A., Sidoti Hartman B., Martínez R.M., 2005. Unidad demostrativa de producción orgánica de hortalizas y semillas en el Este Rionegrino. Libro de resúmenes del XXVIII Congreso Argentino de Horticultura, General Roca, Río Negro, 323.
- Vázquez C., Oromí P., 1989. Caracterització de la fracció mineral de fems i composts de diversos orígens. En: Labrador J., 2002. La materia orgánica en los agrosistemas. Ed. Mundi Prensa. España. 293 pp.
- Velimirov A., Muller W., 2003. Die qualitat biologisch erzeugter lebensmittel. En: Dossier FiBL. 2007. La calidad y seguridad de los alimentos ecológicos. Comparación de los sistemas alimentarios 1º Ed. Nº 4, 22 pp.
- Vigliola M.I., 2003. Manual de Horticultura. Ed. Hemisferio Sur, 5º reimpresión. Buenos Aires, Argentina. 235 pp.
- Villalba S., 2006. Fertilización y contenido de nitrato en lechuga de ciclo invierno primaveral al aire libre en la región de Bahía Blanca. Trabajo de intensificación. Dpto. de Agronomía, UNS. 44 pp.
- Willer H., Lernoud J., 2012. Organic Agriculture Worldwide: Current Statistics. Research Institute of Organic Agriculture (FiBL), Frick, Switzerland. BioFach Congress Nürnberg, Session. The World of Organic Agriculture. Consultado el 10/9/2012 en [www.organic-world.net](http://www.organic-world.net).
- Willer H., Lernoud J., 2013. The World of Organic Agriculture The Results of the Latest Survey on Organic Agriculture Worldwide. Consultado el 5/6/2013 en: <http://orgprints.org/22324/1/willer-lernoud-2013-world-of-organic.pdf>

- Woese K., Lange D., Boess C., Anderner B.K., 1997. A comparison of organically and conventionally grown foods results of a review of the relevant literature. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 74: 281-293.
- Worthington V., 2001. Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables and grains. *Journal Alternative Complement. Med.*, 7:161-173.
- Xu H.L., Wang R., Xu R.Y., Mridha M.A.U., Goyal S., 2005. Yield and quality of leafy vegetables grown with organic fertilizations. *Acta Horticulturae*, 627: 25-33.
- Zhou Z.Y., Wang M.J., Wang J.S., 2002. Nitrate and nitrite contamination in vegetables in China. *Food. Rev. Int.* 16: 61-76. En: Anjana, Umar S., Iqbal M., 2006. Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications. *Agronomi Sustain New Delhi, India*, 45-57.
- Zoppolo R., Faroppa S., Bellenda B., García M., 2008. *Alimentos en la Huerta. Guía para la Producción consumo saludable*. Ed. INIA. Montevideo, Uruguay, 208 pp.

**ANEXO 1: Ubicación de la EEA Valle Inferior donde se realizaron los ensayos.****Figura 32.** Imagen satelital de ubicación en relación a la ciudad de Viedma**Figura 33.** Imagen satelital de ubicación del invernáculo experimental

## ANEXO 2: Registros de variables ambientales

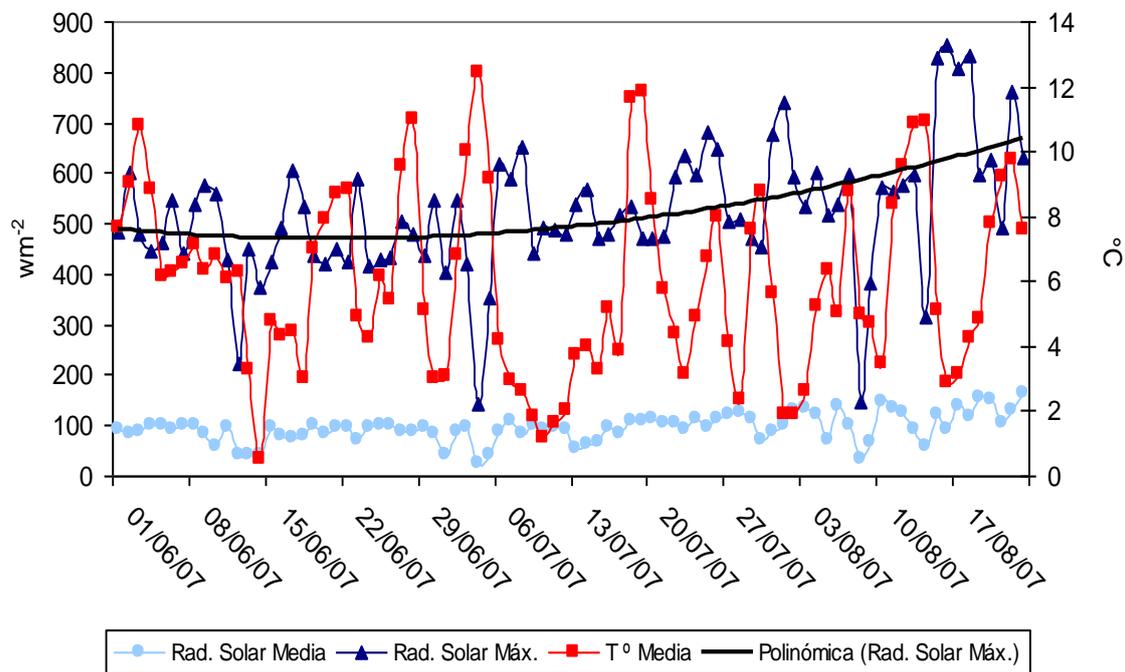


Figura 34. Temperatura y radiación registradas en el ciclo otoño-invierno 2007.

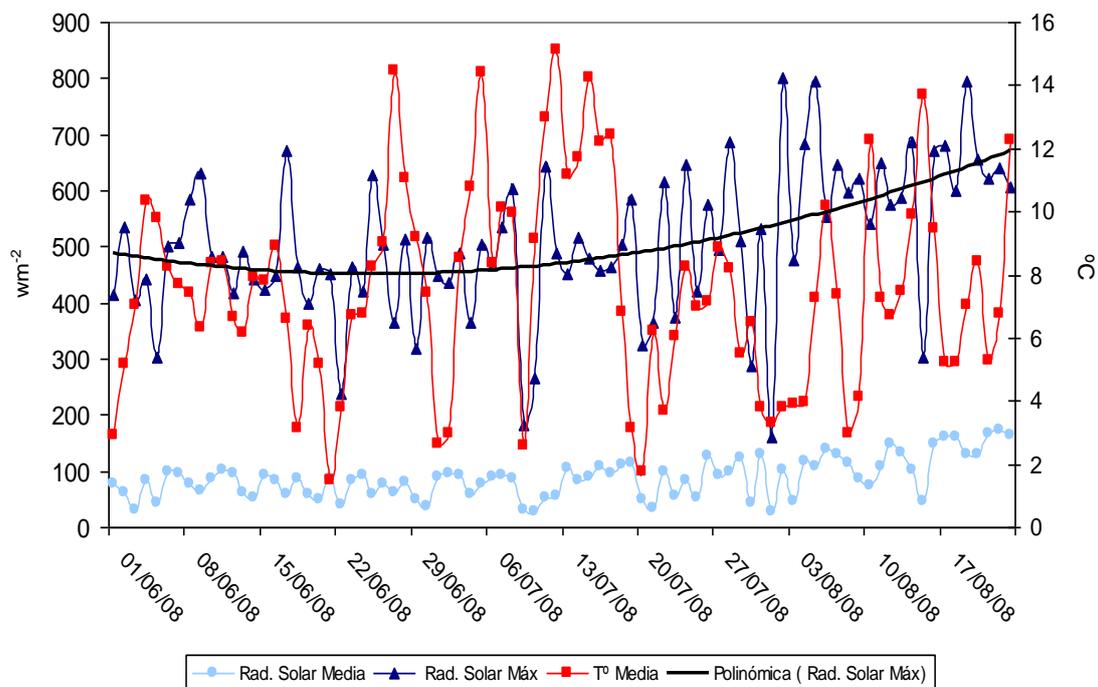
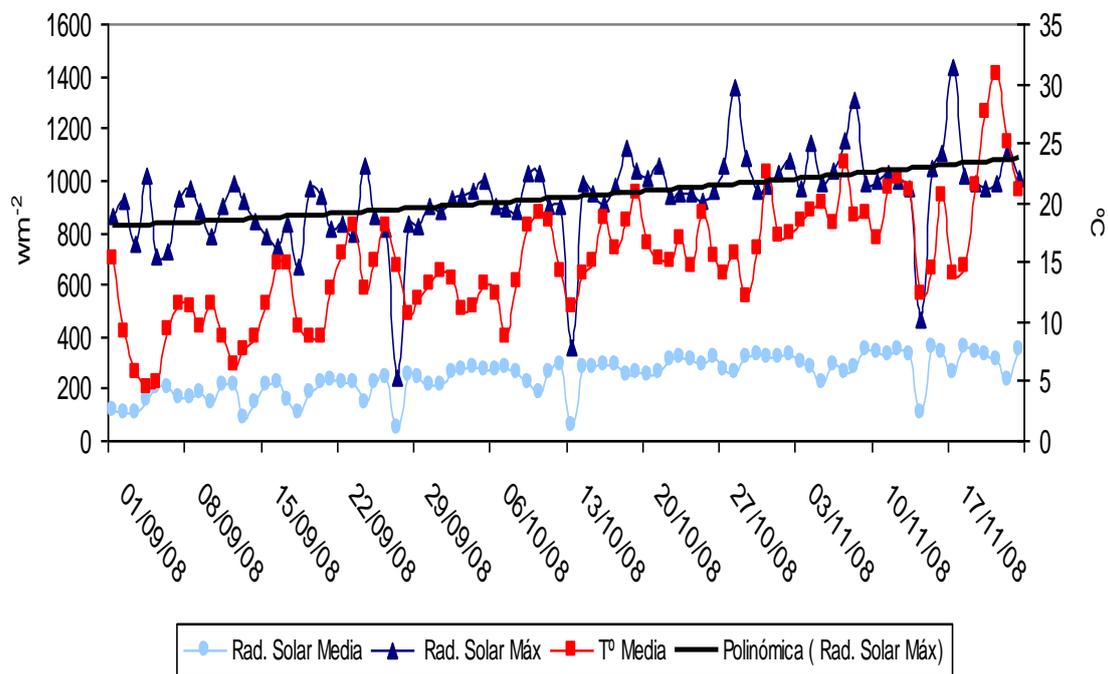
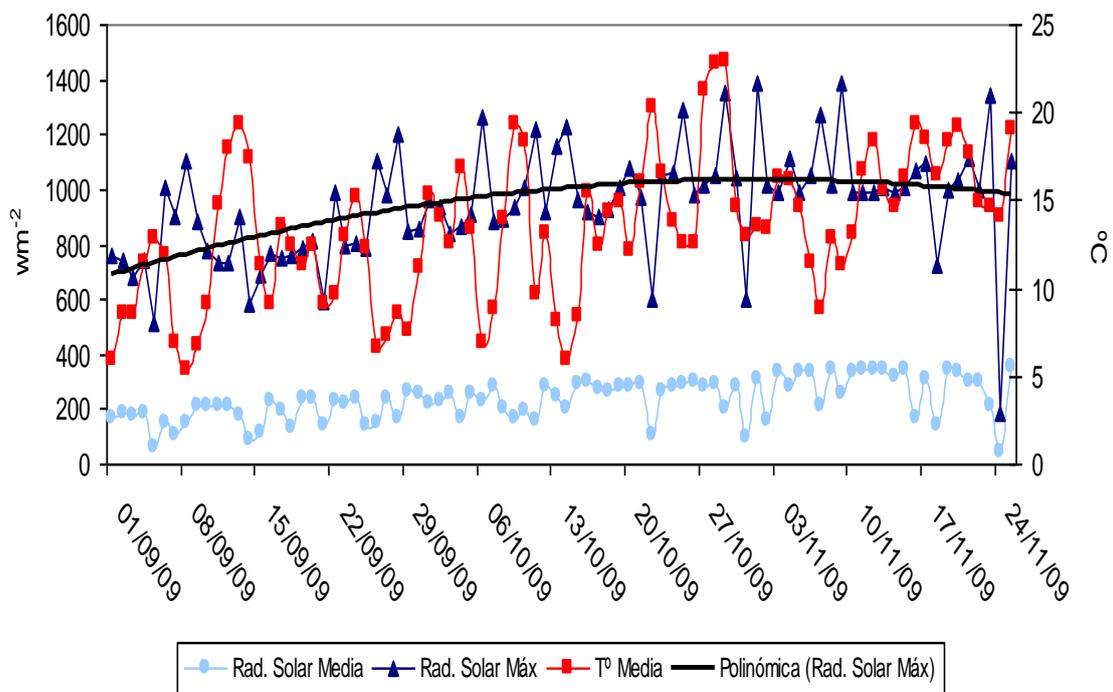


Figura 35. Temperatura y radiación registradas en el ciclo otoño-invierno 2008.



**Figura 36.** Temperatura y radiación registradas en el ciclo primavera 2008.



**Figura 37.** Temperatura y radiación registradas en el ciclo primavera 2009.

**ANEXO 3: Fotos**

**Figura 38.** Invernadero experimental. Módulo Agroecológico.



**Figura 39.** Incorporación de enmiendas orgánicas en las parcelas de ensayo



**Figura 40.** Sistema de riego y acolchado de polietileno.



**Figura 41.** Plantines en bandejas de germinación.



**Figura 42.** Transplante del cultivo



**Figura 43.** Parcelas luego del transplante



**Figura 44.** Cultivo desarrollado



**Figura 45.** Momento de cosecha



**Figura 46.** Desarrollo de la planta al momento de cosecha



**Figura 47.** Toma de muestras



**Figura 48.** Cultivo florecido del ciclo primavera 2008