

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Departamento de Fisiología y Bioquímica

CENTRO UNIVERSITARIO DE GUANTÁNAMO

Facultad Agroforestal de Montaña

USO AGRÍCOLA DE LOS BIOSÓLIDOS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS Y SU EFECTO EN ALGUNAS PROPIEDADES DEL SUELO Y LA RESPUESTA FISIOLÓGICA DEL TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill).

Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas.

Autor: Ing. Enio Utria Borges

Tutores: Dra C. Inés Ma Reynaldo Escobar

Dr C. Juan Adriano Cabrera Rodríguez

Dr C. Donaldo Morales Guevara

LA HABANA

2006

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a lo infinito positivo que late dentro de cada uno de nosotros, los seres humanos, a mi pueblo, el cual me ha nutrido de su cultura, idiosincrasia y costumbres, a mi patria, que me ha regalado lo más limpio de los siglos, a nuestro Comandante en jefe, que de modo directo y convincente ha guiado a mi país por la senda de la historia, en todo en el que crea en la juventud del presente como guía del mañana, a quien no sobre ni vacile en desdoblarse esfuerzos, a quien entregue su vida diaria por la más justa de las causas, nuestra revolución.

A todos los héroes y mártires de la patria, que con su sangre y ejemplo posibilitaron la sucesión de un estado revolucionario en el cual hemos podido realizar nuestros estudios.

A la continuidad de perfeccionamiento de la ciencia y la técnica en el Ministerio de la Agricultura.

A mis familiares, especialmente a la memoria de mi difunta madre, mi difunta abuelita, a mi querida hija y a mis queridos hermanos, por haberme educado bajo los principios de la Revolución y brindarme todas y cuales fueran las ayudas necesarias para mi formación.

A mi querida compañera “Mayelín Destrade Mejías”, que no por ser citada de último deja de ser lo más importante en mi vida y mi máxima inspiración en mis esfuerzos.

AGRADECIMIENTOS

Quien hoy y siempre haya decidido vivir al margen del destino de los demás, no tendrá la fuerza ideal de enfrentar la dialéctica de la vida de los hombres; a pesar de eso, no podemos vivir aislados los unos de los otros y quien lo intente no alcanzará nunca el objetivo anhelado, por tanto será un individuo frustrado.

La realización de este trabajo no está exento de esta unidad, del optimismo y la voluntad real del hombre, puesto que si bien el protagonista de este trabajo ha sido el autor, también lo han sido valiosos compañeros a los cuales le agradezco con mucho respeto y sinceridad.

Con particular énfasis debo resaltar la colaboración de mis tutores la Dra C. Inés Maria Reynaldo Escobar, el Dr C. Juan Adriano Cabrera Rodríguez y el Dr C. Donaldo Morales Guevara, a quienes jamás podré valorar lo suficiente la dedicación y el optimismo con que encausaron esta obra conjunta.

Agradezco al INCA protagonizado por su director el Dr C. José Roberto Martín Triana, excelente dirigente, sagaz y certero en la toma de decisiones.

Agradezco a todos los integrantes de los departamentos de ICT, Fitotecnia, Genética, Biofertilizantes y Nutrición de las plantas, Matemática Aplicada, Economía, ATM y Recursos Humanos. A los compañeros de la Subdirección de Economía y servicios con diferentes secciones, Transporte, Servicios Internos, Mantenimiento y Construcción. Al grupo de Protección y seguridad, por su ayuda y por acogerme entre ellos todos estos años.

En especial agradezco al Dpto de Fisiología y Bioquímica (mi departamento): A Aida Tania Rodríguez, Daimy Costales, Daymi Camejo, Lisbel Martínez, Ofelia Sam, Miriam Núñez, Ileana Hernández, Gretel Gómez, Yuliem Medero, Ramona Márquez, María C. Nápoles, Idioleydis Álvarez, Yuliet González, Inés Maria Reynaldo, Yenisel de la Rosa, Mayelín Margaron, Elisa Ravelo, Gisela Martínez, Marisol Velásquez, Lisbet Sardiñas, Belkis Morales, Nuvia Ramírez, Yanet Mora, Alicia Hernández, Walfredo Torres, Alejandro Falcón, Miguel A. Ramírez, Juan C. Cabrera, Pedro Rodríguez, Juan Hugo Hernández, Jorge Luis Menéndez, Luis M. Mazorra, Eduardo Jerez, Omar Cartaya, Donaldo Morales, José Dell'Amico, Humberto Izquierdo, Ramón Iglesias, Luis Álvarez, Idamel Sierra, Adonis Suárez. Por hacerme sentir como un trabajador más del departamento y del INCA.

Agradecimientos

Y agradezco a muchos más compañeros: a Lucila y Roberto del CENSA; a Nereida Álvarez, del laboratorio de Higiene y Epidemiología de Güines; a la Lic. Ada Morúa, jefa de la EDAR “Quibú”; al Dr C. Eduardo Ortega y los compañeros del Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de la Habana. Al Dr C. Olegario Muñiz, del Instituto de Suelos “La Renée”; al Dr C. Noel Arozarena, del INIFAT; a las Licenciadas Maritza Planes Leyva, Sandra Goffe Mirleyda Gainza y demás profesores, por su aporte en mi formación profesional desde el antiguo Centro Universitario de Montaña “Sabaneta”; al Dr C. Lázaro Eduardo Pulido, de la UNICA; a los Dr C. Luperio Barroso y Manuel C. Riera, mis compañeros de la FAM del CUG; al Ms C. Novel Rovirosa, Jefe de proyecto de la DIP Almendares; a los Dr C. Luis Manuel González (El Chino), Luis Larramendi y Ramiro Ramírez, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias “Jorge Dimitrov”, de Granma.

A los compañeros de la Estación Experimental del Arroz “Los Palacios”, UDG, UNICA, UNAH, UH. A los compañeros del CIL en Moa, en especial a Raquel, Alberto, Marlenis, Leticia, entre otros. A los compañeros del CUG, en especial a los de la FAM.

A mi querida amiga Ing. Liset Conde Rodríguez, por su apoyo y ayuda sin limitación en cualquier situación de la vida.

Al Dr C. Juan Adriano Cabrera, su esposa Nancy Marrero y su hijo Fabián, por su ayuda y compartir conmigo parte de mi vida en La Habana.

A Aida Tania Rodríguez y su madre Lourdes Pedroso y hermana Tamara Rodríguez, por el amor demostrado y por su ayuda en los precisos momentos que la necesité.

A mi querida cuñada Odalis Destrade, a su hija Keylan Mario y su compañero Vicente Romero, por brindarme su mano incondicionalmente.

A mi gran amigo Ángel Yuset Gasquéz y familia, por su ayuda y amistad a través de muchos años.

A Maria del Rocío Jara, a Alejandro Carvajal y familia de México y Cuba, por su cariño respeto y ayuda.

A mi gran amigo Zoilo Terán, por su ayuda y amistad compartida.

De Venezuela al Ms C. Eugenio Montilla mi amigo en lo personal y le doy las gracias porque a pesar de estar lejos, siempre estuvo al tanto de mi situación y las de mis compañeros acá en el INCA.

Agradecimientos

De España, a la Ing. Rosario Miralles, del INIA, por su ayuda incondicional y desinteresada; al Dr C. Walter Ingrid, también del INIA y a la Dra C. Maria José Polo, de la Universidad de Córdoba en España, por su ayuda y contribución al desarrollo de mi tesis.

De México, a los compañeros Ernesto Toledo, Francisco Cruz, Gerardo Torres, Reynerio A. Bran, J. Merced Tapia y Omar Pérez y de Alemania, a Antje, Jannette, Bárbara y demás amigos, los cuales compartieron momentos de su estancia conmigo en el INCA

De Canadá, a Erin Nelson por su amistad y preocupación por sus amigos de Cuba.

De Brasil, al Dr C. Cristiano Alberto de Andrade, por su ayuda en la obtención de información acerca de mi tema de tesis.

A mi querida compañera Ing. Mayelín Destrade, por su apoyo incondicional, por su amor, paciencia y comprensión. Por darme y a la vez recibir confianza, por poder contar con ella en cualquier circunstancia de la vida.

A mi hija por haberse criado sin mi calor desde su nacimiento el 9 de Octubre de 1993 y quien a pesar de eso me dice “Papi”.

A todos los compañeros que están (Abady, Moisés, Alexander, Tania, Deya, Ariel, Migue, Silva, Paneque, Lescay, Sergio, Lázarito, Michel) y a los que han hecho estancias en la casa de Post-grado del INCA durante mi permanencia (2000-2006), por hacerme más ameno los largos años lejos de mis familiares y seres queridos.

A todos los estudiantes y profesores y demás compañeros que aportaron un granito de arena, por muy pequeño que fuese en mi formación profesional, desde mis estudios primarios.

A quienes me alentaron

A los que confiaron en mí, aún cuando yo no confiaba.

A todos ellos.

Muchas gracias.

SÍNTESIS

Con el objetivo de evaluar la factibilidad del uso agrícola de los biosólidos de aguas residuales urbanas procedentes de la Estación Depuradora de Aguas Residuales “Quibú”, se desarrolló el presente trabajo investigativo en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Los biosólidos obtenidos mediante digestión anaeróbica, se caracterizaron de acuerdo a sus contenidos de nutrientes y materia orgánica oxidable (MO), los cuales son comparables con los abonos orgánicos utilizados frecuentemente en la agricultura y los contenidos de metales pesados (MP) y de microorganismos patógenos están por debajo de los niveles máximos permisibles por las leyes de varios países. La aplicación de estos residuos provocó que el pH del suelo tomara valores ligeramente básicos y aumentó el contenido de MO, fósforo (P) y calcio (Ca) en el sustrato, a la vez, que fueron incrementados los niveles de nitrógeno (N), P y proteínas en los órganos vegetales, logrando el mayor desarrollo vegetativo de las plantas de tomate cuando se trató el suelo con 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo. La aplicación de biosólidos en condiciones de abastecimiento hídrico limitado influyeron de forma favorable en la conservación de la humedad del sustrato y las relaciones hídricas y el desarrollo vegetativo de las plantas. La aplicación de biosólidos al suelo con diferentes frecuencias, incrementó los contenidos totales de cobre (Cu), níquel (Ni) y cinc (Zn) y disminuyó los de hierro (Fe) y manganeso (Mn) en los sustratos y los diferentes órganos de las plantas, pero las concentraciones encontradas no representaron un riesgo de fitotoxicidad ya que fueron inferiores a los niveles considerados como máximos permisibles para este tipo de suelo y para las plantas de tomate. Las poblaciones de microorganismos que participan en los diferentes ciclos de nutrientes en los suelos se incrementaron y las poblaciones de patógenos fueron mínimas y en algunos casos nulas y el efecto positivo de la aplicación de esos residuos orgánicos en las propiedades químicas y microbiológicas del suelo y el rendimiento de las plantas se prolongaron por tres años, cuando se aplicó sólo el primer año de la experimentación; sin embargo, cuando se aplicó tres años consecutivos se evidenciaron sus mayores efectos sobre estas variables. De forma general, se demostró que el uso de los biosólidos con fines agrícolas es una alternativa viable y susceptible de ser puesta en práctica en sistemas de explotaciones agrícolas.

ABREVIATURAS

Ψ_g	Potencial gravitacional
Ψ_h	Potencial hídrico foliar
Ψ_m	Potencial matricial
Ψ_p	Potencial de turgencia
Ψ_s	Potencial osmótico real
Ψ_{ss}	Potencial osmótico saturado
ABA	Ácido abscísico
Ad	Área de los discos foliares
AEnr	Actividad de la enzima nitrato reductasa
As	Arsénico
ATP	Adenosina trifosfato
Bi	Bismuto
Ca	Calcio
Cd	Cadmio
CE	Conductancia estomática
Co	Cobalto
Cr	Cromo
CRA	Contenido Relativo de Agua
Cu	Cobre
CO ₂	Dióxido de carbono
C ₅ H ₉ NO ₄	Ácido glutámico
ddg	Días después de la germinación
dnh	Días después de impuestos los tratamientos de niveles de humedad
EDAR	Estación Depuradora de Aguas Residuales
Fe	Hierro
H	Hidrógeno
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HClO ₄	Ácido perclórico
HF	Ácido fluorhídrico
HNO ₃	Ácido Nítrico
HCl	Ácido clorhídrico
Hg	Mercurio
K	Potasio
Msd	Masa seca de los discos foliares
Mg	Magnesio
Mn	Manganeso
MO	Materia orgánica
Msf	Masa seca foliar
N	Nitrógeno
NH ₄ ⁺	Amonio
Ni	Níquel
NO ₃ ⁻	Nitrato
NH ₄ OAc	Acetato de amonio

P	Fósforo
PA_{evt}	Pérdidas de agua por evapotranspiración cada dos días
Pb	Plomo
Phs	Porcentaje de humedad del sustrato
RAF	Relación de Área Foliar
Se	Selenio
Sf	Superficie foliar
TAN	Tasa de Asimilación neta
TRC	Tasa Relativa de Crecimiento
UFC	Unidades formadoras de colonias
Zn	Cinc



1. INTRODUCCIÓN

La necesidad de preservar el ambiente de la contaminación, exige la depuración de las aguas residuales urbanas antes de ser vertidas a los cauces receptores, en este proceso se generan elevadas cantidades de residuos orgánicos llamados lodos de depuradoras, biosólidos o fangos (Da Silva y col., 2001 y Cuevas y Walter, 2004). El volumen de producción de biosólidos llega a convertirse en un grave problema en ciudades muy pobladas y su disposición se hace cada vez más urgente a medida que el crecimiento demográfico se acelera (Delgado y col., 2002a).

Para darle un destino adecuado a estos residuos han sido puestas en práctica algunas alternativas: el vertido a los océanos, ríos y lagos es una práctica prohibida por las leyes de diferentes países, por causar serios problemas al ambiente; la incineración, es una alternativa práctica pero no económica y mediante esta gestión se generan gases contaminantes a la atmósfera; con el depósito en vertederos controlados se desaprovechan los elementos benéficos presentes en estos residuos. La utilización agrícola con sus distintas variantes (jardinería, agroforestería, etc) es la alternativa más adecuada, por ser éstos residuos una fuente potencial de materia orgánica (MO) y elementos nutrientes esenciales para las plantas (Polo y col., 1998; Beltrán y col., 2002 y Nascimento y col., 2004).

Por otra parte, debido al alto costo de los fertilizantes orgánicos y el deterioro progresivo de la fertilidad natural de los suelos por el empleo casi exclusivo e inadecuado de los fertilizantes minerales, internacionalmente se le ha prestado en los últimos años un marcado interés al uso de los residuos orgánicos, incluyendo los biosólidos, en la fertilización de los cultivos agrícolas (Miralles y col., 2003). Además, con esta práctica se disminuye el peligro que representan estos residuos como contaminantes del ambiente y se aprovecha un recurso de bajo



costo, que adicionalmente mejora las propiedades químicas, físicas y biológicas de los suelos (Aggelides y Londra, 2000; Selivanovskaya y col., 2001).

En Cuba, existen siete *Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales* (EDAR) con una producción anual estimada de 9 600 toneladas (Rovirosa, 2005, comunicación personal). Si bien, por ahora los volúmenes de biosólidos no son tan elevados, en un futuro cuando se terminen y entren en funcionamiento las plantas de los ríos Luyanó y Martín Pérez, además de otras inversiones previstas dentro del programa de recuperación de la bahía de La Habana, sólo en la capital podrían generarse entre 10 000 y 15 000 toneladas anuales (Peláez, 2003).

Sin embargo, hasta el momento no se hace un uso racional de estos biosólidos a pesar de que son utilizados por unos pocos parceleros de zonas aledañas a la EDAR, ya que previo a esta investigación estos residuos solamente se encontraban caracterizados desde el punto de vista de la eficiencia tecnológica de la planta depuradora y además no se cuenta con informaciones acerca del impacto que éstos pueden provocar en los suelos donde se aplican y más grave aún en las plantas que en ellos se desarrollan.

Las mejoras que proporcionan la aplicación de biosólidos al suelo incrementan la producción de biomasa y el rendimiento de las plantas (Brofas y Alifragis, 2000; Cogger y col., 2001). Sin embargo, su aplicación en los suelos agrícolas presenta algunos aspectos negativos, como son: la presencia de *metales pesados* (MP) (Walter y col., 2002) y microorganismos patógenos (Dumontet y col., 2001), los cuales pueden influir negativamente en las propiedades de los mismos y la calidad de las cosechas en las plantas de cultivo (Miralles y col., 2002b), de éstos, la presencia de MP representa el principal factor limitante para el uso de



los biosólidos en la agricultura (Delgado y col., 2000 y Illera y col., 2001).

Entre estos MP existen algunos como el Cu, Zn, Ni, Fe y Mn que son elementos esenciales para las plantas y su deficiencia afecta el comportamiento de las mismas; mientras que, si se encuentran en exceso implican riesgos de fitotoxicidad (Martins y col., 2003; Passos y col., 2004). Existen otros como el Pb, As, Hg y Cd que no tienen funciones fisiológicas reconocidas y su presencia en el suelo siempre será un riesgo potencial de contaminación, ya que pueden acumularse y contaminar los suelos (Anjos y Mattiazzo, 2001), las aguas y los alimentos (Keller y col., 2002).

Por otro lado, en busca de un mayor ahorro económico, estos residuos se deben aplicar en los lugares más cercanos a las plantas depuradoras de donde son obtenidos, representando una fuente potencial de MO y nutrientes para los sistemas de explotaciones agrícolas en áreas urbanas (hortalizas, huertos intensivos, organopónicos, patios, jardinería, entre otros).

El tomate es ampliamente utilizado como planta indicadora debido a que es exigente a niveles de nutrición mineral apropiados (Hernández y Chailloux, 2001). En ciertas circunstancias puede ser considerado como indicador de niveles relativamente altos de MP en los suelos, fundamentalmente Ni y Cu (Fabiszewski y col., 1987; Marrero, 2005). Es muy sensible a los cambios de humedad en los suelos (Dell'Amico, 1992; Reynaldo y col., 2002). Además, en Cuba constituye la principal hortaliza, tanto por el área que ocupa como por su producción y comprende aproximadamente el 50% del área total de éstas (Moya y col., 2001; Terry y col., 2001), sembrándose en el año 2005 aproximadamente 60 000 hectáreas (FAO 2005).

En consideración a lo planteado anteriormente y a la tendencia mundial de la producción sostenible y ecológica de alimentos con el menor costo



e impacto negativo al ecosistema, se formuló la siguiente hipótesis:

El uso agrícola de los biosólidos de aguas residuales urbanas influye positivamente en las propiedades químicas y microbiológicas de los suelos, así como, en las relaciones hídricas, el crecimiento, el desarrollo y el rendimiento de las plantas

Sobre la base de la hipótesis señalada, se planteó como objetivo general:

Evaluar la factibilidad del uso agrícola de los biosólidos procedentes de la Estación Depuradora de Aguas Residuales “Quibú”, como una opción para su evacuación y una fuente alternativa para mejorar las propiedades químicas y microbiológicas de los suelos y su efecto en las relaciones hídricas, el crecimiento, el desarrollo y el rendimiento de las plantas, utilizando como modelo el sistema suelo Ferralítico Rojo compactado eútrico cultivado de tomate.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar química y microbiológicamente los biosólidos de la Estación Depuradora de Aguas Residuales urbanas “Quibú”.
- Determinar el efecto de la aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas en el desarrollo vegetativo de las plantas de tomate.
- Evaluar la influencia de la aplicación de biosólidos en la conservación de la humedad de los sustratos y las relaciones hídricas y el desarrollo vegetativo de las plantas de tomate, en condiciones de abastecimiento hídrico limitado.
- Determinar el efecto acumulativo y residual de la aplicación de biosólidos en las propiedades químicas y microbiológicas del suelo, el rendimiento de las plantas de tomate, la calidad de los frutos y el



contenido de Cr, Cu, Ni, Zn, Co, Mn, Fe y Pb en los órganos vegetales.

NOVEDAD CIENTÍFICA

- Se caracterizan química y microbiológicamente los biosólidos procedentes de la Estación Depuradora de Aguas Residuales urbanas “Quibú”, y se establece su factibilidad de aplicación en la agricultura como una opción para su evacuación, a partir de su contenido en MO, macronutrientes, metales pesados y microorganismos patógenos y benéficos.
- A escala internacional, se determina el efecto de la aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas en la conservación de la humedad de un suelo Ferralítico Rojo compactado eútrico, bajo condiciones de abastecimiento hídrico limitado y su absorción por las plantas, mediante la evaluación de las relaciones hídricas y el desarrollo vegetativo del tomate.
- A escala internacional, se informa sobre el efecto acumulativo y residual de los biosólidos de aguas residuales urbanas aplicados con diferentes frecuencias en el pH y el contenido de materia orgánica, macronutrientes, metales pesados y microorganismos benéficos y patógenos en un suelo Ferralítico Rojo compactado eútrico y el rendimiento, la calidad de los frutos y la acumulación de metales pesados en diferentes órganos de plantas de tomate.



2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Los biosólidos de aguas residuales urbanas, composición y gestión.

La Federación Ambiental del Agua (Water Environment Federation) en 1993 definió a los biosólidos como los lodos producidos por los sistemas de tratamientos biológicos de las aguas residuales, hasta que los mismos tuvieran una finalidad útil. Este término es reservado para un producto estabilizado y su composición depende del tipo de proceso utilizado para el tratamiento de las aguas residuales y de las características de las fuentes generadoras, ya sea, de origen doméstico o industrial (Barreto, 2001).

Ortiz y col., (1995) los definieron como los residuos sólidos remanentes del proceso de tratamiento de aguas de desechos, que están compuestos por materia orgánica residual semidescompuesta, microorganismos, compuestos no biodegradables y/o potencialmente tóxicos y sales inocuas y/o potencialmente tóxicas que se han removido durante el tratamiento.

Delgado y col., (1999); Calvo y Walter, (2002) y Zanz, (2002) definieron a los biosólidos como la materia contaminante desechable de las aguas residuales, que tras un proceso de depuración ha sido transformada en sólidos, los cuales deben tener un tratamiento y disponerse de ellos de la manera más adecuada posible. La MO procedente de estos residuos urbanos puede ser objeto de empleo agrícola, pues contiene la totalidad de los elementos considerados como esenciales para el desarrollo de las plantas, destacándose su elevada concentración en N, la cual es del orden de un 3%.

NOM-004-ECOL (2001) definió a los biosólidos como sólidos con un contenido variable de humedad, provenientes del desazolve de los sistemas de alcantarillados urbanos o municipales, de las plantas potabilizadoras y del tratamiento de aguas residuales.



En resumen, los biosólidos no son más que los residuos orgánicos enriquecidos en nutrientes, derivados del tratamiento de las aguas residuales urbanas, que son estabilizados mediante un proceso biológico (digestión aeróbica o anaeróbica) para cumplir con un estricto criterio de calidad y poder ser aplicados en suelos agrícolas. El término biosólidos proviene del método más común que se utiliza para su obtención, el cual consiste en el procesamiento biológico de los sólidos procedentes del tratamiento de las aguas residuales.

Desde el punto de vista agrícola, los biosólidos ocupan un lugar destacado, debido a su elevado contenido en MO y fitonutrientes (macro y micro) y a su continua y creciente producción en los núcleos urbanos. Los mismos son candidatos idóneos para ser sustitutos casi inagotables de los enmendantes orgánicos tradicionales, tales como las turbas, residuos de cosechas y los diferentes estiércoles de origen animal, por lo que su uso agrícola puede solucionar un doble problema: el medioambiental, derivado de su acumulación en núcleos urbanos y el planteado por el déficit de MO de los suelos agrícolas.

Estos biosólidos, además de MO y fitonutrientes, contienen componentes problemáticos como MP, contaminantes orgánicos y microorganismos patógenos. Esta composición no sorprende dado su origen, pero es evidente que con un mejor control de las aguas vertidas y de los métodos de depuración, se puede potenciar el valor de los componentes útiles y disminuir la peligrosidad de los otros (Soliva, 2000).

La composición de estos residuos es muy variada y está determinada por el efluente a tratar y la tecnología empleada en su tratamiento. A modo de ejemplo se recogen los valores encontrados por algunos autores para varios indicadores de interés agronómico en estos residuos orgánicos (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Composición química de algunos biosólidos de aguas residuales urbanas.

Indicador		Biosólidos de aguas residuales urbanas					
		I	II	III	IV	V	VI
pH		8,52	8,2	7,4	6,3 (CaCl ₂)	6,3	6,5
MO	(%)	46,1	57,4	46	52,36	30,8	20,6
N		2,64	4,20	3,9	2,91	0,46	2,68
P		1,35	4,9	6,4	0,60	-	-
K		1,11	0,27	0,4	0,13		
Ca		3,21	4,70	6,7	2,08	1,31	2,15
Mg		1,20	1,28	-	0,35	-	-

I, Andrade y col., (2000); II, Miralles y col., (2002a); III, Miralles y col., (2002b); IV, Aparecida y De Castro, (2002); V y VI, Boeira y col., (2002).

Como se puede observar, los biosólidos pueden utilizarse como sustitutos totales o parciales de los fertilizantes nitrogenados y fosfóricos. Los niveles de K son relativamente bajos ya que este elemento forma sales solubles que permanecen en su mayor parte en las aguas ya depuradas, una vez finalizado el proceso de depuración que da origen a los biosólidos.

La evacuación de los biosólidos ha sido en la historia de la humanidad un problema, debido al poder contaminante de los mismos, los cuales atentan contra el medio ambiente y la salud humana de forma general. Durante décadas las opciones para la gestión de los biosólidos fueron: el vertimiento al mar; el depósito en vertederos controlados y la incineración, entre otras. Actualmente, la disposición de estos residuos en suelos agrícolas es una práctica frecuente (Cuevas y col., 2003) y una alternativa viable, ya que además de disminuir su potencial de contaminación, se aprovecha la MO y los elementos nutrientes contenidos en ellos (Soliva, 2000; Pomares y Canet, 2001; Binder y col., 2002; Oliveira, 2002; Bontoux y col., 2003; Skousen y Clinger, 2003).



En Cuba, existen siete Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales con una producción anual estimada de 9 600 toneladas, tres de ellas se encuentran en la Ciudad de la Habana y un grupo de pequeñas plantas en Varadero, Cayo Coco y Cayo Ramona. Actualmente está en proyecto la construcción de nuevas EDARs en la capital y en el oriente del país. En la capital, las estaciones a construir se encargarán de tratar aguas residuales de los afluentes que vierten directamente a la bahía de La Habana y al río Almendares (Roviroso, 2005, comunicación personal).

2.2 Gestión de los biosólidos de aguas residuales urbanas con fines agrícolas.

El aprovechamiento agrícola de los biosólidos, al igual que el de otros residuos orgánicos, debe realizarse en un marco global de gestión de MO y fitonutrientes, en el cual se debe tener siempre presente la protección de los recursos naturales: suelo-agua-planta.

El suelo por su capacidad autodepuradora es un medio capaz de degradar residuos orgánicos y reciclar elementos nutritivos a través de las plantas, por lo que éste puede ser un buen receptor de residuos orgánicos: tiene la capacidad de transformar algunos de los componentes, o de inmovilizar a otros, pero también tiene un límite de capacidad, de la que no se puede abusar. El uso indiscriminado de biosólidos en suelos agrícolas puede llevar a las alteraciones de sus propiedades físicas, físico-químicas, químicas y biológicas, a la contaminación de las aguas subterráneas y de ciertas plantas o de la cadena trófica.

En la gestión de los biosólidos concurren algunas circunstancias: por una parte el bajo o nulo costo del residuo para el usuario, y por otra, la urgencia por parte de los gestores de las EDARs en eliminar unos residuos molestos, que propician en muchos casos, el que su aprovechamiento no sea el adecuado, lo que puede redundar en efectos



desfavorables sobre la producción agrícola, la salud humana y la calidad medioambiental.

El programa de gestión de los biosólidos con fines agrícolas puede realizarse siguiendo dos tipos de enfoques: normativo y agronómico (BOE, 1990).

2.2.1 Enfoque normativo para el uso agrícola de los biosólidos de aguas residuales urbanas.

Debido a los riesgos que puede implicar la aplicación de biosólidos en los suelos de uso agrícola, varios países han trazado pautas para minimizar el impacto negativo que su aplicación pueda acarrear. Para su cumplimiento es imprescindible conocer las características químicas, físicas, físico-químicas y biológicas de los biosólidos y de los suelos.

En el proceso tecnológico de obtención de biosólidos se añaden microorganismos que remueven los contaminantes orgánicos e inorgánicos de las aguas residuales y los transforman en compuestos medioambientalmente aceptables (Ramothokang y col., 2003). Dentro de los contaminantes inorgánicos, los MP son los más persistentes por lo que las dosis máximas admisibles de biosólidos se obtienen mediante el criterio de los MP.

En Cuba no existen pautas de aplicación y dosificaciones de estos residuos, por lo que se utilizó como referencia las establecidas en España de acuerdo con las normas legales vigentes en el Real Decreto 1310/1990 (BOE, 1990).

2.2.2 Enfoque agronómico para el uso agrícola de los biosólidos de aguas residuales urbanas.

El objetivo de la gestión de los biosólidos en la agricultura es obtener el mejor aprovechamiento posible de los recursos contenidos en los mismos (MO y elementos nutrientes) con el mínimo riesgo sanitario y/o medioambiental.



En el enfoque agronómico la dosificación de los biosólidos puede realizarse siguiendo tres tipos de criterios: el del N, el del P y el de la MO.

El Criterio del N: consiste en calcular la dosis de aplicación de biosólidos a partir de su contenido en N y las necesidades de éste por las plantas. Este criterio es más utilizado que los otros criterios agronómicos.

Las razones de esto se deben, principalmente a que el N es el elemento mineral que más limita el crecimiento de los cultivos (Johannes y col., 2000) y el de mayor demanda por las plantas, constituye del 16 al 18 % de la masa de las proteínas y es el principal elemento del protoplasma. A medida que aumenta el suministro de nitrógeno hasta un límite máximo permisible, las proteínas sintetizadas por las plantas, se transforman en crecimiento de las hojas, aumentando la superficie fotosintética y finalmente todo esto se traduce en una mayor capacidad bio y agroproductiva de las plantas (Rojas, 1993).

Otra de las razones de porque se utiliza este criterio es que las formas de N son fácilmente transformable y de gran movilidad en los suelos, lo que puede provocar la contaminación del suelo, el agua y el aire. Mediante este criterio se obtienen normalmente dosis de biosólidos más altas que con los otros criterios.

Con el Criterio del P, las dosis de aplicación de biosólidos se obtienen en base a las necesidades de las plantas y al contenido en P de los mismos. Pero, teniendo en cuenta las bajas necesidades relativas de las plantas en P y el alto contenido que suelen presentar los biosólidos, las dosis resultantes suelen ser bajas. No obstante, el criterio del P es el recomendable en aquellos suelos que presentan bajos niveles de P asimilable.

El criterio de la MO se utiliza teniendo en cuenta los niveles relativamente altos de MO en los biosólidos y el efecto positivo de la misma en las propiedades químicas, físicas, fisico-químicas y biológicas



de los suelos (Illera y col., 2000). Este criterio se debe aplicar en los casos de aplicaciones puntuales, como las realizadas en el abonado de fondo antes de la plantación, en cítricos, frutales, viñedos, etc., ya que en este tipo de aplicaciones se pueden aceptar dosis que excedan a las obtenidas según el criterio del N.

2.3 Beneficios de la aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas en la agricultura.

2.3.1 Efecto del uso agrícola de los biosólidos en las propiedades de los suelos.

El bajo contenido de MO de los suelos (natural o debido a pérdidas) es un grave problema para asegurar el mantenimiento de buenas propiedades de los mismos. Si con la aplicación de biosólidos de aguas residuales se pretende la recuperación de suelos degradados, bien para reforestar, bien para conservar una cubierta vegetal autóctona y evitar así la continuación de los procesos degradativos, puede ser más lógico el empleo de residuos frescos (no compostados) que permitan, debido a su contenido de *carbón* (C) fácilmente degradable, un gran desarrollo microbiano en poco tiempo y reactivar; por tanto, los ciclos de los nutrientes en los suelos.

El efecto más importante de la aplicación de biosólidos en los suelos es el incremento que se produce en el contenido de MO. Este incremento dependerá de las características del suelo, de las dosis del material orgánico aplicadas y de las formas y frecuencias de las aplicaciones (Douglas y col., 2001). Respecto al efecto de estos residuos en el contenido y formas de sustancias húmicas del suelo, la información existente es escasa. Ferreira (2000) indicó que la incorporación de biosólidos tiende a aumentar el contenido de sustancias húmicas en los suelos. González y col., (1986) y Hernando (1988) observaron que estos materiales incorporados en el suelo, incrementan ligeramente los



porcentajes de H y N de los ácidos húmicos, lo que implica un mayor tamaño de partícula y de su peso molecular.

Los biosólidos al igual que otros residuos orgánicos urbanos aumentan los contenidos de macro y micronutrientes del suelo, debido a que estos elementos se presentan en cantidades importantes en los citados residuos (Douglas y col., 2001). Los mismos aportan N y P mayoritariamente en formas orgánicas; mientras que, el resto de los macronutrientes son aportados en formas inorgánicas. La eficiencia de estos residuos como fertilizantes depende de diversos factores tales como el tipo de suelo y de cultivo, entre otros (Gallardo y Nogales, 1987). A pesar de ello, una ventaja de los residuos orgánicos urbanos frente a los fertilizantes minerales es el ser una fuente gradual de nutrientes (Kropisz y Rusell, 1978).

Otro de los principales efectos de la aplicación de estos residuos orgánicos en los suelos es la mejora que producen en sus propiedades físicas. La MO de los residuos urbanos reduce la densidad aparente de los suelos, hecho atribuible a la baja densidad de estos productos y a su tendencia a aumentar el espacio poroso (Aggelides y Londra, 2000; Beutler y col., 2002), influye positivamente en la formación y estabilidad de los agregados (Marciano y col., 2001; Martins y col., 2003), mejora el balance hídrico de los mismos al aumentar su capacidad de retención hídrica (Marciano y col., 2001; Barbosa y col., 2002; Beutler y col., 2002; Martins y col., 2003), mejora la estructura, permeabilidad y poder de amortiguamiento (Ortiz y col., 1995) y aumenta la porosidad total y la macroporosidad de los suelos (Mathan, 1994 y Martins y col., 2003).

El aporte de biosólidos también influye positivamente en la microflora del suelo, activándola e incrementando sus poblaciones, debido a la mayor disponibilidad de una fuente de carbono fácilmente degradable y a un lecho adecuado para su desarrollo, condicionado por las mejoras que producen estos residuos orgánicos en las propiedades físicas de los



suelos. Este aumento se traduce, a su vez, en un incremento de la actividad de las enzimas y el contenido de metabolitos en el suelo.

Las enzimas son responsables de la mayor parte de las reacciones que intervienen en los procesos de mineralización e inmovilización de los nutrientes en el suelo y, por tanto, están en relación con la disponibilidad de los mismos para las plantas (Perucci, 1990). Algunos de los metabolitos liberados por los microorganismos (vitaminas, aminoácidos, entre otros) y moléculas de bajo peso molecular procedentes de la mineralización de la MO pueden influir de forma positiva y directa en el crecimiento vegetal (Abuzio y col., 1989). También es importante indicar que parte de estas enzimas quedarán protegidas de la degradación e inactivación, al quedar inmovilizadas por la fracción húmica de la MO incorporada, mediante la formación de complejos tipo enzima-humus (Burns, 1978.)

2.4 Respuestas de las plantas a la aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas al suelo.

Como se destacó anteriormente, la disposición final de biosólidos en el suelo aumenta la fertilidad del mismo, estimula su actividad microbiana y mejora sus propiedades físicas, lo que establece complejas relaciones que influyen marcadamente en la respuesta de las plantas. En este sentido, diversos trabajos han sido publicados en los cuales se muestran los efectos beneficiosos del uso agrícola de los biosólidos en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas.

Gómez y col., (1994) informaron del incremento significativo del número de frutos y el rendimiento por planta de tomate cultivadas en un suelo abonado con lodos de depuradoras, en comparación con el alcanzado por las plantas desarrolladas en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral.

Awad y col., (1995) publicaron que la aplicación de 350 toneladas de biosólidos por hectárea resultó en un incremento significativo en la



producción de biomasa en árboles de manzana (*Malus domestica* Borkh).

Pedreno y col., (1996) encontraron que el rendimiento del tomate fue claramente favorecido por la fertilización con biosólidos y no se observaron diferencias con otros tratamientos con fertilizante orgánico.

Akrivos y col., (2000) encontraron que la aplicación de biosólidos en tres suelos alcalinos incrementó significativamente el rendimiento de plantas de algodón (*Gossypium spp.*).

Gazete (2001) encontró que la aplicación de biosólidos como fuente de N incrementó el rendimiento del grano y el ensilaje del maíz (*Zea Mays* L.), lo que indicó que el valor fertilizante de los biosólidos es comparable con el del fertilizante mineral comercial.

Darren y col., (2002) observaron un incremento del rendimiento de las plantas de maíz y sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) debido al uso más eficiente de las fuentes de nitrógeno provenientes de la aplicación de biosólidos en el suelo.

Vega y col., (2004), informaron que la aplicación de biosólidos anticipó el primer corte, aumentó la producción de biomasa, el área foliar y el ahijamiento de plantas de pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth).

2.5 Factores limitantes del uso agrícola de los biosólidos de aguas residuales urbanas.

Los biosólidos de aguas residuales urbanas pueden actuar como fertilizante organo-mineral y acondicionante de los suelos. Sin embargo, algunos de estos residuos presentan restricciones para su uso agrícola, lo que depende del contenido de MP, sustancias tóxicas, existencia de microorganismos patógenos, exceso de nutrientes o deficiencia de los mismos, presencia de materias no biodegradables, salinidad, entre otros riesgos.

De estos factores, la presencia de MP constituye la principal limitante para su uso agrícola.



2.5.1 Los metales pesados en los biosólidos.

Se denominan *metales pesados* (MP) a los elementos que químicamente tienen una densidad igual o superior a 5 g cm^3 cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalinotérreos). Los MP son, principalmente: Cd, Hg, Pb, Cu, Ni, Zn, Bi, Fe, Co, Mn, As y Cr (López, 2001).

El exceso o la presencia de dichos elementos en los suelos, los que al ser absorbidos primeramente por los organismos y las plantas que en el se desarrollan y después, por los organismos que engrosan la cadena trófica, pueden ocasionar alteraciones o trastornos en su metabolismo.

Los agentes y las vías de contaminación por MP en las aguas residuales de origen urbano son igualmente diversos, donde se destacan los vertidos ilegales a las redes de alcantarillados de aceites lubricantes usados con altos contenidos de plomo, pilas botón con elevados niveles de Ni, Cd o Hg procedentes del ámbito doméstico, la corrosión de tuberías y depósitos metálicos y, sobre todo, los procesos industriales (Chicón, 2000), los cuales producen las mayores emisiones de MP al ambiente, entre los que se destacan el Cd, Pb, Fe, Hg, Mn, Cr y Ni (Cervantes y Moreno, 1999), quienes también mencionan que existen otras fuentes de MP como las lavanderías, ya que el detergente contiene As, Zn, Cr y Hg.

Los MP pueden acumularse en el suelo después de repetidas aplicaciones de biosólidos y su concentración podría alcanzar niveles que son tóxicos a los organismos del suelo y a las plantas. Esta toxicidad podría variar con el tiempo debido a factores cinéticos o factores abióticos tales como las heladas, la sequía, las precipitaciones, entre otros (Fjällborg y col., 2005)

Cada metal por naturaleza tiende a comportarse de manera diferente, por lo que en suelos con características diversas la acumulación de metales varía. Chicón (2000) mencionó algunos factores que él



consideró determinantes en la movilidad de MP en suelos tratados con biosólidos, dentro de los cuales se encuentran: pH, contenido de MO, la presencia en las aguas subterráneas de carbón orgánico disuelto, potencial redox, el tratamiento del suelo con óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso y la presencia de apatitas e hidroxiapatitas con la aplicación de los biosólidos a suelos calizos. De estos factores, el pH es considerado uno de los que más influye en los niveles de estos elementos en las plantas. En este sentido, Tsakelidou y col., (1999) encontraron una correlación negativa entre el pH del suelo y el contenido de Mn y Fe en plantas de maíz.

Debido al peligro potencial que representa la acumulación de MP en los suelos para la cadena trófica, varios países han trazado pautas en la cantidad de estos elementos que pueden ser introducidos en los suelos según su uso.

La Norma Mexicana define los *límites máximos permisibles* (LMP) como el valor de un parámetro, el cual no debe ser excedido por los biosólidos para que puedan ser dispuestos o aprovechados (NOM-004-ECOL-2001). Es de extrema importancia conocer los límites máximos permisibles de los MP en estos residuos, ya sea para su disposición final en áreas de confinamiento o en terrenos agrícolas, dado que altas concentraciones pueden causar fitotoxicidad. Los LMP de MP en biosólidos propuestos por la Unión Europea se presentan en las **Tablas 2 y 3**.



Tabla 2. Valores máximos permisibles de metales pesados en biosólidos propuestos en la Unión Europea, según la Directiva 86/278/EEC, (Bontoux y col., 2003).

Metales	En suelos	En biosólidos
	(mg kg ⁻¹ de masa seca)	
Cd	1-3	20-40
Cu	50-210	1000-1750
Ni	30-112	300-400
Pb	50-300	750-1200
Zn	150-450	2500-4000
Hg	1-1.5	16-25
Cr	100-150	1000-1500

Tabla 3. Valores máximos permisibles de metales pesados en los suelos utilizados con fines agrícolas (BOE, 1990). (mg.kg⁻¹ masa de suelo seco)

Metales	Suelo con pH menor de 7	Suelo con pH mayor 7
Cd	1,0	3,0
Cu	50,0	210,0
Ni	30,0	112,0
Pb	50,0	300,0
Zn	150,0	450,0
Hg	1,0	1,5
Cr	100,0	150,0

2.5.2 Efecto de la aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas en la concentración de metales pesados en el sistema suelo-planta

Aspectos relacionados con los efectos de los MP provenientes de los biosólidos en los cultivos agrícolas, han sido estudiados por varios



autores, quienes han encontrado que la aplicación de estos residuos a largo plazo puede causar una acumulación significativa de estos elementos en los suelos y las plantas. Sloan y *col.*, (1997) encontraron que 15 años de aplicación de biosólidos produjo una relativa acumulación de MP procedentes de estos residuos en un orden secuencial decreciente: $Cd > Zn > Ni > Cu > Cr > Pb$.

Otros resultados fueron informados por Anjos y Mattiazzo (2001) quienes evidenciaron niveles de algunos MP por encima de los LMP por la USEPA (1993) y la directriz de la Comunidad Europea (Hall, 1998), citado por Illera y *col.*, (2001), producido por la aplicación de biosólidos al suelo. Mientras que, Martins y *col.*, (2003) y Passos y *col.*, (2004) encontraron incrementos en los contenidos de MP en plantas de maíz desarrolladas en un suelo tratado con biosólidos.

Incrementos de la concentración de Zn y Cu han sido observados en suelos tratados con biosólidos y en las plantas desarrolladas sobre éstos (Reed y *col.*, 1991; Barbarick y *col.*, 1998 y Nyamangara y Mzezewa, 1999), mientras sólo se observaron variaciones muy leves en la concentración de Cr, Pb, Ni, Cd y Hg (Barbarick y *col.*, 1998; Selivanovskaya y *col.*, 2001).

2.5.2.1 Fitotoxicidad por metales pesados

Los mecanismos de fitotoxicidad de los diferentes iones metálicos pueden ser tan diversos como sus propiedades químicas, especialmente la valencia, el radio iónico y la capacidad para formar complejos orgánicos. Sin embargo, un exceso de estos iones metálicos o quelatos de metal solubles puede inducir en las plantas una serie de alteraciones bioquímicas y fisiológicas las cuales presentan algunas características comunes (Ferreira y Pessoa da Cruz, 1991; Martínez, 2004).

- ♦ daños celulares
- ♦ alteraciones en las actividades enzimáticas.
- ♦ inhibición del crecimiento vegetal.



♦ inducción de estrés oxidativo

Estos eventos primarios conducen a fenómenos tales como:

- anomalías en la distribución del balance hormonal
- deficiencia de nutrientes esenciales
- inhibición de la fotosíntesis
- cambios en la traslocación de fotoasimilatos
- alteraciones en las relaciones hídricas etc.

Todo esto conduce, finalmente, a una reducción del crecimiento inducido por los metales. Por ello, a la hora de considerar las acciones fisiológicas hay una serie de puntos claves a tener en cuenta:

- ♦ Mecanismos de absorción, transporte y acumulación de los MP por las plantas
- ♦ Mecanismos primarios de toxicidad a escala molecular, celular y subcelular
- ♦ Mecanismos de respuesta homeostática.
- ♦ Mecanismos de resistencia frente al metal pesado.

Al nivel de la planta los síntomas más visibles de la fitotoxicidad por MP incluyen:

- Reducción del crecimiento, fundamentalmente de las raíces
- Clorosis
- Necrosis de las hojas
- Síntomas de senescencia y abscisión

Dentro de estos el síntoma más característico es la reducción del crecimiento radical, aunque la longitud de la raíz es ampliamente utilizada para evaluar la tolerancia de las plantas a la presencia de MP, las causas de la disminución en la elongación de la raíz y sus consecuencias para la planta completa, aún no están totalmente dilucidadas.

Un efecto importante es el que ejercen los MP sobre muchas enzimas, las que no siguen un patrón uniforme. Asimismo, mientras que para un



grupo de ellas los MP inhiben su acción, en otros actúan induciendo la enzima, aunque su acción depende del tipo de ión y de la especie vegetal estudiada.

La enzima superóxido dismutasa-Mn es inducida en plantas de chícharo (*Pisum sativum* L.) expuestas a altos niveles de Zn y Mn (Del Río y col., 1985). Leidi y col., (1987) también encontraron alta actividad de esta enzima en genotipos de soya (*Glycine max* L.) crecidos en exceso de Mn.

Otras de las consecuencias directas de los niveles tóxicos de MP en plantas son los cambios estructurales y metabólicos, evidenciados por la alteración en la regulación del balance de distribución de los asimilatos entre los diferentes órganos de las plantas y el fuerte desequilibrio que se crea en el balance de distribución de nutrientes y en sus interacciones.

Las altas concentraciones de Ni en plantas de maíz reducen la producción de materia seca, especialmente en el sistema radical, el cual acumula grandes cantidades del ión, mientras que se produce una acumulación foliar de fenoles solubles, almidón y azúcares reductores y una disminución severa del contenido de clorofila. La acumulación de carbohidratos en los ápices pudiera explicar la inhibición producida en el crecimiento radical (Cuevas y Walter, 2004).

Los desequilibrios entre los distintos elementos minerales, como consecuencia de la acción de los MP, presentan también una gran diversidad de modelos, con correlaciones tanto sinérgicas como antagónicas, según los elementos.

En este sentido, Schwarzerová y col., (2002) encontraron que la combinación de Al y Fe en exceso, en células de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) conduce a la pérdida de la integridad de la membrana plasmática lo que conduce directamente a la muerte celular y a la inhibición del crecimiento.



Las plantas no responden de igual manera ante la presencia de MP en los suelos, la respuesta de las mismas ante estos elementos está relacionada, además de los diferentes factores externos, con factores internos del vegetal, dentro de los cuales se encuentra sus potencialidades genéticas, las cuales varían entre especies e incluso entre variedades de la misma especie. Existen especies que excluyen la absorción y acumulación de ciertos MP en sus tejidos; mientras que, existen otras que pueden incluirlos y acumularlos en niveles relativamente altos, dentro de estas últimas se encuentran las plantas hiperacumuladoras. En este sentido, Cunningham y Ow (1996) informaron como algunas Brasicas (*Brassica juncea*, *B. rapa* y *Thlaspi caerulenscens*) pueden acumular en sus tejidos Cd y Zn en concentraciones de 175 y 52 000 mg.kg⁻¹, respectivamente.

2.6. Relaciones hídricas en las plantas.

La MO contenida en los biosólidos puede ser una fuente alternativa para minimizar los efectos negativos del déficit hídrico en los suelos al influir favorablemente en la capacidad de retención de humedad de los mismos. Por otra parte, el agua juega un papel preponderante en la fisiología vegetal, por lo que es de interés dedicar un epígrafe a dar una breve introducción sobre las evaluaciones que se realizan para conocer el efecto de la aplicación de biosólidos al suelo y en el estado hídrico de las plantas.

La respuesta de las plantas a la deficiencia hídrica en los suelos es evaluada frecuentemente utilizando parámetros relacionados directamente con el estado hídrico, el crecimiento y el metabolismo del vegetal.

El agua es el componente mayoritario en la planta, ya que su contenido se estima entre 80 a 90% de la masa fresca en las herbáceas y más del 50% en las leñosas; ésta influye, directa o indirectamente en la mayoría de los procesos bioquímicos y fisiológicos del vegetal. Además es el



principal componente de las plantas, cumple múltiples funciones que son vitales para su desarrollo, tales como la disolución de sustancias, sirve como medio de transporte, participa activamente en reacciones químicas y es responsable de la turgencia de las células, que da rigidez a la planta (Martín y Valero, 1993), por lo que un déficit hídrico puede traer consigo reducciones significativas en el crecimiento, el desarrollo y la capacidad reproductiva de las plantas.

Esta sustancia en su forma líquida permite la difusión y el flujo en masa de solutos, por esta razón es considerada esencial para el transporte y distribución de nutrientes y metabolitos en toda la planta. También es importante en las vacuolas de las células vegetales ya que ejerce presión sobre el citoplasma y pared celular, manteniendo así la turgencia en hojas, raíces y otros órganos. Por estas razones, es que varios autores consideran que la fisiología vegetal es en gran medida el estudio de las relaciones hídricas (Galego, 1998).

Las relaciones hídricas vienen determinadas por una serie de factores ambientales y fisiológicos, entre los que Jones (1990) y Morales (1999) distinguen cuatro grupos de procesos que influyen en el balance hídrico vegetal:

- *Agua del suelo.* La disponibilidad de agua del suelo varía en función de diversos factores como pueden ser: las aportaciones de agua a través del riego o las precipitaciones, características físico-químicas del suelo (textura, estructura, profundidad, etc), clima, disponibilidad de O_2 y la distribución y actividad radical.
- *Tasa de evapotranspiración.* Las pérdidas de agua que sufren tanto las plantas como el suelo también están determinadas por una serie de factores ambientales (radiación, humedad relativa, temperatura, viento) y fisiológicos (superficie foliar, arquitectura de la planta, nivel de conductancia).



- *Conductividad hidráulica de raíces, tallos y hojas.* Ésta depende directamente de las características físico-químicas de los tejidos vegetales e influye en la velocidad de transporte de agua a través de la planta y en el equilibrio hídrico de los diferentes órganos.
- *Relación entre el potencial hídrico y otras medidas del estado hídrico (potencial de turgencia, potencial osmótico o contenido relativo de agua).* Esta se ve afectada por diversos factores como ajuste osmótico, la modificación del tamaño celular o la elasticidad de las paredes celulares.

En las plantas, el contenido hídrico depende del balance entre la tasa de pérdida de agua vía transpiración y la toma de agua por las raíces (Gavande y Taylor, 1967). El estudio del continuo suelo-planta-atmósfera (Philip, 1966) permite explicar el movimiento del agua desde el suelo hasta las raíces y a través de la planta, hasta el aire, de forma que al estudiar el balance hídrico en las plantas se establece la necesidad de considerar todos los aspectos de las relaciones hídricas. Así mismo, el flujo de agua se expresa según la ecuación:

$$\text{Flujo} = \frac{\Psi_{\text{suelo}} - \Psi_{\text{raíz}}}{r_{\text{suelo}}} = \frac{\Psi_{\text{raíz}} - \Psi_{\text{xilema}}}{r_{\text{raíz}}} = \frac{\Psi_{\text{xilema}} - \Psi_{\text{hojas}}}{r_{\text{xilema}}} = \frac{\Psi_{\text{hojas}} - \Psi_{\text{aire}}}{r_{\text{hoja+aire}}}$$

donde: Ψ , potencial y r , resistencia.

2.6.1. Indicadores utilizados para evaluar el estado hídrico de las plantas.

2.6.1.1 Potencial hídrico foliar (Ψ_h) y sus componentes.

La medida del potencial hídrico como medida del estado de energía libre del agua es aplicable a las células vegetales (Shaffer y Whiley, 2002). El potencial hídrico foliar total se puede dividir en varios componentes, donde cada uno de ellos es relevante en un sistema particular:

$$\Psi_h = \Psi_p + \Psi_s + \Psi_m + \Psi_g$$

donde: Ψ_h , Ψ_p , Ψ_s , Ψ_m y Ψ_g , representan los potenciales hídrico, de turgencia, osmótico, matrico y gravitacional.



El término Ψ_g (potencial gravitacional) queda restringido a plantas de gran altura (Fiscus y Kaufman, 1990) y/o cuyas raíces son más profundas (Connor *et al.*, 1977). El potencial de turgencia (Ψ_p) se debe a la presión en exceso de una atmósfera sobre el sistema y, por lo tanto es positivo, salvo en caso de succión o tensión. El potencial osmótico (Ψ_s), es la fuerza de atracción del agua, ejercida por los solutos de la célula, y se corresponde con el concepto más antiguo de potencial osmótico, en las células adquiere valores del orden de -3 a -20 atmósferas (atm). El potencial matricial (Ψ_m) representa la capacidad de atracción del agua por fuerzas de adsorción y capilaridad y es igualmente negativo.

Para la determinación del estado hídrico de una planta frecuentemente se recurre a medir su potencial hídrico. Las técnicas más utilizadas en la determinación del potencial hídrico son las cámaras de presión, el psicrómetro y, muy limitadamente, la prensa hidráulica (Morales, 1999). El instrumento más extendido para la medida rápida y sencilla del Ψ_h es la cámara de presión, la cual fue descrita por Scholander *et al.*, (1966), citado por Shackel, (2001). El método se basa en la medida de la tensión de la savia en el xilema de una hoja o tallo. Cuando un órgano se separa de la planta, se produce un retroceso de la savia desde la superficie del corte debido a la tensión. Cuando esto ocurre, la presión aplicada es suficiente para forzar el agua de las células intactas que rodean al xilema y conducirla a la superficie cortada. Así, la presión aplicada incrementa el potencial hídrico de las células foliares hasta un valor igual al potencial osmótico de la savia del xilema a presión atmosférica (Slavick, 1974), por lo que la presión ejercida es igual a la diferencia entre el Ψ_h de las células foliares, al menos de las que rodean el xilema, y el Ψ_s de la savia del xilema, que normalmente es muy cercano a cero (Turner, 1988).



La determinación del Ψ_s puede realizarse mediante la osmolaridad de la savia exprimida, por medio de un osmómetro de presión de vapor. Este es actualmente un método rápido y de alta fiabilidad (Morales, 1999).

El Ψ_p del simplasto representa el efecto que sobre el Ψ_h ejerce la presión hidrostática del sistema considerado, el que puede ser positivo si se habla de presión o negativo si se habla de tensión. En una hoja turgente se cumple que el $\Psi_h = 0$ y, por tanto, el $\Psi_s = -\Psi_p$. Conforme la hoja se deshidrata, la presión de turgencia generada por la pared celular disminuye casi de forma lineal con la reducción del volumen celular, hasta llegar al punto de pérdida de turgencia, en donde $\Psi_p = 0$. Al alcanzarse este punto, los síntomas de marchitez son evidentes (Jones, 1992). Este indicador se estima, una vez determinado el potencial hídrico y osmótico, con la diferencia entre ellos ($\Psi_p = \Psi_h - \Psi_s$). En las células individuales de plantas superiores, la turgencia puede ser medida de manera directa mediante la sonda de presión (Steudle, 1990), la cual es un instrumento importante en los estudios fisiológicos de relaciones hídricas.

2.6.1.2. Contenido relativo de agua (CRA).

Otro de los indicadores utilizado para medir el estado hídrico de las plantas, es el contenido relativo de agua (Barrs y Weatherley, 1962). Este indicador es el más usado para medir el nivel de agua de un tejido. Es una medida del contenido de agua del tejido respecto del total de agua que éste puede almacenar; se expresa como porcentaje y permite conocer el estado hídrico de la planta. Se relaciona con el potencial hídrico porque éste y sus componentes, potencial de presión y de solutos, son funciones del volumen de agua del protoplasma. Dicho término viene formulado por la siguiente expresión:

$$\text{CRA} = \frac{M_f - M_s}{M_t - M_s} \times 100$$



donde: **CRA**, contenido relativo de agua; **Mf**, masa fresca foliar; **Ms**, masa seca foliar y **Mt**, masa fresca a plena saturación.

2.6.1.3 La conductancia estomática.

El principal proceso implicado en la pérdida de agua en las plantas es la transpiración, ya que genera el gradiente energético necesario para permitir el agua dentro de la planta. Gran parte del agua absorbida por las plantas se pierde vía transpiración (Kramer y Kozlowsky, 1979), de manera que para producir un kilogramo de biomasa son requeridos varios cientos de litros de agua.

Los fenómenos de transpiración tienen lugar a través de los estomas, los cuales conectan los espacios intercelulares del mesófilo con la atmósfera externa, aunque pueden producirse pérdidas de agua a través de otras estructuras como son las lenticelas de las ramas, estomas de tallos en herbáceas o las cutículas de las hojas (Kramer, 1983). Los estomas están rodeados por dos células especializadas denominadas células guarda. Los cambios de turgencia de estas células son los determinantes de los procesos de apertura y cierre estomático (Mengel y Kirkby, 1987), además de representar los puntos donde la mayor parte del agua es transpirada, a través de los estomas entra el *dióxido de carbono* (CO₂) que será utilizado en la fotosíntesis.

Numerosos factores, tanto internos como externos: el estado hídrico foliar, la temperatura foliar, la concentración interna y externa de CO₂, algunos reguladores del crecimiento, la radiación solar y la humedad ambiental, pueden afectar la actividad enzimática. La implicación del ácido abscísico (ABA) en los mecanismos de regulación estomática ante situaciones de estrés hídrico ha sido estudiada por numerosos autores (Raschke y Zeevart, 1976; Xiloyannis y col., 1980; Harris y Outlaw, 1991).

Uno de los indicadores del estado hídrico de la planta es el grado de apertura estomática (Hsiao, 1990), de modo que su cuantificación en



plantas desarrolladas en condiciones de abastecimiento hídrico limitado puede ser de gran interés, ya que un cierre estomático puede ser una respuesta de la planta ante el déficit hídrico como mecanismo para evitar la pérdida de agua.

La medida de la conductancia estomática se realiza frecuentemente mediante el uso de porómetros de difusión, los cuales miden la difusión del vapor de agua desde las cavidades subestomáticas a través de los estomas (Kanemasu y *col.*, 1969).

Existen dos métodos dentro de la porometría: los métodos de estados dinámicos y los de estados estacionarios (Kirhan, 1985). En un porómetro de estado estacionario el flujo constante de gas seco se hace pasar por una hoja, y posteriormente se mide la humedad del gas caliente (Campbell, 1975). En la porometría dinámica, un sensor que detecta los cambios de humedad es abrazado a la hoja (Kanemasu, 1975).

2.6.2 Indicadores para evaluar indirectamente el estado hídrico de las plantas.

Además de los indicadores ya mencionados para medir el estado hídrico de las plantas, existen otros que pueden indicar de forma indirecta el nivel de estado hídrico en los tejidos celulares. A este respecto, se distinguen dos grandes grupos, en el primero se incluyen las determinaciones analíticas que reflejan las alteraciones de algunas rutas metabólicas que se ven condicionadas por situaciones de deficiencia hídrica, y en el segundo grupo, las descripciones de las alteraciones de las características macroscópicas de las plantas.

En este sentido, se centra esta revisión en aquellos indicadores que pueden resultar interesantes, por su sencillez o por su mayor utilización en los estudios en las relaciones hídricas.



2.6.2.1 Variables metabólicas.

En los estudios que tradicionalmente se realizan en el campo de las relaciones hídricas en el sistema suelo-planta-atmósfera, y más concretamente en el aspecto de deficiencia hídrica, se ha prestado especial atención a los efectos de este fenómeno en el metabolismo del N, posiblemente como consecuencia de que el resultado más importante de estas situaciones, sea la disminución de la productividad y el rendimiento de biomasa de las plantas (Marques y col., 2002) y de que el principal constituyente de éstas, junto al C y el H, sea el N.

Azcón-Bieto y Talón (2001) informaron que la sequía es responsable de serias afectaciones en el metabolismo vegetal, pues se ven afectadas las producciones de algunas fitohormonas, la acumulación de sacarosa en las células, se detiene la síntesis de proteínas, disminuye la producción de ATP, se incrementa la actividad respiratoria y se reducen los productos fotosintetizados, trayendo como tal un incremento en los inhibidores del crecimiento y por tanto una disminución notable del crecimiento y la producción.

2.6.2.1.1 Actividad de la enzima Nitrato Reductasa.

La enzima nitrato reductasa es la primera enzima en el metabolismo de la asimilación del N y representa un paso limitante en la incorporación de este nutriente al vegetal, ya que de su comportamiento depende en gran medida la producción de biomasa de las plantas (Marur y col., 2000). Esta enzima se encarga de reducir el NO_3^- que llega a las células hasta NO_2^- , quien a su vez, es reducido por la enzima nitrito reductasa hasta NH_4^+ . Este proceso es muy importante porque la forma amoniacal es la vía mediante la cual el N asimilado es incorporado a la formación de aminoácidos, proteínas u otros compuestos orgánicos relacionados directamente con el metabolismo general de las plantas y su crecimiento.



En general, la deficiencia hídrica en el suelo induce una disminución en los niveles enzimáticos como es el caso de la enzima nitrato reductasa, lo que ha sido relacionado con la disminución de las proteínas (Marques y col., 2002).

2.6.2.2 Variables morfológicas.

Dentro de estas alteraciones se encuentran parámetros de estimación visual que pueden ser correlacionados con el Ψ_h , tales como el grosor de las hojas, variaciones en el grosor del tallo y el crecimiento celular.

2.6.2.2.1 El crecimiento celular.

De vital importancia es el efecto del déficit hídrico sobre el crecimiento de las plantas. La alteración más sensible a esta condición es el crecimiento celular. Cuando la presión de turgencia disminuye, como consecuencia de la falta de agua, la expansión celular se ralentiza, debido a la pérdida de presión en su interior. Por tanto, existe una estrecha relación entre la disminución en el tamaño celular y la intensidad del déficit hídrico en los tejidos vegetales (Mengel y Kirkby, 1987).

Además del crecimiento celular, también puede verse afectado el poder de división de la célula, como consecuencia del déficit hídrico, el cual puede llegar incluso a inhibirse cuando la deficiencia hídrica se prolonga (Hsiao, 1973).

No está claro si este fenómeno es un efecto directo de la falta de agua o más bien un efecto indirecto del estrés, el cual impide que las células meristemáticas alcancen el tamaño mínimo necesario para proceder a dividirse.

2.6.3 Respuesta de las plantas a la deficiencia hídrica en el suelo.

La respuesta de la planta a la deficiencia hídrica se inicia con la percepción del fenómeno, seguida por una transducción de la señal y se manifiesta con cambios a nivel molecular, celular, fisiológico, bioquímico



y de su desarrollo en general (Azcón-Bieto y Talón, 2001). Las respuestas evidenciadas varían con la especie vegetal estudiada, con la etapa de desarrollo de la misma, con la intensidad y duración del estrés y con las interacciones que se establecen entre los factores ambientales. La deshidratación de los tejidos, por debajo de un nivel crítico, se acompaña de cambios irreversibles en las estructuras celulares, debido a que el agua como componente del citoplasma vivo participa en el metabolismo y en todos los procesos bioquímicos del vegetal, por lo que se considera la hidratación de los tejidos una condición indispensable para el normal funcionamiento de los mismos.

En este sentido, Dell'Amico (1992) encontró que la condición de deficiencia hídrica en un suelo cultivado de tomate no sólo afectó negativamente las relaciones hídricas de las plantas, sino que la producción de biomasa y el rendimiento de las mismas también se vieron perjudicados.

Khanna y col., (1994) encontraron que el déficit hídrico afectó la acumulación de materia seca, C y N en los granos de diferentes variedades de trigo (*Triticum aestivum* L.), desestabilizando el rendimiento entre las variedades.

Ferreira y Carlesso (1998) encontraron que la afectación del desarrollo de las hojas y con ella la expansión de la superficie foliar es la primera reacción de las plantas al déficit hídrico y que además esta situación de estrés afecta severamente los mecanismos morfofisiológicos de las plantas.

Hsiao y Xu (2000) encontraron que bajo condición de deficiencia hídrica en el suelo el crecimiento es rápidamente inhibido, mientras que, el desarrollo de la raíz es favorecido sobre el de las hojas.

Flexas y Medrano, (2002) informaron que la condición de sequedad en el suelo provoca un rápido cierre de los estomas limitando la fijación fotosintética del CO₂ atmosférico. Afecta el potencial hídrico foliar, el



contenido relativo de agua foliar, la conductancia estomática, la síntesis de ribulosa 1,5 bifosfato (Rubisco) y ATP y con ello el metabolismo de las plantas en general.

Lawlor (2002a) informaron que el déficit hídrico en el suelo decrece el contenido relativo de agua, la conductancia estomática, la asimilación del CO₂, la síntesis ribulosa 1,5 bifosfato, la síntesis de ATP y a su vez, provoca una acumulación de aminoácidos y una alteración de la síntesis proteica. Todas estas alteraciones afectan sustancialmente el metabolismo de las plantas.

2.7 El cultivo del tomate.

La superficie dedicada mundialmente al cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en los últimos años ha aumentado considerablemente, este cultivo ocupa el tercer lugar en el comercio de hortalizas (Colombia, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2003), siendo su producción en el 2004 de aproximadamente 115 950 851 toneladas (FAO, 2005). En Cuba, constituye la principal hortaliza, tanto por el área que ocupa como por su producción (Moya y col., 2001; Terry y col., 2001); según reporte de la FAO (2005), en este año la superficie cultivable de este cultivo en nuestro país fue aproximadamente de 60 000 hectáreas, con una producción estimada de 800 000 toneladas y un rendimiento promedio de 13,33 t.ha⁻¹.

El tomate es considerado un cultivo de alta demanda de fertilización mineral debido al gran volumen de frutos producidos por unidad de superficie (Hernández y Chailloux, 2001), la cual se encuentra en el orden de 120-200 kg de N /ha, 140-160 kg de P₂O₅/ha y 100-225 kg de K₂O/ha, de acuerdo al tipo de suelo y al rendimiento esperado (Maestrey, 1986)

En el Instructivo Técnico (MINAGRI, 1990) se recomienda para los suelos Ferralíticos Rojos, la dosis de fertilizante siguiente: 150 kg N/ha, 75 kg P₂O₅/ha, 125 kg K₂O/ha y se establece aplicar todo el fósforo y el



potasio con un tercio del nitrógeno en el transplante y los dos tercios restantes del nitrógeno a los 25-30 días. El fraccionamiento y momento de aplicación, se ha tratado de ajustar al máximo, a los resultados experimentales. En el caso de que la siembra sea directa, se recomienda aplicar el total de la fórmula completa antes de la siembra (de fondo) a la dosis recomendada y una segunda fertilización que sea nitrogenada de 2-3 t/cab., a los 25-30 días antes de la floración (MINAGRI, 1990).

Este cultivo es sensible a la humedad del suelo (Reynaldo y col., 2002), tanto el déficit hídrico como la inundación están dentro de los fenómenos ambientales que más limitan la productividad agrícola, porque afectan severamente a todos los aspectos relacionados con el crecimiento y desarrollo de las plantas, pues alteran importantes procesos fisiológicos y rutas metabólicas, entre las que se encuentran la absorción de los elementos esenciales, el metabolismo del nitrógeno y el oxidativo.

La hidratación de los tejidos es una condición indispensable para el normal funcionamiento de los mismos, la pérdida de turgencia, el marchitamiento y la disminución del alargamiento celular son los primeros síntomas visibles del estado de estrés en las plantas, provocando un consiguiente cierre de los estomas, reducción de la fotosíntesis, la respiración y la afectación de varios procesos metabólicos básicos del vegetal, lo que ocasiona finalmente la muerte del mismo (Azcón-Bieto y Talón, 2001).

Además de lo expuesto con anterioridad, estudios realizados han mostrado que el tomate es sensible a la presencia de algunos MP en los suelos. En este sentido, Woolhouse, (1983) informaron que la presencia de Cu en los sustratos en concentraciones relativamente bajas resultan tóxicas al cultivo del tomate. Hale y col., (1985) encontraron que la presencia de Ni y Cu en concentraciones relativamente baja afectaba el crecimiento de la planta de tomate, tanto separado como combinado y



que en el caso que se aplicaron separados el Ni era mucho más dañino que el Cu, particularmente para el crecimiento de la raíz y el contenido de clorofila foliar. Prokipcak y Ormrod (1986) y Saxe (1996) informaron que un daño típico provocado por el Ni en plantas de tomate, es la clorosis internerval seguida de una necrosis y el color púrpura de los tejidos y a su vez, decrece la masa seca de las hojas, tallos y raíces, la superficie foliar y la producción de biomasa de la planta en general. Marrero (2005), encontró que al trabajar con productos naturales en medio contaminado con Cu, las plantas de tomate redujeron su altura, producción de masa seca y longitud radical cuando se le adicionó al medio donde se cultivaban las plantas 5 mg/L de una solución nutritiva enriquecida con el ión Cu^{2+} .

2.7.1 Característica de la variedad de tomate (INCA 9-1)

Esta variedad de tomate se obtuvo por cruzamiento genético de la variedad Ontario 7710 y Campbell 28 y se destaca por su elevada capacidad de fructificación en condiciones de altas temperaturas. Es de crecimiento determinado, presenta de 45 a 60 frutos por plantas con una masa promedio de 52 g por fruto, con un rendimiento promedio por plantas de 2,34 kg y por hectárea de 30 a 40 t, en las diferentes épocas de siembra. Según la acidez, el brix, el contenido de vitamina C y el porcentaje de masa seca de los frutos, tiene posibilidades de ser utilizados para la industria.



3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Aspectos generales

El trabajo de investigación se desarrolló en el Departamento de Fisiología y Bioquímica del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), situado a 138 m sobre el nivel del mar, en San José de las Lajas de la provincia la Habana, a 23° 00' de latitud N y 32° 12' de longitud O, perteneciente al Ministerio de Educación Superior (MES).

Los biosólidos utilizados procedieron de la EDAR “Quibú” del Municipio Marianao de la Ciudad de La Habana. Los mismos fueron obtenidos mediante un proceso de digestión anaeróbica y su producción varía de 617 – 778 toneladas anuales. Su procedencia es fundamentalmente de origen residencial, con aportes de una población estimada de 120 000 habitantes.

El suelo utilizado para el desarrollo de la fase experimental se clasifica como Ferralítico Rojo compactado eútrico, según la Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. MINAGRI, Instituto de suelos (Hernández, 1999) y sus características químicas se presentan en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Características químicas del suelo utilizado en la experimentación (Ferralítico Rojo compactado eútrico).

Indicador		Media	Intervalo de confianza
MO, %		2,71	2,58 – 2,84
P, mg.kg ⁻¹		247,00	143,39 – 350,61
Ca	cmol.kg ⁻¹	12,61	12,01 – 13,21
Mg		1,33	0,99 – 1,67
K		0,59	0,50 – 0,68
pH		8,10	7,96 - 8,24

Contenido de **MO**: materia orgánica oxidable; **P**: fósforo asimilable; **Ca**, **K** y **Mg**: calcio, potasio y magnesio intercambiables

Para la realización de los experimentos se utilizó suelo de la capa superficial (0 - 20 cm), secado al aire y tamizado con una malla de 5



mm de diámetro y los biosólidos fueron molinados y tamizados por una malla de 2 mm. Para la preparación de las mezclas de suelo con biosólidos al inicio de cada experimento, el suelo fue depositado en una plataforma de cemento y se la adicionó la cantidad de biosólidos necesaria para formular las dosis deseadas, posteriormente se voltearon varias veces para homogenizarlas.

Teniendo en cuenta que la densidad aparente del suelo utilizado en la investigación es de $0,997 \text{ g.cm}^3$, el peso de una hectárea-surco es de 1 994 000 kg, las dosificaciones de biosólidos se realizaron tomando en consideración el contenido de N de los mismos, las recomendaciones de este elemento para el cultivo en este tipo de suelo, la cual es de 150 kg.ha^{-1} , según lo informado por MINAGRI (1990) y Hernández y Chailloux (2001) y las consideraciones publicadas en el Boletín Oficial de Aragón (BOA, 1997) y el Boletín Oficial de Canarias (BOC, 2000), en España. Los portadores utilizados para la fertilización mineral y las dosis se presentan en los **acápites 3.3, 3.4 y 3.5**.

Para el cumplimiento de los objetivos propuestos se realizaron cuatro investigaciones, para ello en todos los casos se utilizaron para la siembra semillas de tomate de la variedad INCA 9-1.

3.2 Caracterización de los biosólidos de aguas residuales urbanas procedentes de la EDAR “Quibú”.

Para la caracterización química y microbiológica de los biosólidos, se tomaron tres muestras en cada uno de los dos lechos de secado en cinco descargas de la EDAR “Quibú”, efectuadas en octubre de 2001, enero del 2002, mayo del 2002, septiembre del 2003 y noviembre del 2004. Con posterioridad se procedió a determinar los contenidos totales de MO, N, P, K, Ca, Mg, Cr, Cu, Ni, Zn, Co, Mn, Fe, Pb (expresados en porcentajes), debido a que la evaluación de los contenidos asimilables o disponibles de estos elementos no daría una información confiable del posible efecto que va a tener la aplicación de los biosólidos al suelo,



donde las diferentes condiciones del nuevo sistema va a afectar positiva o negativamente las formas asimilables de los elementos aportados, razón por la cual es más conveniente y común que cuando se trabaja con materiales orgánicos se determinen los contenidos totales de los elementos presentes en éstos, como el aporte potencial que realizará dicho material orgánico al medio, el cual va a hacer más o menos disponibles de acuerdo a la nuevas condiciones existentes en el sistema en estudio. Además se determinó el pH (unidades). Las metodologías utilizadas para las evaluaciones de estas variables se describen en los acápites **3.6.1.1 y 3.6.1.3.**

También se cuantificaron las poblaciones de bacterias totales, hongos totales, actinomicetos totales, nitrofixadores totales, coliformes totales, coliformes fecales, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (expresados en UFC/g muestra) y *Salmonellas spp.* (en UFC/ 4 g muestra) (**acápite 3.6.2**).

3.3 Efecto del uso agrícola de biosólidos de aguas residuales urbanas en las propiedades químicas del suelo y el desarrollo vegetativo de las plantas de tomate.

Para el desarrollo de esta investigación se estableció un diseño completamente aleatorizado y se ejecutaron dos experimentos, uno en noviembre del 2001 y el otro en enero del 2002. En cada experimento se utilizaron 15 macetas por tratamiento, en las cuales se depositaron 5 kg del sustrato y se desarrollaron tres plantas por maceta. Dichas macetas tenían una capacidad de seis litros, un diámetro superior y una altura de 0,22 m y un diámetro basal de 0,15 m. Los tratamientos utilizados y los aportes de N en correspondencia con las dosis de biosólidos aplicadas se presentan en la **Tabla 5**.



Tabla 5. Tratamientos utilizados y aportes de N según la dosis de biosólidos de aguas residuales urbanas aplicadas en el estudio.

Tratamientos	Descripción	Experimentos		Aportes de N (kg.ha ⁻¹)
		1	2	
S	Suelo natural	X	X	0
F	Suelo tratado con fertilizante mineral	-	X	150
B₉₅	95 g biosólidos.kg ⁻¹ de suelo	X	X	148
B₁₁₅	115 g biosólidos.kg ⁻¹ de suelo	X	X	179
B₁₃₅	135 g biosólidos.kg ⁻¹ de suelo	X	X	210
B₁₅₀	150 g biosólidos.kg ⁻¹ de suelo	-	X	233

(X) → Tratamiento estudiado.

En ambos experimentos la caracterización química de los sustratos se efectuó al inicio, los diferentes eventos fenológicos en tres momentos del desarrollo de la planta, la altura de las plantas a los 40 días después de la germinación (**ddg**) y la superficie foliar, la producción de biomasa por órganos, el contenido de N y P en la parte aérea de la planta y el contenido de proteínas foliar al final de cada experimento (cuando el $75 \pm 5\%$ de las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos se encontraban en la fase de inicio de la fructificación). Las metodologías empleadas para la realización de las diferentes evaluaciones se presentan en el **acápite 3.6**.

Durante el desarrollo de la investigación, el riego se efectuó cada dos días a máxima capacidad de retención de humedad del sustrato en horas de la mañana y para la fertilización se aplicó sólo urea (46% de N) a razón de 150 kg de N.ha⁻¹ (MINAGRI, 1990), al tener en cuenta que los niveles de P y K eran adecuados y siguiendo lo planteado por Cuevas (1998) para este tipo de suelo. La fertilización se realizó fraccionadamente según lo reportado por Gómez y col., (2000).



3.4 Influencia de la aplicación de biosólidos y diferentes niveles de abastecimiento hídrico en el porcentaje de humedad del suelo y las relaciones hídricas y el desarrollo vegetativo de las plantas de tomate.

La presente investigación se diseñó a partir de una experiencia previa, donde se conoció del efecto positivo de los biosólidos en estudio en la retención de la humedad del suelo y en algunos indicadores relacionados con las relaciones hídricas, el crecimiento y el desarrollo de las plantas de tomate (Utría y col., 2004).

La misma se llevó a cabo en octubre del año 2002, en macetas con las características descritas en la investigación anterior. Se estableció un diseño completamente aleatorizado y se aplicó la dosis de 135 g de biosólidos.kg⁻¹suelo (**B₁₃₅**) al inicio de la investigación comparando su efecto con el del suelo natural (**S**) y el del suelo fertilizado con urea (**F**), para lo cual se utilizaron 30 macetas por tratamiento y se desarrollaron tres plantas por maceta. Durante esta primera fase de la investigación (0-15 ddg) se efectuó el riego cada dos días, a máxima capacidad de retención de humedad del sustrato en horas de la mañana.

Teniendo en cuenta la inexistencia de diferencias significativas en el proceso germinativo de las semillas, las cuales germinaron entre los cuatro y cinco **ddg**, a partir de los 15 **ddg** (fase de activo crecimiento celular y comienzo de la diferenciación floral (Sam, (2001), comunicación personal) los datos obtenidos en las diferentes variables se procesaron mediante un *análisis de varianza* (ANOVA) con arreglo factorial, en el que se consideraron como factores los tres sustratos mencionados anteriormente: **S**, **F** y **B₁₃₅** y dos niveles de humedad: restablecimiento del 100 y 50% de las *pérdidas de agua por evapotranspiración cada dos días* (**PA_{evt}**) (**H₁** y **H₂**, respectivamente) y se seleccionaron dos grupos de 15 macetas por tratamiento, a un grupo se le continuó restableciendo el 100% (**H₁**) y al otro sólo el 50% de las



PAevt (**H₂**) y se conformaron a partir de ese momento seis tratamientos, cada uno con 15 macetas (**Tabla 6**).

Tabla 6. Tratamientos estudiados en el experimento relacionado con las relaciones hídricas y el crecimiento de las plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico.

Tratamientos	Descripción
S₁₀₀	S con 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua
F₁₀₀	F con 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua
B₁₀₀	B₁₃₅ con 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua
S₅₀	S con 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua
F₅₀	F con 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua
B₅₀	B₁₃₅ con 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua

S: suelo natural; F: Suelo tratado con fertilizante mineral; **B₁₃₅**, 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo

A los 12 días después de impuestos los tratamientos de niveles de humedad (**dnh**) (27 **ddg**), se procedió a aplicar el 100 % de las **PAevt** (recuperación) y a los 4 días después se efectuó la última evaluación de este experimento (31 **ddg**).

Durante el desarrollo del experimento los recipientes fueron situados debajo de un cobertizo de polietileno transparente para protegerlos de las precipitaciones y del rocío.

El porcentaje de humedad del sustrato (**Phs**), el contenido relativo de agua foliar (**CRA**) y el potencial hídrico foliar (**Ψh**), se evaluaron cada cuatro días, desde el inicio de implantados los tratamientos de niveles de humedad hasta el final del experimento (16 **dnh**) y el potencial osmótico real (**Ψs**) y saturado (**Ψss**), el potencial de turgencia (**Ψp**), la conductancia estomática (**CE**), la actividad de la enzima nitrato reductasa (**AEnr**), la altura de la planta, la superficie foliar, la producción de biomasa por órganos y total de la planta se realizaron a los 12 **dnh**. Además, se analizaron algunos índices del crecimiento: Tasa Relativa de Crecimiento (**TRC**), Tasa de Asimilación neta (**TAN**), Relación de Área Foliar (**RAF**), en la etapa comprendida desde el inicio



hasta los 12 **dnh**. Las metodologías empleadas se describen en el **acápite 3.6**.

Las evaluaciones efectuadas en el experimento se realizaron al alba, a excepción de la conductancia estomática que se realizó a las 10:00 am.

3.5 Aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas con diferentes frecuencias y sus efectos en las propiedades químicas y microbiológicas del suelo, en el rendimiento de las plantas, la calidad de los frutos y el contenido de metales pesados en los órganos vegetales.

Se estableció un diseño completamente aleatorizado y se llevó a cabo un experimento durante tres años (2002, 2003 y 2004) en canteros de hormigón de 2,55 m de largo x 0,64 m de ancho x 0,80 m de altura. En el primer año, el sustrato fue preparado de la misma forma que en los experimentos anteriores y en el segundo y tercero, los biosólidos se dispusieron sobre el suelo y se procedió a incorporarlos manualmente. La fertilización mineral en el primer año de experimentación se realizó sólo a base de urea (46% de N), teniendo en cuenta que los contenidos de P y K en el suelo eran adecuados (Paneque, 2005, comunicación personal). En los dos años restantes la fertilización nitrogenada, fosfórica y potásica se realizó con urea, superfosfato triple (46 % de P_2O_5) y cloruro de potasio (62 % de K_2O) respectivamente, de acuerdo con lo que establece el Instructivo Técnico del MINAGRI (1990) y en todos los casos se aplicó fraccionadamente, tomando como criterio lo planteado por Gómez y col., (2000).

Las semillas de tomate fueron sembradas a un marco de plantación de 0,50 m entre hileras por 0,30 m entre plantas, para un total de 18 plantas por cantero, se utilizaron dos canteros por tratamiento. Los tratamientos estudiados se presentan en la **Tabla 7**.



Tabla 7. Tratamientos estudiados en el experimento de diferentes frecuencias de aplicación de biosólidos.

Tratamientos	Descripción
S	Suelo natural (los tres años de experimentación)
F	Suelo tratado con fertilizante mineral (los tres años de experimentación)
B₁₃₅ Primer	135 g biosólidos.kg ⁻¹ de suelo, aplicado sólo el primer año (año1)
B₁₃₅ Alternos	135 g biosólidos.kg ⁻¹ de suelo, aplicado en años alternos (años 1 y 3)
B₁₃₅ Consecutivos	135 g biosólidos.kg ⁻¹ de suelo, aplicado tres años consecutivos (año 1, 2 y 3)

Durante el desarrollo del experimento, para el caso de las variables que se evaluaron los tres años; en el primer año los tratamientos **B₁₃₅ Primer**, **B₁₃₅ Alternos** y **B₁₃₅ Consecutivos** estuvieron bajo las mismas condiciones experimentales (135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo) y se definió el tratamiento como **B₁₃₅**. En el segundo año, los tratamientos **B₁₃₅ Primer** y **B₁₃₅ Alternos** estuvieron bajo las mismas condiciones experimentales (135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo, aplicado el año anterior) y se definió el tratamiento como **B₁₃₅ Anterior**, en este segundo año **B₁₃₅ Consecutivos** contaba con dos años de aplicación y en el tercer año, los tratamientos se conformaron como se muestra en la **Tabla 7**.

Las muestras para determinar el pH, los contenidos de MO oxidable, P asimilable y K, Ca y Mg intercambiables al inicio de cada año de experimentación y los contenidos totales de Fe, Cu, Zn, Cr, Ni, Mn, Co y Pb y las poblaciones microbianas al final del experimento se tomaron a una profundidad de 0 – 20 cm de la superficie del suelo. Además, se evaluaron en las plantas: el número de frutos por planta, la masa fresca de los frutos, el rendimiento por planta y el contenido de sólidos solubles totales (Brix), la acidez y porcentaje de masa seca de los frutos, en cada cosecha. También, se determinaron los contenidos de metales pesados en los diferentes órganos de la planta, al final del experimento.



Las metodologías utilizadas para la realización de las diferentes evaluaciones se describen en el **acápite 3.6**.

3.6 Metodologías empleadas en la realización de las diferentes evaluaciones.

3.6.1 Análisis químicos de los biosólidos de aguas residuales urbanas, suelo, sus mezclas y órganos vegetales.

3.6.1.1 Análisis químicos de los biosólidos de aguas residuales urbanas.

Para la determinación de los contenidos totales de Ca, Mg, P, N y K de los biosólidos de aguas residuales urbanas, se realizó una digestión con una mezcla de *ácido sulfúrico* (H_2SO_4) y *selenio* (Se), según el método Kjeldahl y en el extracto se determinaron los contenidos de Ca y Mg por volumetría, mediante valoración con EDTA, el P por el método colorimétrico, mediante el desarrollo del color azul del complejo molibdo-fosfórico a longitud de onda de 660 nm, el N por colorimetría con el reactivo de Nessler a longitud de onda de 440 nm y el K por fotometría de llama, comparado con la emisión producida por las soluciones patrones.

La MO oxidable se determinó según el método descrito por Walkley y Black y se expresaron los resultados en porcentajes de materia orgánica oxidable y el pH por el método potenciométrico con una relación sólido: agua de 1:2,5.

3.6.1.2 Análisis químicos de las muestras de suelo y de las mezclas de suelo con biosólidos.

Se tomaron tres muestras de suelo y de suelo con biosólidos por tratamiento al inicio de cada experimento y a las mismas se les realizaron las extracciones de K, Ca y Mg intercambiables con la solución de *acetato de amonio* (NH_4OAc) 1N a pH 7 y el P asimilable con H_2SO_4



0,1 N. En todos los casos las determinaciones se realizaron por los métodos descritos en el acápite anterior.

Los métodos para la determinación del porcentaje de MO oxidable y el pH también fueron mencionados en el acápite anterior.

Todos los métodos citados anteriormente en el acápite **3.6.1.1** fueron descritos por Jackson (1970)

3.6.1.3. Análisis de los contenidos totales de metales pesados en los biosólidos de aguas residuales urbanas, el suelo, las mezclas de suelo con biosólidos y los órganos vegetales.

Para los análisis de los contenidos de metales pesados se tomaron tres muestras por tratamiento y las determinaciones se realizaron mediante espectrometría de Absorción Atómica, utilizando un espectrómetro modelo SOLAR 929, con previa extracción con una mezcla de ácidos: H_2SO_4 18N, *perclórico* ($HClO_4$), *fluorhídrico* (HF) al 48% y *clorhídrico* (HCl) 6N, según la metodología descrita por Muñiz (2000) en el caso del suelo y de sus mezclas con biosólidos y para el caso de los biosólidos y los órganos vegetales se realizó una digestión previa con agua regia (*ácido nítrico* (HNO_3):HCl, 1:3) (AOAC, 1997).

Los resultados fueron expresados en porcentajes para los metales que se encontraron en mayor concentración en el sustrato y los de menores concentraciones en mg del elemento por kg de masa seca.

3.6.2 Análisis de los grupos microbianos en los biosólidos de aguas residuales urbanas y las mezclas de suelo con biosólidos.

Para los análisis microbiológicos, se utilizó el método directo por conteo en placas de Petri para cada dilución y tipo de microorganismos. El número de unidades formadoras de colonias (UFC) se obtuvo por conteo directo en cada una de las placas y posteriormente se determinó la media y finalmente el número de microorganismos por *gramo* (g) de



suelo, para cada tipo y el valor obtenido se multiplicó por el factor de dilución. En todos los casos, se utilizaron tres muestras del sólido (suelo, biosólidos y sus mezclas) y tres placas por muestra.

El conteo de bacterias, hongos, actinomicetos totales se realizó según la metodología descrita por Atlas (1993) y los nitrofixadores totales por la metodología descrita por Dobereiner y Day (1976), citada por Pazos (2000).

La cuantificación de los microorganismos patógenos se realizó según las normas que aparecen a continuación:

Determinación de Coliformes totales (**ISO 4832**).

Determinación de Coliformes fecales (**NC 38-02-14**).

Determinación de *Staphylococcus aureus* (**ISO 6888-1**).

Determinación de *Pseudomonas aeruginosa* (**ISO 9000**).

Determinación de *Salmonellas* (**NC 93-01-119**).

3.6.3 Eventos fenológicos.

Para las evaluaciones de los eventos fenológicos se seleccionaron 12 plantas por tratamiento y se efectuaron las mismas en tres momentos o estadíos del desarrollo de las plantas, cuando el $75 \pm 5\%$ de las plantas procedentes de los tratamientos donde se aplicó biosólidos se encontraban en la fase de: **M₁**, Emisión de las cinco primeras hojas verdaderas; **M₂**, Inicio de la floración y **M₃**, Inicio de la fructificación. Los resultados fueron expresados como: días a los cuales se presentaron las manifestaciones de los eventos fenológicos evaluados.

3.6.4 Variables relacionadas con el desarrollo vegetativo de las plantas

3.6.4.1 Altura de la planta (cm)

Las mediciones de altura de la planta se hicieron en 10 plantas por tratamiento, desde la base hasta el último brote de hojas en el ápice del tallo, con la ayuda de una regla graduada de un milímetro de aproximación.



3.6.4.2 Biomasa de los diferentes órganos y total de la planta (g.planta⁻¹)

Los tejidos fueron sometidos a una temperatura de $70 \pm 5^\circ\text{C}$, hasta lograr masa constante. Para esta evaluación fueron seleccionadas ocho plantas por tratamiento.

3.6.4.3 Superficie foliar (cm².planta⁻¹)

La superficie foliar fue estimada en ocho plantas por tratamiento utilizando el método del disco (Watson, 1953). Para esto se seleccionaron hojas ubicadas en la parte apical, media y basal del follaje de las plantas, de las cuales se escogieron 30 discos con un perforador de área conocida. Posteriormente, se secaron en una estufa a $70 \pm 5^\circ\text{C}$ hasta obtener masa constante. Con los valores de masa seca foliar, masa seca de los discos y área de los discos se estimó la superficie foliar mediante la ecuación:

$$Sf = (Msf * Ad) / Msd * 100$$

donde: **Sf**, Superficie foliar; **Msf**, Masa seca foliar; **Ad**, Área de los discos y **Msd**, Masa seca de los discos.

3.6.5 Análisis de los índices del crecimiento.

A partir de la producción de masa seca (biomasa) y la superficie foliar, se efectuó el análisis del crecimiento en ocho plantas por tratamiento, a través de la evaluación de la *Tasa Relativa de Crecimiento (TRC)*, la *Tasa de Asimilación Neta (TAN)* y la *Relación de Área Foliar (RAF)* de la planta en la fase que comprendió desde el inicio de impuestos los tratamientos de niveles de humedad hasta los 12 **dnh**, utilizando la metodología descrita por Beadle (1993). Para los cálculos se utilizaron las siguientes expresiones:

$$TRC = (\ln M_2) / (\ln M_1) / (t_2 - t_1) \text{ g.g}^{-1}.\text{día}^{-1}$$

$$TAN = [(M_2 - M_1) / (SF_2 - SF_1)] [(\ln SF_2) - (\ln SF_1) / (t_2 - t_1)] \text{ g.cm}^{-2}.\text{día}^{-1}$$

$$RAF = [(SF_2 - SF_1) / (M_2 - M_1)] [(\ln M_2 - M_1) / (\ln SF_2 / \ln SF_1)] \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$$



donde: (M_1 y M_2) masa seca total, (SF_1 y SF_2) superficie foliar de la planta, (T_1 y T_2) tiempo y (1 y 2) inicio y final respectivamente.

3.6.6 Niveles de N y P en la parte aérea de las plantas.

Para determinar los niveles de N y P en la parte aérea de las plantas, se procedió primeramente a determinar los porcentajes de estos elementos en el tallo y las hojas por los métodos citados en el **acápite 3.6.1.1** y posteriormente el contenido total se calculó mediante la fórmula:

$$\text{Contenido de E (mg.planta}^{-1}\text{)} = \frac{Ms \text{ (mg.planta}^{-1}\text{)} \times \text{porcentaje de E}}{100}.$$

donde: E, elemento y Ms, masa seca.

3.6.7 Humedad del sustrato (%)

Las evaluaciones del porcentaje de humedad del sustrato (**Phs**) se efectuaron cada cuatro días a partir de impuestos los tratamientos de niveles de humedad (**dnh**) y las muestras se tomaron con una barrena en tres puntos de tres macetas por tratamiento y se secaron en una estufa a 110 ± 5 °C hasta masa constante y los datos se expresaron gráficamente como porcentaje de humedad del sustrato (%), en base seca. Para esto se utilizó el método gravimétrico y el cálculo mediante la ecuación:

$$Phs = (Mf - Ms) / Mf \times 100$$

donde: Phs, porcentaje de humedad del sustrato; Mf, masa fresca y Ms, masa seca de la muestra.

3.6.8 Variables relacionadas con el estado hídrico de las plantas.

Las variables relacionadas con el estado hídrico que a continuación se describen, se evaluaron en diferentes momentos del crecimiento y desarrollo de las plantas (**acápite 3.4**). Para esto se seleccionaron de cuatro plantas por tratamiento, cuatro hojas bien desarrolladas del tercio superior.



3.6.8.1 Contenido Relativo de Agua (%).

Se determinó según la metodología descrita por Turner (1981) y para el cálculo de esta variable se utilizó la fórmula:

$$\text{CRA} = [(\text{Mf} - \text{Ms}) / (\text{Mt} - \text{Ms})] 100.$$

donde: **CRA**, Contenido Relativo de Agua; **Mf**, Masa fresca de la hoja en el momento del muestreo; **Ms**, Masa seca de la hoja después de secadas en la estufa a $75 \pm 5^{\circ}\text{C}$, hasta masa constante; **Mt**, Masa turgente de las hojas tras su saturación en agua destilada durante 24 horas a 4°C en condiciones de oscuridad.

3.6.8.2 Potencial hídrico foliar (Mpa).

Las evaluaciones de esta variable se efectuaron con una cámara de presión tipo Scholander, según la técnica descrita por Turner (1981) y se utilizó para ello N gaseoso.

3.6.8.3 Potencial Osmótico foliar real (Mpa).

Se evaluó con la ayuda de un osmómetro de presión de vapor (Wescor 5520), calibrado con soluciones de osmolaridad conocida. Para la evaluación de esta variable se tomaron las mismas muestras utilizadas para medir el potencial hídrico foliar. Las hojas después de las evaluaciones de potencial hídrico fueron envueltas en papel de aluminio y congeladas a -50°C en nitrógeno líquido, posteriormente se conservaron en frío a -4°C hasta su análisis. Previamente a la realización de los análisis, las muestras se llevaron a temperatura ambiente, se colocaron en una jeringuilla y en el jugo celular extraído se midió el potencial osmótico.

3.6.8.4 Potencial osmótico foliar saturado (Mpa).

Se determinó de la misma manera que el potencial osmótico real, exceptuando que las muestras previamente se saturaron durante 24 horas a 4°C en condiciones de oscuridad.



3.6.8.5 Potencial de turgencia (Mpa).

Se calculó por diferencia entre el potencial hídrico y el potencial osmótico real, mediante el empleo de la siguiente ecuación:

$$\Psi_p = \Psi_h - \Psi_s$$

donde: Ψ_p , es el potencial de turgencia; Ψ_h , potencial hídrico foliar y Ψ_s , potencial de soluto foliar real.

3.6.8.6 Conductancia estomática ($\text{mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

Se determinó a las 10:00 a.m, con la ayuda de un porómetro de difusión (Delta-T device, modelo AP3) y las mediciones se realizaron en la zona abaxial de 10 hojas por tratamiento.

3.6.9 Variables bioquímicas.

Para el análisis del contenido de proteínas totales y de la *actividad de la enzima Nitrato Reductasa (AEnr)*, se seleccionaron 25 g de muestras de folíolos de hojas bien desarrolladas situadas en el tercio superior de cuatro plantas. Con este procedimiento se conformaron tres muestras y los análisis se realizaron por triplicado.

3.6.9.1 Contenido de proteínas foliares totales (mg.planta^{-1}).

A las muestras seleccionadas se les realizó la extracción en tampón Tris-HCl 0.1 mol.L^{-1} , pH 8.2 a 0°C y la determinación se realizó por el método de Lowry (1951), utilizando albúmina sérica bovina como patrón. Las medidas de absorbancia se realizaron a 650 nm, en un Espectrofotómetro modelo GÉNESIS 10 UV.

3.6.9.2 Actividad de la enzima nitrato reductasa ($\text{nmoles.NO}_2 \text{ ms}^{-1}.\text{h}^{-1}$).

La actividad de la enzima se realizó "*in vivo*" en hojas frescas, según la metodología descrita por Blondel y Blanc (1975). El medio de incubación de la enzima estuvo compuesto de un tampón de Tris-HCl (0.05 mol.L^{-1} , pH 7.4), Tween-80 (0.02%) y KNO_3 0.1 mol.L^{-1} . La cuantificación se determinó espectrofotométricamente a través del producto formado a una longitud de onda de 540 nm.



3.6.10 Rendimiento y sus componentes.

3.6.10.1 Número de frutos (u.planta⁻¹).

Se realizó la cuantificación de los frutos de cada planta individualmente por tratamiento y se utilizó el valor promedio.

3.6.10.2 Masa fresca promedio de los frutos (g.fruto⁻¹).

Se seleccionaron al azar 20 frutos maduros por tratamiento, se tararon y luego se promedió el valor.

3.6.10.3 Rendimiento (g.planta⁻¹).

Se seleccionaron al azar 20 plantas por tratamiento. Estas plantas fueron monitoreadas desde el inicio hasta el final de la cosecha, se determinaron la masa fresca en todos sus frutos en las recolecciones efectuadas y luego se calculó el valor promedio de la producción por cada planta.

3.6.11 Evaluaciones de la calidad de los frutos.

Se muestrearon tres grupos de 10 frutos por tratamiento tomados al azar y se realizaron las siguientes determinaciones:

- El contenido de sólidos solubles (Brix) (%): se determinó por el método refractométrico, en el sobrenadante del material centrifugado a 2000 rpm x 20 minutos.
- la acidez titulable (%): se obtuvo a partir de una alícuota de 25 ml del sobrenadante, por titulación potenciométrica con NaOH 0,1 N hasta alcanzar pH 8,1, según la metodología descrita por Camacho y Ríos (1972).
- Porcentaje de materia seca (%): Los frutos seleccionados fueron sometidos a una temperatura de $70 \pm 5^{\circ}\text{C}$, hasta lograr masa constante y posteriormente se determinó su porcentaje de masa seca utilizando la fórmula:

$$\text{PMs} = \text{Ms} / \text{Mf} * 100$$

donde: **PMs**, Porcentaje de masa seca de los frutos; **Ms**, Masa seca de los frutos y **Mf**, Masa fresca de los frutos.



3.6.12 Análisis estadísticos.

Los resultados experimentales fueron sometidos a Análisis de Varianza según el diseño experimental empleado y se comprobó previamente la normalidad de los datos por la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianza por la prueba de Bartlett. En los casos en que se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, las comparaciones de medias se realizaron según la Dócima de Tukey para el 5% de probabilidad del error. Para el análisis estadístico fue utilizado el paquete estadístico STATGRAPHICS *Versión 5.0* y para realizar los gráficos el programa SigmaPlot *versión 6*, ambos en ambiente *Windows*. En el caso de la caracterización química y microbiológica de los biosólidos se utilizó como estadígrafo de dispersión el Intervalo de confianza con una probabilidad de error del 5%.



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de los biosólidos de aguas residuales

urbanas procedentes de la EDAR “Quibú”.

4.1.1. Características químicas de los biosólidos

En la **Tabla 8** aparecen los resultados de los indicadores químicos que con más frecuencia se analizan en trabajos de interés agronómico encontrados en los biosólidos, los cuales se encuentran en un orden decreciente: MO oxidable > Ca > N > P > Mg > K y sus niveles son comparables con los reportados por Paneque y Calaña (2004) para los abonos más utilizados en la agricultura cubana (estiércol vacuno, estiércol equino, estiércol porcino, estiércol ovino, compost, gallinaza, guano de murciélago, turba, cachaza fresca, cachaza cruda) (**A**) y los informados por Andrade y col. (2000); Aparecida y De Castro (2002); Boeira y col. (2002) y Miralles y col. (2002a) en diferentes biosólidos de aguas residuales urbanas, a escala internacional (**B**). Las magnitudes del pH presentan valores que varían desde el neutro hasta ligeramente básicos.

Tabla 8. Propiedades químicas de los biosólidos procedentes de cinco descargas de la Estación Depuradora de Aguas Residuales Urbanas “Quibú” (expresados en base seca).

Indicador		Media	Intervalo de Confianza	Límites	
				A	B
MO, %		42,35	39,34 - 45,36	17,14 - 63,51	20,6 - 57,4
Ca	Total (%)	8,84	7,3 - 10,38	-	1,31 - 4,70
N		2,6	1,9 - 3,3	0,67 - 2,44	0,46 - 4,20
P		1,35	1,11 - 1,59	0,40 - 4,12	0,60 - 4,9
Mg		0,84	0,62 - 1,06	-	0,35 - 1,28
K		0,76	0,49 - 1,03	0,33 - 3,6	0,13 - 1,11
pH		7,12	6,99-7.25	-	-
Relación C/N		10/1	8/1 – 14/1	8/1 – 40/1	-

A, abonos orgánicos más utilizados en la agricultura cubana; **B**, biosólidos de aguas residuales urbanas a escala internacional.



Como se puede observar en dicha tabla, los mayores constituyentes de los biosólidos están representados por la MO oxidable, el Ca, el N y el P, lo cual indica que la procedencia de estos biosólidos es fundamentalmente de origen residencial, ya que existe una carga orgánica importante proveniente de las aguas albañales y del lavado y cocción de los alimentos, dentro de esta carga orgánica viene el N y gran parte del P, ambos elementos forman parte de las proteínas y otros compuestos orgánicos presentes en estos residuos.

Dentro de los beneficios que reportan los contenidos relativamente altos de MO oxidable presentes en los biosólidos, esta la presencia de altos contenidos de carbono fácilmente degradable por parte de los microorganismos, trayendo consigo la liberación de los elementos nutrientes secuestrados en la MO (Soliva, 2000 y De Azevedo y col., 2001). En este sentido, De Andrade, (2004) informaron que del contenido total de MO encontrada en los biosólidos, alrededor del 25 - 46 % estaba representada por las proteínas. Tommaso y col. (2002), encontraron que las proteínas son las principales constituyentes de los residuos domésticos. Ferreira (2000) informó que los grupos de sustancias orgánicas en los residuos urbanos están constituidos fundamentalmente por compuestos de proteínas (40 a 60%), carbohidratos (25 a 50%), grasas (10%), urea, etc.

Por otro lado, el P también proviene de los cuerpos microbianos de los residuales y de los saborizantes que utilizan fosfatos como aditivos.

Los contenidos relativamente altos de Ca y P en los biosólidos también pueden ser producto de los detergentes utilizados en las limpiezas de locales y residencias, además del procedente del arrastre en masa que provocan las corrientes de aguas residuales superficiales al pasar por los suelos de la zona (fundamentalmente, Ferrálíticos Rojos y Pardos Carbonatados), los cuales están formados sobre rocas sedimentarias, como la piedra caliza, lo que provoca que estos iones sean comunes en



esta agua residual, según informó Leal y Molerio (2003) y en los biosólidos, una vez que las aguas hayan sido depuradas y vertidas a los cauces receptores.

Es de señalar, que a pesar que los niveles de K encontrados en los biosólidos, son comparables con los abonos orgánicos más utilizados en la agricultura, su contenido en los citados residuos se considera relativamente bajo, debido a que este elemento es muy soluble en agua y el mayor contenido se pierde con ésta, una vez depurada, fenómeno que fue publicado por Soliva (2000) y Shober y col. (2003).

La relación C/N de los biosólidos se encuentra dentro del rango informado por Paneque y Calaña (2004) para los abonos orgánicos más utilizados en la agricultura cubana y es similar a los encontrados por estos autores en el humus de lombriz, la cual varía de 10/1 – 13/1 y es considerada según Sánchez (1999) como óptima para los abonos orgánicos aplicados en los suelos de uso agrícola.

Esta baja relación C/N muestra que la MO presente en los biosólidos es un material estabilizado y con un grado avanzado de mineralización, lo que evidencia que estos residuos son una fuente potencial de nutrientes en un breve plazo de tiempo, después de su aplicación. Esto es posible, porque estos residuos no contienen altos contenidos de ligninas, ni productos de alta resistencia al ataque microbiano, debido a su origen, el cual es fundamentalmente doméstico.

Por otro lado, durante el proceso de depuración de las aguas residuales estos residuos son sometidos a una continua degradación, que es el objetivo del proceso de digestión anaeróbica, mediante el cual se utilizan microorganismos capaces de degradar los compuestos orgánicos procedentes de diferentes orígenes que llegan a las Estaciones Depuradoras.

El pH en los biosólidos se encuentra en valores cercanos a la neutralidad, lo que puede propiciar que cuando se aplique al suelo actúe



como corrector de este parámetro en los casos en que sus magnitudes estén por debajo o por encima del neutro (7). Este aspecto, es muy importante ya que a valores de pH cercanos a la neutralidad los macronutrientes tienen alta movilidad en el suelo y su mayor tasa de asimilación por las plantas; mientras que, la absorción de los MP por las mismas se ve limitada y de esta manera se evita que las plantas absorban niveles extremadamente excesivos o tóxicos de estos elementos, fenómeno que suele ocurrir en plantas desarrolladas en sustratos con pH ácido como ha sido informado por Malavolta y col. (1989).

4.1.2 Contenidos totales de metales pesados en los biosólidos

Los principales MP presentes en los biosólidos fundamentalmente de origen residencial, son el Fe, Mn, Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Hg, As y Cr), según lo informado con anterioridad por González y col. (2005). En esta investigación se realizó un monitoreo inicial de estos MP en los biosólidos utilizados en esta investigación y sólo se encontraron en concentraciones detectables el Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Cr y trazas de Pb. Los mismos se presentaron en una secuencia de concentración decreciente: $Fe > Cu > Zn > Cr > Ni > Mn > Co > Pb$, tal como se puede observar en la **Tabla 9**.

Las concentraciones totales de estos elementos se encuentran en niveles considerablemente más bajos que los *límites máximos permisibles* (LMP) informados por las Normativas de España (BOE 1990), Europa (CEE 1986), Estados Unidos (USEPA 1993), citadas por Illera y col. (2001) y México (NOM-004-ECOL-2001), las cuales regulan la utilización de los biosólidos con fines agrícolas (**Tabla 9**), razón por la cual no se consideró necesario evaluar los niveles disponibles de estos elementos en los citados residuos. Basados en estos contenidos y si se tiene en cuenta que la presencia de MP en los biosólidos es su principal factor limitante para el uso agrícola, según lo informado por Delgado y



col. (2000) y Miralles y col. (2002b), se pueden considerar los mismos aptos para ser aplicados en la agricultura.

El metal pesado que se encontró en mayor concentración en los biosólidos fue el Fe, quizás debido al desprendimiento de partículas de las tuberías utilizadas en las redes conductoras de aguas y del arrastre en masa producido por las aguas residuales en su paso por los suelos de la zona, ya que los Ferralíticos Rojos, en su composición química presentan elevadas concentraciones de óxido de Fe. En segundo orden de concentración le siguió el Cu, lo cual indica la presencia de un posible foco de contaminación sin control de este elemento en las aguas residuales que llegan a la EDAR, ya que el Cu proviene fundamentalmente de los sistemas de explotaciones industriales.

Tabla 9. Contenidos totales de metales pesados en los biosólidos procedentes de cinco descargas de la Estación Depuradora de Aguas Residuales urbanas “Quibú” y valores máximos permisibles para ser destinados al uso agrícola, según las normativas de diferentes países (expresados en base seca).

Metales pesados		Media	Intervalo de Confianza	Valores máximos permisibles			
				BOE 1990	CEE 1986	USEPA 1993	NOM-004-ECOL-2001
Fe, %		2,09	1,99 - 2,19	-	-	-	-
Cu	Total (mg.kg ⁻¹)	337,67	332,5 - 342,84	1000-1750	1000-1750	4300	1500-4300
Zn		135,0	61,82 - 208,18	2500-4000	2500-4000	7500	2800-7500
Cr		79,37	68,76 - 89,98	1000-1500	-	3000	1200-3000
Ni		59,5	52,98 - 66,02	300-400	300-400	420	420
Mn		55,67	54,24 - 57,10	-	-	-	-
Co		18,83	16,66-21,00	-	-	-	-
Pb		< LD	-	750-1200	750-1200	840	300-840

LD, Límites de detección (5 mg.kg⁻¹).

Se destaca, que el elemento que mayor variación experimentó en las diferentes descargas de biosólidos fue el Zn, quizás debido a que este elemento es un constituyente de los detergentes y su descarga en el agua es muy variable, tanto como lo es el tipo de detergente utilizado y la composición de los mismos, lo que pudo haber influido notablemente en la composición de los biosólidos.



La variabilidad cuantitativa de los MP presentes en los biosólidos indica la existencia de diferentes fuentes de contaminación permanente durante el recorrido de las aguas que le dieron origen, lo cual no atenta contra la calidad de las producciones agrícolas, debido a que los niveles encontrados en estos residuos orgánicos están muy por debajo de los niveles máximos que regulan su aplicación en suelos agrícolas.

4.1.3 Poblaciones de microorganismos en los biosólidos.

En la **Tabla 10** se puede evidenciar que las poblaciones totales de microorganismos en los biosólidos, son muy variables entre especies y se encuentran en un orden de 10^7 en las bacterias y de 10^5 a 10^6 en los hongos y actinomicetos, respectivamente. Esto puede ser debido a diversos factores, los cuales van desde las diferentes etapas por las que pasan las aguas residuales durante su procesamiento desde de su entrada a la EDAR, hasta la influencia de los diferentes factores ambientales una vez que los biosólidos han sido depositados en los lechos de secado, para lograr un nivel de humedad que permita manejarlos con facilidad.



Tabla 10. Características microbiológicas de los biosólidos procedentes de cinco descargas de la Estación Depuradora de Aguas Residuales urbanas “Quibú” y niveles de microorganismos patógenos aceptables según tipo de biosólidos, según la USEPA, (1993).

Microorganismos		Límites	USEPA, 1993 Nivel de microorganismos patógenos aceptable en biosólidos	
			Biosólidos Clase A	Biosólidos Clase B
Bacterias totales	(UFC.g ⁻¹ muestra)	6.73x10 ⁷ - 9.3x10 ⁷	-	-
Nitro fijadores totales		10 ⁶	-	-
Hongos totales		2x10 ⁵ - 3.2x10 ⁶	-	-
Actinomicetos totales		2x10 ⁶ - 4.5x10 ⁶	-	-
Coliformes totales		1x10 - 1.1x10 ³	-	-
Coliformes fecales		1.0x10	1x10 ³ UFC. g ⁻¹ sólidos	1x10 ³ -2.10 ⁶ UFC. g ⁻¹ sólidos
<i>Staphylococcus aureus</i>		< 100	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		negativa	-	-
<i>Salmonellas spp.</i> , UFC. 4 g muestra		negativa	3 UFC. 4 g ⁻¹ sólidos	-

UFC: Unidades Formadoras de Colónias (-) no existe el dato

Se destaca el hecho, que de la población de bacterias totales presente en los biosólidos, los microorganismos nitro fijadores totales ocupan un lugar destacado, debido a su concentración relativamente alta en estos residuos. Este aspecto es muy importante ya que puede contribuir a la nutrición nitrogenada de las plantas.

La concentración de microorganismos patógenos en los biosólidos, tales como Coliformes totales y fecales, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonellas spp.*, no constituyen una limitante para su uso en la agricultura, ya que los valores detectados se encuentran por debajo de los niveles aceptables para ser aplicados en sistemas de producciones agrícolas (USEPA, 1993).

De forma general, en este estudio se evidenció que los niveles de macronutrientes, algunos MP y microorganismos presentes en las distintas descargas de biosólidos son pocos variables.



4.1.4 Consideraciones Generales

Los biosólidos de la EDAR “Quibú” tienen potencialidades para ser aplicados en la agricultura, debido a su contenido de MO y nutrientes esenciales para las plantas, los cuales son comparables con los abonos orgánicos más utilizados en la agricultura y con otros tipos de biosólidos a escala internacional. Se destaca el hecho, que los niveles de K de estos residuos orgánicos son relativamente bajos, lo que implica que en determinados cultivos pudiera ser necesario recurrir a un aporte adicional de K, con vista a satisfacer las demandas de los mismos.

El contenido de MP y microorganismos patógenos están por debajo de los LMP establecidos por las normas de varios países, que regulan la aplicación de estos materiales orgánicos en sistemas de producciones agrícolas. Esto evidencia una notable ventaja de estos residuos con respecto a los fertilizantes minerales, al tener en su composición además de macronutrientes en cantidades adecuadas, micronutrientes (Fe, Cu, Zn, Cr, Ni, Mn, Co) necesarios para el normal desarrollo de las plantas, representando un producto relativamente completo desde el punto de vista nutritivo. En el caso de los microorganismos, los niveles encontrados son muy importantes en los suelos, debido al papel que juegan los mismos en la descomposición de la MO y los procesos biogeoquímicos de los elementos, como es el caso de los nitrofixadores totales, lo cuales juegan un papel preponderante en el ciclo del N.

De forma general, la composición de los biosólidos varía entre las diferentes descargas efectuadas, debido a que las características de las aguas residuales varían de forma sustancial con la época del año, como resultado fundamentalmente, de los diferentes vertimientos que en sus causas se realizan y además a la influencia de las condiciones climáticas, de manera especial, la pluviometría, ya que en nuestro país cada estación del año no se comporta de igual manera, tanto climática como productiva, lo cual redunda en la composición de los biosólidos



obtenidos. Por tales razones, se consideró necesario seguir los criterios realizados por diferentes gestores de estos residuales en cuanto a referir sus constituyentes en rangos de valores, lo cual implica una mejor caracterización general del producto obtenido para la gestión y venta.

Por todo esto, es que se pueden considerar a los biosólidos utilizados en esta investigación, aptos para ser aplicados en la agricultura como fuente potencial de MO y nutrientes que contribuyen a mejorar las propiedades químicas, físicas y microbiológicas de los suelos de Cuba, ya que según el Mapa Genético de Suelos (Instituto de Suelos, 1973), los agrupamientos que ocupan mayor extensión en nuestro país son los Ferralíticos y Pardos, con más de 55 000 km² entre ambos.

Los Ferralíticos, especialmente los suelos Ferralíticos Rojos, subtipo compactados son suelos arcillosos muy plásticos en estado húmedo y muy duros en estado seco, y se caracterizan por la compactación ocasionalmente excesiva de sus horizontes inferiores (Jaimez, 2003), además son suelos muy profundos (más de 100 cm), saturados por Ca²⁺ y con niveles bajos de MO, por lo que son considerados de baja fertilidad natural (Peralta, 1991).

Por otro lado, los suelos Pardos son profundos o medianamente profundos, humificados (entre 2.0 – 4.0 % de MO) y fértiles. No obstante, estos suelos presentan algunas limitantes para la agricultura, tales como pedregosidad, gravillas y problemas de compactación (Jaimez, 2003). Estas limitantes pueden ser corregidas o minimizadas con la aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas.



4.2 Efecto del uso agrícola de biosólidos de aguas residuales urbanas en las propiedades químicas del suelo y el desarrollo vegetativo de las plantas de tomate.

4.2.1 Caracterización nutricional y pH de los sustratos

Como se aprecia en la **Tabla 11**, el suelo utilizado para la realización de esta investigación presenta un contenido adecuado de P asimilable, Ca y K intercambiables y el contenido de MO oxidable varía de medio a bajo. Los resultados de los análisis realizados a los diferentes sustratos mostraron que el contenido de P, Ca y MO oxidable se incrementó con la aplicación de biosólidos al suelo, los cuales presentan niveles relativamente altos de estos elementos (**Tabla 8**). En este sentido, varios autores han encontrado que la aplicación de estos residuos orgánicos aumenta los contenidos de Ca (Pasqualoto y *col.*, 2001; Penn y Sims, 2002; Keller y *col.*, 2002), MO oxidable y P (Delgado y *col.*, 2002b; Siddique y Robinson, 2003; Andrade y *col.*, 2000) en los suelos, conforme al aumento de las dosis aplicadas.



Tabla 11. Caracterización de un suelo Ferralítico Rojo compactado tratado con diferentes niveles de biosólidos de aguas residuales urbanas (inicio de la investigación).

Indicadores		Tratamientos					
		Experimento 1					
		S	F	B ₉₅	B ₁₁₅	B ₁₃₅	B ₁₅₀
MO, (%)		2,68±0,08 c	-	4,24±0,06 b	4,92±0,07 a	5,07±0,05 a	-
P, (mg.kg ⁻¹)		564,6±10,3 d	-	988,6±0,7 c	1183,3±8,3 b	1244,0±2,4 a	-
Ca	(cmol.kg ⁻¹)	12,10±0,47 b	-	19,10±0,21 a	20,50±1,17 a	21,80±0,62 a	-
K		0,71±0,04 ns	-	0,68±0,06 ns	0,71±0,03 ns	0,79±0,03 ns	-
Mg		1,27±0,44 b	-	4,00±0,49 a	3,97±0,82 a	3,83±0,32 a	-
pH		8,20±0,02 a	-	7,60±0,03 b	7,50±0,03 b	7,50±0,04 b	-
Experimento 2							
MO, (%)		2,9±0,04 c	2,8±0,02 c	3,2±0,06 bc	3,6±0,19 b	4,1±0,04 a	4,4±0,08 a
P, (mg.kg ⁻¹)		241,3±13,3 b	228,7±5,20b	396,0±9,0 a	409,3±8,09a	400,3±2,33a	349,7±6,01a
Ca	(cmol.kg ⁻¹)	12,8±0,83 b	13,4±0,81 b	15,9±0,33 a	15,2±0,09 ab	16,5±0,06 a	16,0±0,35 a
K		0,81±0,03 a	0,86±0,01 a	0,88±0,01 a	0,75±0,01 ab	0,78±0,04 ab	0,69±0,01b
Mg		1,5±0,5 ns	1,0±0,20 ns	0,9±0,20 ns	1,7±0,12 ns	1,5±0,06 ns	1,5±0,26 ns
pH		7,7±0,06 bc	7,6±0,13 c	8,0±0,03 a	7,9±0,03 ab	8,0±0,00 ab	8,1±0,03 a

Contenido medio del indicador y pH ± el error estándar. S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₉₅, B₁₁₅, B₁₃₅ y B₁₅₀ (95, 115, 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo).

En cuanto al contenido de Mg y K intercambiables no se observó una tendencia definida en su comportamiento, debido a los bajos niveles presentes en los biosólidos. Sin embargo, los niveles de estos elementos en los sustratos son adecuados para el desarrollo del tomate.

La aplicación de biosólidos mantuvo el pH de los sustratos en valores ligeramente básicos, lo que está relacionado con las magnitudes del mismo en estos residuos orgánicos.

Es importante destacar, las diferencias en los niveles de P y el Mg asimilables entre los diferentes sustratos utilizados en esta investigación, los cuales son para el caso del P aproximadamente dos veces mayores en el experimento 1 que en el experimento 2, probablemente debido a anteriores fertilizaciones minerales enriquecidas



en este elemento. No obstante, en ambos experimentos, el aumento de los contenidos de este elemento en los sustratos donde se aplicaron las diferentes dosis de biosólidos, existe similar proporción al contenido inicialmente presente en el suelo utilizado para la experimentación. En cuanto al Mg, las diferencias en los niveles de concentraciones de este elemento encontrados en el sustrato entre años de experimentación se deben a las mayores concentraciones de este elemento encontradas en el biosólido aplicado en el primer año con respecto al segundo, lo cual produjeron el comportamiento observado.

Las diferencias en los contenidos de macronutrientes, en el suelo sin biosólidos, entre años pueden ser debidas a las transformaciones y movilidad de los elementos en el suelo, a la distribución espacial y a factores tanto antropogénicos como del cultivo.

Los resultados obtenidos en la caracterización de los sustratos y la influencia de la aplicación de biosólidos sobre los contenidos de algunos elementos de interés agronómico, indican que el contenido de MO oxidable y elementos esenciales asimilables se incrementan en los suelos por la aplicación de estos residuos orgánicos, lo cual constituye un aspecto de vital importancia para las plantas, debido al papel que juegan los elementos esenciales en el desarrollo fisiológico de las mismas y la MO oxidable como fuente importante y gradual de elementos nutrientes, fundamentalmente N, a la vez que influye positivamente en las propiedades físicas, físico-química y microbiológicas de los suelos.

4.2.2 Fenología de las plantas

Al evaluar la influencia de la aplicación de biosólidos sobre las manifestaciones de algunos eventos fenológicos de las plantas, se observó que la aplicación de estos residuos orgánicos no tuvo efecto en el proceso germinativo de las semillas, que ocurrió entre los cuatro y cinco días después de la siembra. Sin embargo, tuvo un efecto marcado



en los restantes eventos fenológicos evaluados (**M₁**, Emisión de las cinco primeras hojas verdaderas; **M₂**, Inicio de floración y **M₃**, Inicio de fructificación) (**Figura 1**).

Los resultados evidencian que las plantas desarrolladas en el suelo tratado con las diferentes dosis de biosólidos (**B₉₅**, **B₁₁₅**, **B₁₃₅** y **B₁₅₀** g biosólidos.kg⁻¹ de suelo), tardaron menos tiempo en emitir las cinco primeras hojas verdaderas e iniciar la floración que las cultivadas en el suelo natural, las cuales no lograron fructificar, fenómeno debido a que estas últimas no contaron con una fuente adicional de N (aporte que si ocurrió en el suelo tratado con biosólidos y el fertilizado mineralmente), el cual es necesario aportar en estos tipos de suelos, ya que se caracterizan por poseer contenidos bajos y medios de MO, principal fuente natural de N en los suelos.

Las plantas desarrolladas en el suelo tratado con las diferentes dosis de biosólidos alcanzaron resultados similares y en algunos casos superiores al de las cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral (urea), las cuales tardaron más tiempo en iniciar la floración y la fructificación que las cultivadas en el suelo tratado con 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo.

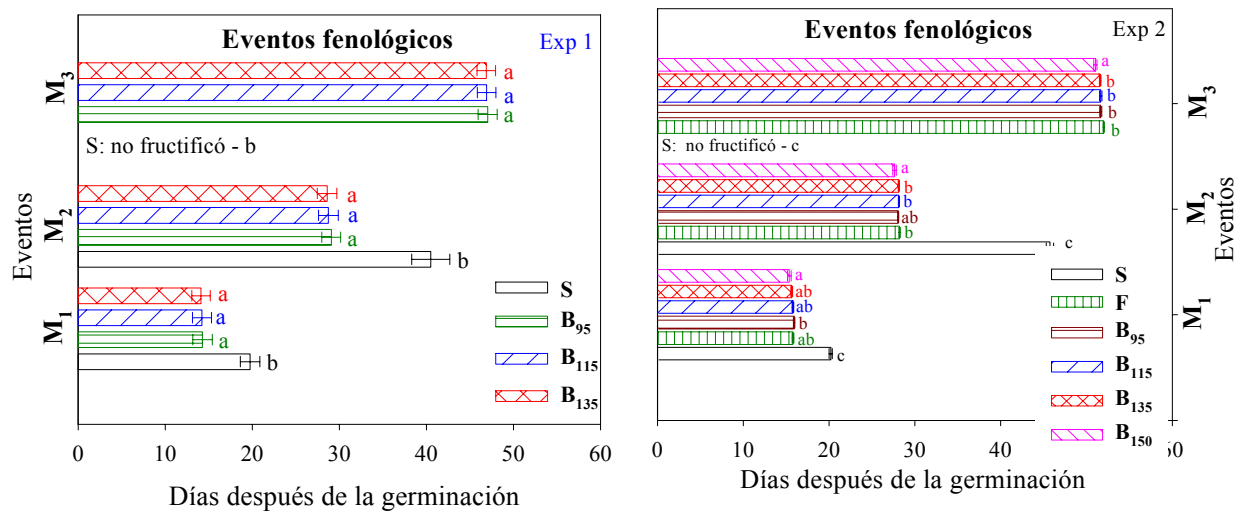


Figura 1. Días a los cuales se presentaron las manifestaciones de algunos eventos fenológicos en plantas de tomate cultivadas en un suelo tratado con diferentes dosis de biosólidos. Eventos: M_1 , Emisión de las cinco primeras hojas verdaderas; M_2 , Inicio de la floración y M_3 , Inicio de la fructificación. S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B_{95} , B_{115} , B_{135} y B_{150} (95, 115, 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo). I, error estándar de la media.

El acortamiento del tiempo para iniciar la floración y la fructificación de las plantas de tomate cultivadas en el suelo tratado con las diferentes dosis de biosólidos, es debido al incremento que produce la aplicación de estos residuos orgánicos en los contenidos de elementos esenciales en forma asimilable por las plantas y a los provenientes de la mineralización de la MO. Por otra parte, la MO aportada al suelo por los biosólidos, además de mejorar sus propiedades físicas, provee un lecho con características adecuadas para el desarrollo de los microorganismos que participan su degradación y en los ciclos de los elementos en los suelos. Estos resultados evidencian las posibilidades de utilizar los biosólidos en el desarrollo de las plantas.

Se destaca que las plantas del experimento 1 tardaron 5 días menos en llegar a la fase final del experimento (inicio de la fructificación) que las del experimento 2, comportamiento que pudo estar influenciado por la diferencia de la temperatura nocturna promedio durante el desarrollo de



los experimentos, la cual fue mayor en el primero (20,1°C) que el segundo (18,7°C). El incremento de la temperatura nocturna promedio pudo intensificar la actividad microbiana en el suelo y con ella los procesos degradativos de la MO, además de los procesos metabólicos del vegetal, el cual se ve favorecido por los incrementos de temperaturas dentro del rango óptimo para el cultivo (16-25°C), según lo informado por Cuartero (2001).

4.2.3 Crecimiento de las plantas

La aplicación de biosólidos al suelo incrementó la altura de las plantas con tendencia a aumentar significativamente con las mayores dosis aplicadas (**Figura 2**), con magnitudes superiores al de las plantas desarrolladas en el suelo natural y similar o superior a las cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral. Resultados similares fueron encontrados por Maclaren y col. (2003), quienes al aplicar biosólidos al suelo evidenciaron un incremento significativo en el crecimiento de las plantas.

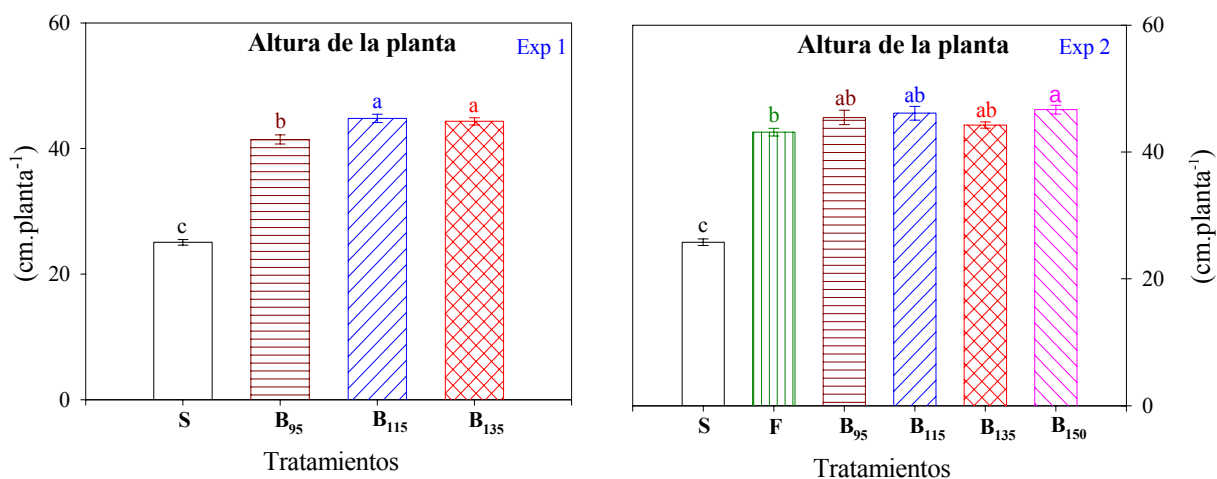


Figura 2. Altura de plantas de tomate cultivadas en un suelo tratado con diferentes dosis de biosólidos, a los 40 ddg. S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₉₅, B₁₁₅, B₁₃₅ y B₁₅₀ (95, 115, 135 y 150 g biosólido.kg⁻¹ de suelo). I, Error estándar de la media.



La aplicación de biosólidos al suelo incrementó la superficie foliar de las plantas (**Figura 3**), logrando en el primer experimento valores superiores cuando las mismas se desarrollaron en el suelo tratado con 115 y 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo y en el segundo cuando se desarrollaron en el suelo donde se aplicó 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo, e incluso los valores son mayores que los alcanzados por las plantas desarrolladas en el suelo que recibió la aplicación de fertilizante mineral.

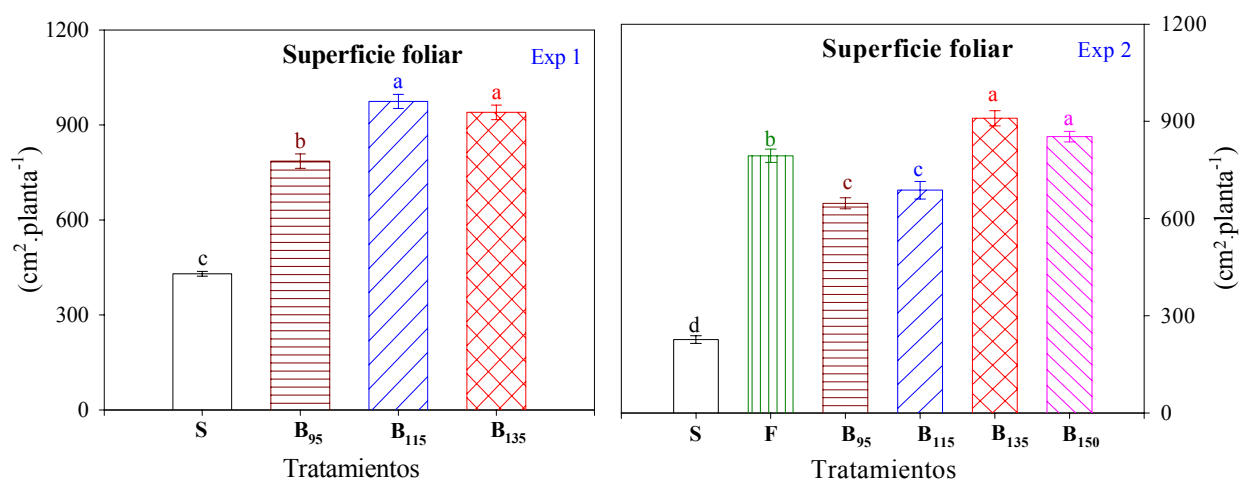


Figura 3. Superficie foliar de plantas de tomate cultivadas en un suelo tratado con diferentes dosis de biosólidos, al final de los experimentos (cuando el 75 ± 5% de las plantas desarrolladas en los tratamientos donde se aplicaron los biosólidos se encontraban en la fase de Inicio de la fructificación). S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₉₅, B₁₁₅, B₁₃₅ y B₁₅₀ (95, 115, 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo). I, error estándar de la media.

Como es bien conocido, el incremento en la superficie foliar tiene gran importancia fisiológica para las plantas, ya que con el aumento de esta variable existe una mayor posibilidad de que haya una mayor superficie fotosintéticamente activa, la cual favorece la producción de carbohidratos que unidos al agua y a los elementos minerales absorbidos por las raíces, inducen un incremento en la síntesis de



proteínas y otros compuestos orgánicos, que resultarán en un aumento de la producción de biomasa en las plantas.

Al analizar la producción de biomasa de los diferentes órganos (**Figura 4**), se hace evidente que hubo una fuerte tendencia a que sus incrementos se correspondan con el de la superficie foliar. Se observa que la producción de biomasa foliar, radical, del tallo y la total de las plantas muestra un marcado incremento en respuesta a la aplicación de biosólidos al suelo, logrando en el primer experimento una mayor producción cuando fueron cultivadas en el suelo donde se aplicó 115 y 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo y en el segundo cuando se aplicó 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo, cuyas magnitudes fueron similares a las encontradas en las plantas desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral.

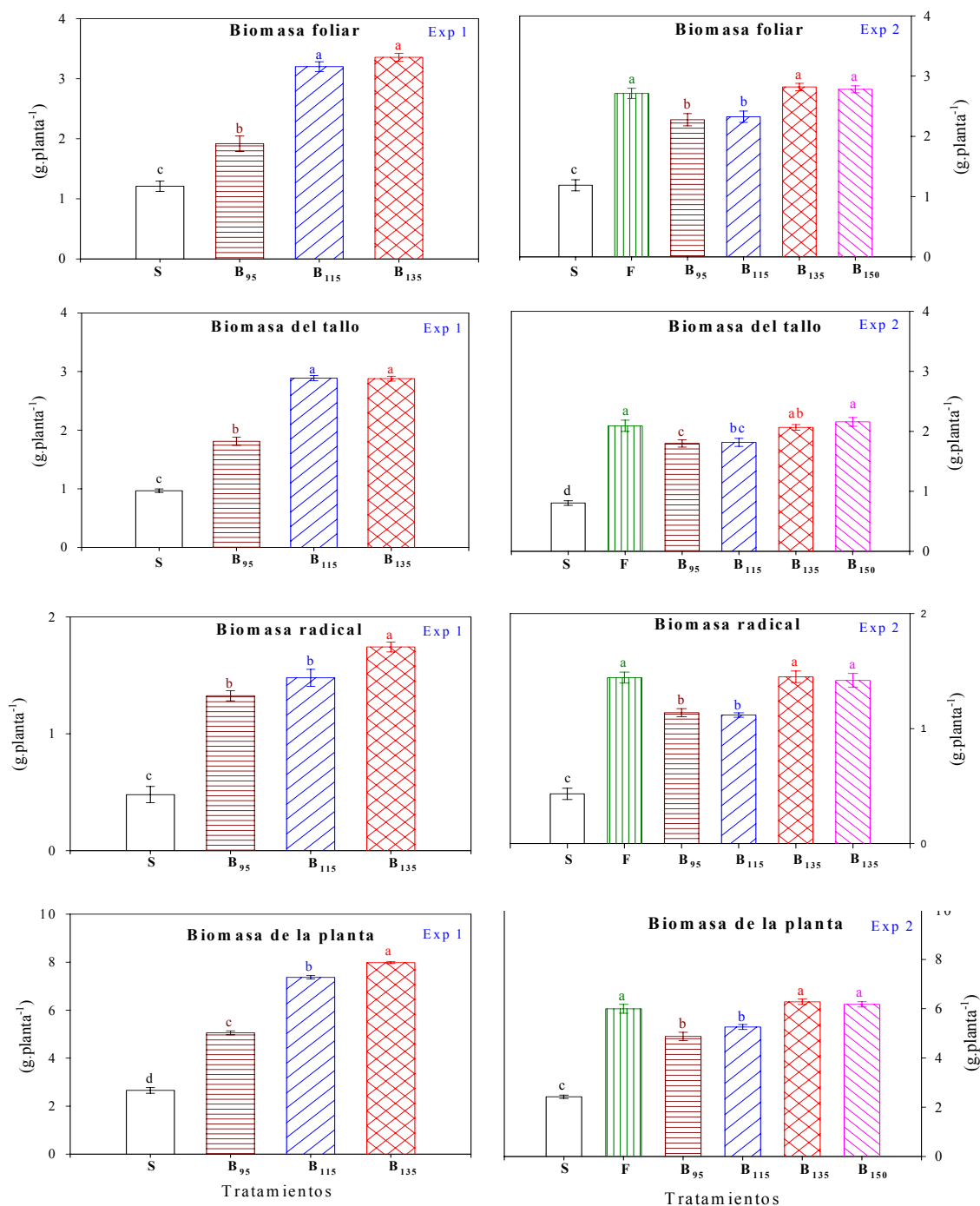


Figura 4. Producción de biomasa (masa seca) de los diferentes órganos y total de las plantas de tomate cultivadas en un suelo tratado con diferentes dosis de biosólidos, al final de los experimentos (cuando el $75 \pm 5\%$ de las plantas desarrolladas en los sustratos tratados con biosólidos se encontraban en la fase de Inicio de la fructificación). S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₉₅, B₁₁₅, B₁₃₅ y B₁₅₀ (95, 115, 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo). I, error estándar de la media.



Los resultados sugieren que la disponibilidad de nutrientes en el suelo fue suficiente para lograr la mayor estimulación del desarrollo vegetativo de las plantas cuando se trató el mismo con 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo; ya que su efecto en todos los casos fue similar o superior al producido en las plantas cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral.

Estos efectos favorables a las plantas, son el resultado del incremento en los contenidos de elementos esenciales en forma asimilables aportados al suelo por la aplicación de biosólidos, y a los resultantes del proceso de degradación de la MO, además de las mejoras que producen la aplicación de estos residuos orgánicos en las propiedades físicas y biológicas del suelo, lo que garantiza un mayor desarrollo de las plantas. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en sorgo por Al-Jaloud (1999), en trigo por Miralles y col. (2002a) y en zanahoria por Martínez y col. (2003), quienes concluyeron que la aplicación de estos residuos incrementa significativamente la producción de biomasa de las plantas, como respuesta al incremento que provoca dicha aplicación en el contenido de nutrientes.

La información hasta aquí discutida, confirma la relación que existe entre las características de los sustratos y el desarrollo de las plantas.

4.2.4 Contenido de N y P en la parte aérea de las plantas

En la **Figura 5**, se presentan los valores del contenido de N en la parte aérea de las plantas. En la misma se observa que en el primer experimento la aplicación de biosólidos provocó un incremento en el contenido de este elemento de aproximadamente siete, ocho y diez veces cuando se aplicaron 95, 115 y 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo, respectivamente, en comparación con el valor obtenido por las plantas cultivadas en el suelo natural. En el segundo experimento, el incremento del contenido de este elemento fue aproximadamente de cinco veces en las plantas cultivadas en el suelo tratado con 95 y 115 g biosólidos.kg⁻¹



de suelo) y de siete veces en las desarrolladas en el suelo tratado con 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo comparado éste comportamiento con el de las plantas desarrolladas en el suelo natural, siendo similar al contenido alcanzado por las plantas cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral.

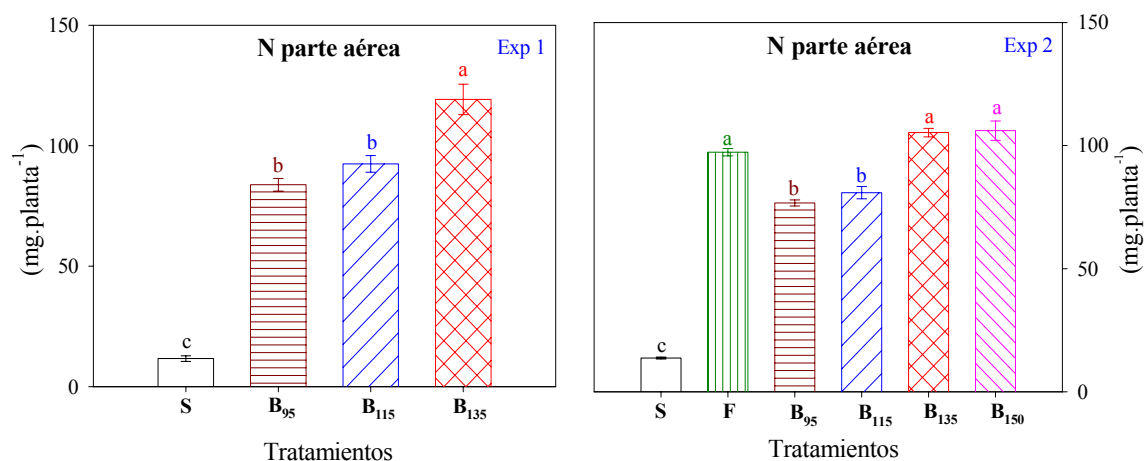


Figura 5. Contenido de N en la parte aérea de plantas de tomate (tallo y hojas), cultivadas en un suelo tratado con diferentes dosis de biosólidos, al final de los experimentos (cuando el $75 \pm 5\%$ de las plantas desarrolladas en los tratamientos donde se aplicaron biosólidos se encontraban en la fase de Inicio de la fructificación). S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₉₅, B₁₁₅, B₁₃₅ y B₁₅₀ (95, 115, 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo). I, Error estándar de la media.

Estos resultados demuestran que la aplicación de biosólidos puede satisfacer la demanda de N de las plantas, al igual que el fertilizante mineral (urea).

Este fenómeno se debe, a que los biosólidos presentan en su composición además del N aportado directamente en forma asimilable por las plantas, niveles relativamente altos de compuestos nitrogenados tales como, proteínas, aminos y amidas entre otros, que al ser degradados por los microorganismos del suelo constituyen una fuente natural de N en forma asimilable para las plantas, ambas fuentes son muy importantes ya que le confieren un adecuado contenido de N



a los suelos para el desarrollo de las plantas y la supervivencia de los microorganismos y sus procesos biológicos.

Comportamientos similares fueron encontrados por Gascó y col. (2001) y Miralles y col. (2002a), quienes observaron que la aplicación de biosólidos incrementó el contenido de N en hojas de olivo y Carneiro y Poggiani (2003), notificaron que en apenas dos meses después de la aplicación de biosólidos se produjo un incremento en los tenores de N foliar de plantas de *Eucalyptus sp.* Estos autores asumen este hecho a la mayor cantidad de compuestos nitrogenados fácilmente degradables aportados por estos residuos, con relación al suelo natural y al fertilizado mineralmente.

La aplicación de biosólidos al suelo también incrementó el contenido de P en la parte aérea de las plantas (**Figura 6**). Las plantas cultivadas en el suelo tratado con estos residuos superaron ampliamente los niveles de P encontrados en las desarrolladas en el suelo natural, e incluso cuando se aplicaron 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo, el contenido de este elemento superó al de las plantas cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral en aproximadamente 1,5 veces.

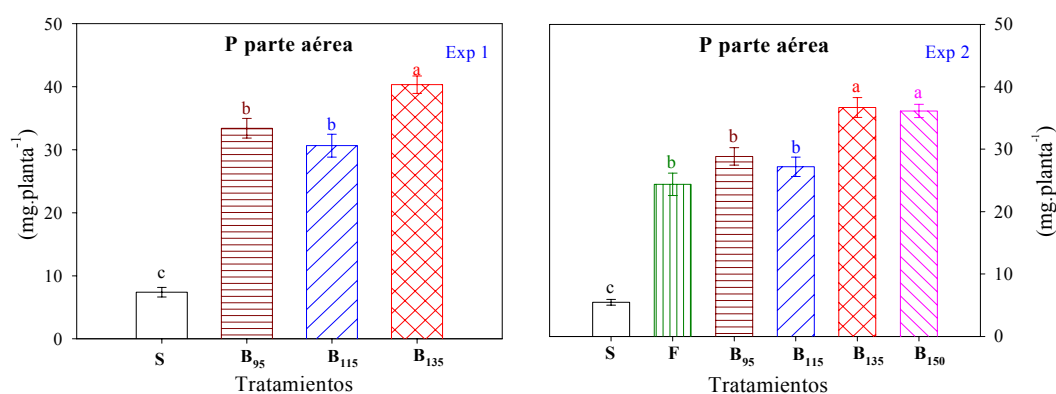


Figura 6. Contenido de P en la parte aérea de plantas de tomate (tallo y hojas), cultivadas en un suelo tratado con diferentes dosis de biosólidos, al final de los experimentos (cuando el $75 \pm 5\%$ de las plantas desarrolladas en los tratamientos donde se aplicaron biosólidos se encontraban en la fase de Inicio de la fructificación). S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₉₅, B₁₁₅, B₁₃₅ y B₁₅₀ (95, 115, 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo). I, Error estándar de la media.



Al igual que el N, la aplicación de biosólidos realizó un aporte directo de P en forma asimilable, y a más largo plazo al procedente de la mineralización de la MO oxidable presente en el sustrato, esto garantizó que el contenido de P en la biomasa aérea de las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó 95 y 115 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo fuera similar al encontrado en las plantas desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral. Los resultados encontrados en las plantas cultivadas en el suelo tratado con 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo, alcanzaron magnitudes superiores de esta variable a las encontradas en las plantas cultivadas en los restantes tratamientos, incluyendo las del suelo tratado con fertilizante mineral. En todos los casos la parte aérea de las plantas desarrolladas en el suelo natural evidenciaron los menores contenidos del elemento.

El fenómeno encontrado evidencia que el tomate no realizó consumo de lujo, ya que a pesar que los niveles de P asimilable en los sustratos del experimento 1 son mayores que en el 2 (**Tabla 11**), los niveles encontrados en la parte aérea son similares. Este comportamiento muestra que la absorción de nutrientes y su posterior acumulación en la parte aérea de las plantas, independientemente de los factores externos, está fuertemente influenciada por las potencialidades genéticas del vegetal.

Se destaca, que aunque no existieron diferencias significativas entre los contenidos de P en el suelo natural y el suelo tratado con fertilizante mineral (los cuales se consideran adecuados) (**Tabla 11**), las plantas de este último lograron mayores contenidos del elemento en la parte aérea, debido al mayor desarrollo vegetativo logrado por las mismas cuando fueron cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral, producto del aporte de N realizado por la aplicación de urea, para lo cual las



plantas demandaron una mayor extracción de elementos esenciales y dentro de ellos de P.

El menor desarrollo de las plantas cultivadas en el suelo natural se corresponde con el bajo contenido de N y P en la parte aérea de las mismas. Esto pudo ser debido al limitado contenido de N procedente de la MO presente en el suelo y al activo papel que juega este elemento en el crecimiento celular y el P en la formación de adenosina trifosfato (ATP) u otros compuestos que le dan la energía necesaria a las plantas para poder llevar a cabo reacciones metabólicas e importantes procesos fisiológicos, deficiencias que se vieron corregidas con la aplicación de biosólidos. En este sentido, Martínez y col. (2003) en zanahoria, y Skousen y Clinger (2003) en maíz, soya, alfalfa (*Medicago sativa* L.) y sorgo encontraron que la aplicación de biosólidos al suelo producía incrementos en los contenidos de N y P en los tejidos de estas plantas.

4.2.5 Contenido de proteínas foliares totales.

Teniendo en cuenta lo planteado por Urriburí (2004), entre el 70 y el 80% del N total presente en las plantas se encuentra formando parte de las proteínas y que un adecuado suministro y/o disponibilidad de este elemento durante el desarrollo de las plantas influye favorablemente en su contenido de proteico, y que este a su vez, es una medida indirecta de la asimilación de N por las plantas, se decidió evaluar el contenido de proteínas foliares totales como criterio del estado nutricional real de las plantas.

En la **Figura 7** se observa que en el primer experimento, las plantas desarrolladas en el suelo tratado con 95, 115 y 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo superaron dos, cuatro y cinco veces, respectivamente, el contenido de proteínas foliares totales alcanzado por las plantas cultivadas en el suelo natural (**S**). De igual forma, en el segundo experimento, los mejores resultados también se obtuvieron con la aplicación de biosólidos, cuando se aplicó la dosis de 135 g



biosólidos.kg⁻¹ de suelo, el contenido de proteínas de las plantas cultivadas en este tratamiento superó seis veces al contenido de las plantas desarrolladas en el suelo natural y dos veces a las del suelo tratado con fertilizante mineral.

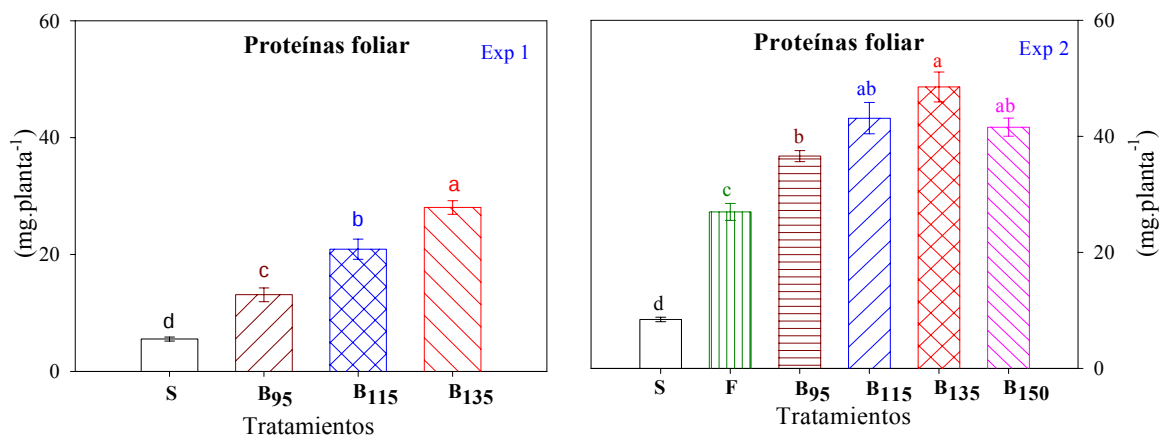


Figura 7. Concentración de proteínas foliares en plantas de tomate cultivadas en un suelo tratado con diferentes dosis de biosólidos, al final de los experimentos (cuando el $75 \pm 5\%$ de las plantas desarrolladas en los tratamientos donde se aplicaron biosólidos se encontraban en la fase de Inicio de la fructificación). S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₉₅, B₁₁₅, B₁₃₅ y B₁₅₀ (95, 115, 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo). I, Error estándar de la media.

Se destacan las diferencias entre los niveles de proteínas foliares totales en los dos años de experimentación, siendo menor en el experimento 1 que en el 2, comportamiento que se atribuye a una mayor movilización de las proteínas desde la parte foliar de la planta (fuente) hacia los órganos de consumo (sumideros), fenómeno evidenciado por la mayor síntesis de biomasa de los diferentes órganos del vegetal (**Figura 4**) y el acortamiento del tiempo necesitado para que el $75 \pm 5\%$ de las plantas desarrolladas en los sustratos tratados con biosólidos se encontraran en la fase de inicio de la fructificación (**Figura 1**), el cual fue de 5 días menos.

Es de señalar, que como se observó en la Figura 5 en el experimento 2 el contenido de N foliar alcanzado por las plantas desarrolladas en el suelo tratado con 135 y 150 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo, fue similar al de



las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral; sin embargo, el contenido de proteínas foliares totales de las plantas cultivadas en los sustratos donde se aplicaron las diferentes dosis de biosólidos mencionadas anteriormente, superaron significativamente a las del suelo fertilizado mineralmente, e incluso las plantas desarrolladas en los sustratos donde se aplicó 95 y 115 g biosólidos.kg de suelo, aún cuando presentan menores valores de N en la parte aérea del vegetal, el contenido de proteínas foliares totales superan al de las plantas cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral (urea).

Este fenómeno demuestra que hubo una mayor asimilación del N absorbido por las plantas desarrolladas en el suelo tratado con las diferentes dosis de biosólidos, por lo que están mejor nutridas, en comparación con las cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral. Esto evidencia un mayor equilibrio entre la absorción y la asimilación del N por parte de las plantas desarrolladas en el suelo cuando se trató con biosólidos. Contrario a esto, cuando se aplicó fertilizante mineral pudo ocurrir una acelerada absorción de N que permitió una acumulación relativamente elevada del elemento en forma no proteica, lo que pudo propiciar su presencia en estado libre en el jugo celular y/o formando parte de aminoácidos, amidas u otros compuestos nitrogenados.

De forma general, en esta investigación se pudo observar la respuesta positiva del crecimiento vegetativo de las plantas a la aplicación de biosólidos de depuradora al suelo, donde los mejores resultados fueron logrados por las plantas cultivadas en el suelo tratado con 135 y 150 g de biosólidos.kg⁻¹ de suelo, las cuales en todos los casos alcanzaron resultados similares o superiores al de las plantas cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral, lo que evidencia que la aplicación de estas dosis fueron capaces de satisfacer los requerimientos de las plantas durante la fase de investigación.



4.2.6 Consideraciones generales

La aplicación de biosólidos incrementa los contenidos de elementos esenciales en los suelos en forma asimilable por las plantas, además de los procedentes de la mineralización de la MO en forma gradual, todo esto provoca que las plantas tengan una mayor disponibilidad, absorción y asimilación de los nutrientes durante su desarrollo y que las pérdidas de los mismos por lixiviación o lavados sean mínimas, según informó Andrade y col. (1999). Sumado a esto, los posibles contenidos de micronutrientes aportados por los biosólidos desde el punto de vista fisiológico tienen gran importancia, ya que actúan como activadores de muchas enzimas indispensables para la vida de las plantas, fenómeno que fue encontrado por Hernández (2001).

Además de lo planteado anteriormente, el desarrollo vegetativo de las plantas también pudo estar influenciado por las mejoras que se producen en las propiedades físicas y biológicas de los suelos, debido al aporte de MO procedente de los biosólidos (Illera y col., 2000), la misma influye positivamente en la formación y estabilidad de los agregados, mejorando a su vez, la porosidad, disminuyendo la resistencia de las partículas del suelo a la penetración de raíces, aspecto que favorece el movimiento de gases y el balance hídrico en el suelo. Esta última propiedad es de vital importancia para las raíces y la planta en general, ya que una adecuada disponibilidad de agua resulta en un incremento en la permeabilidad celular de las raíces y así en la disminución de su resistencia al flujo de agua y nutrientes hacia el interior de la misma, lo que garantiza que estos elementos puedan ser absorbidos por el vegetal y participen en los diferentes procesos metabólicos. Al mismo tiempo, favorece la capacidad de intercambio catiónico de los suelos, lo que propicia un mayor contenido de elementos en la solución de éstos, que pueden ser absorbidos por las plantas, según lo informado por Andrade y col., (2000).



4.3 Influencia de la aplicación de biosólidos y diferentes niveles de abastecimiento hídrico en el porcentaje de humedad del suelo y las relaciones hídricas y el desarrollo vegetativo de las plantas de tomate.

Teniendo en cuenta el contenido de MO de los biosólidos, la capacidad de la misma para retener agua y el interés mundial por las alternativas agrícolas que contribuyan a minimizar los efectos negativos producidos por los cambios globales, fundamentalmente la sequía o el déficit hídrico en los suelos, se evaluó el efecto de la aplicación de dichos residuos orgánicos en el porcentaje de humedad de los sustratos.

4.3.1 Humedad de los sustratos.

En la **Figura 8** se observa que al evaluar el porcentaje de humedad de los sustratos no existieron diferencias significativas entre el suelo tratado con biosólidos, el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral, cuando se efectuó el riego normal (restablecimiento del 100% de las **PAevt**) a las macetas; mientras que, la aplicación de biosólidos en condiciones de abastecimiento hídrico limitado (restablecimiento del 50% de las **PAevt**) propició a los 8 y 12 **dnh** las mayores magnitudes de esta variable, con relación a los restantes tratamientos. A los 12 **dnh** el sustrato tratado con este residuo orgánico sólo experimentó un porcentaje de reducción de 37%; mientras que, el encontrado en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral fueron del 55 y 57%, respectivamente, comparados estos con los porcentajes encontrados en los mismos sustratos, pero con el restablecimiento del 100% de las **PAevt**. Esto evidencia que la aplicación de biosólidos aumenta la capacidad de los sustratos para retener agua, debido al contenido relativamente alto de MO presente en estos residuos, lo que permite mejorar el balance hídrico de los suelos y a su vez, aumentar la capacidad de retención hídrica de los mismos, aspecto que ha sido informado con anterioridad por Gómez y col. (2000).

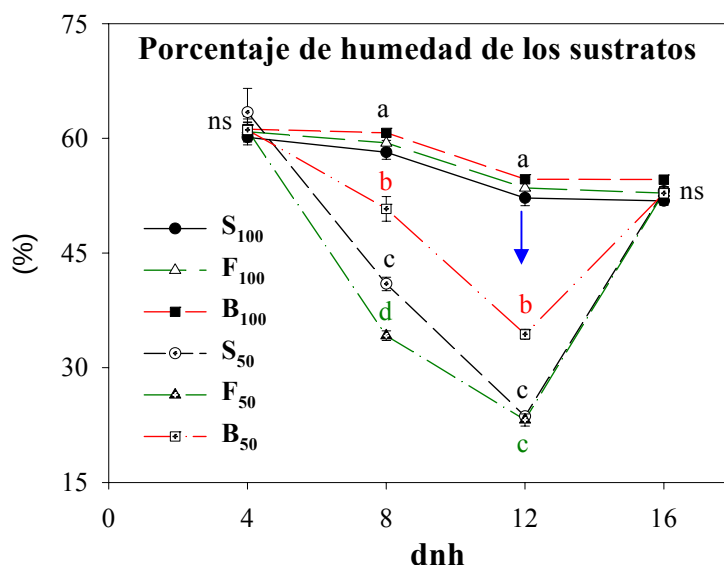


Figura 8. Porcentaje de humedad de los sustratos sometidos a diferentes niveles de abastecimiento hídrico, en la fase comprendida desde el inicio de impuestos los tratamientos de niveles de humedad, hasta el final del experimento. S_{100} , suelo natural (S) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H_1); F_{100} , suelo tratado con fertilizante mineral (F) + H_1 ; B_{100} , 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo (B_{135}) + H_1 ; S_{50} , S + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H_2); F_{50} , F + H_2 ; B_{50} , B_{135} + H_2 . dnh, Días de impuestos los tratamientos de niveles de humedad. La flecha indica el momento a partir del cual se restableció el 100% de las pérdidas de agua en todos los tratamientos (Fase de recuperación). I, Error estándar de la media.

Cuando se efectuó el riego normal en todos los tratamientos a partir de los 12 dnh y se evaluó la humedad de los sustratos cuatro días después, no se detectaron diferencias significativas entre los mismos.

Como se puede observar, la aplicación de biosólidos en el suelo contribuye de manera decisiva en favor de la retención de humedad de los sustratos, fenómeno que pone de manifiesto sus potencialidades para ser aplicados como alternativa ante condiciones de escasa pluviometría o de abastecimiento hídrico deficitario o para ahorrar el insumo de agua utilizada en los sistemas de producciones agrícolas.

4.3.2. Relaciones hídricas de las plantas

A partir de los resultados encontrados al evaluar el porcentaje de humedad de los sustratos y tomando en consideración que algunos residuos pueden tener en su composición un contenido elevado de sales,



dentro de las cuales se encuentran las de MP, que provoca que a pesar de la existencia de niveles de humedad adecuados en los sustratos, la absorción de agua por las plantas se vea limitada, situación que provoca la marchitez fisiológica del vegetal, según lo informado por Primavesi (2002), se decidió evaluar el efecto de la aplicación de biosólidos en las relaciones hídricas y el desarrollo vegetativo de las plantas.

Se destaca, que al efectuar el análisis de las diferentes variables, de forma general se observó la existencia de interacción entre los dos factores en estudios (sustratos y niveles de humedad), con excepción del Potencial Osmótico saturado y la altura de las plantas.

Al igual que el porcentaje de humedad de los sustratos, las magnitudes del *Contenido Relativo de Agua (CRA)* y el *potencial hídrico foliar (Ψ_h)* de las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos no difirieron significativamente de las desarrolladas en el suelo natural y el suelo tratado con fertilizante mineral cuando se restableció el 100% de las **PA_{evt}** (**Figura 9**). Sin embargo, el tratamiento al suelo con este residuo orgánico provocó que cuando el suministro hídrico fuera limitado las magnitudes de estas variables en las plantas fueran superiores al de las cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral y el que no se aplicó ninguna fuente nutritiva (**S₅₀**), ambos con igual condición de abastecimiento hídrico.

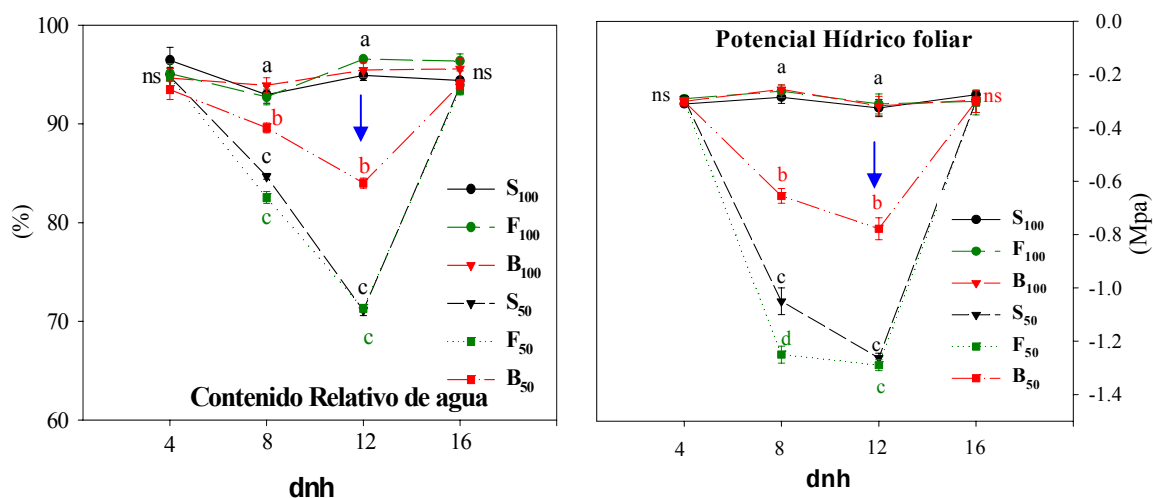


Figura 9. Contenido Relativo de Agua (CRA) y Potencial Hídrico foliar (Ψ_h) de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, en la fase comprendida desde el inicio de impuestos los tratamientos de niveles de humedad hasta el final del experimento. S₁₀₀, suelo natural (S) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H₁); F₁₀₀, suelo tratado con fertilizante mineral (F) + H₁; B₁₀₀, 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo (B₁₃₅) + H₁; S₅₀, S + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H₂); F₅₀, F + H₂; B₅₀, B₁₃₅ + H₂. dnh, días de impuestos los tratamientos de niveles de humedad. La flecha indica el momento a partir del cual se restableció el 100% de las pérdidas de agua en todos los tratamientos (Fase de recuperación). I, Error estándar de la media.

Como se observa en las **Figuras 8 y 9** a los 8 dnh, la diferencia en la disminución de la humedad entre los sustratos es menor, donde se aplicó la reducción del suministro hídrico, que la del potencial hídrico foliar, fundamentalmente cuando se aplicaron biosólidos. Sin embargo, a pesar de que las magnitudes en la humedad entre los tres sustratos son casi proporcionales, las plantas desarrolladas en suelo natural y el tratado con fertilizante mineral disminuyeron más rápidamente su potencial hídrico que las desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos, lo que evidencia que la propiedad de los biosólidos para retener agua en el sustrato provocó que las relaciones hídricas de las plantas en condiciones de abastecimiento hídrico limitado se afectarán menos. Este hecho confirma además, que los niveles de MP presente en los sustratos no se encuentran en concentraciones tóxicas para las plantas.



Al restablecer el 100% de las **PAevt** a los 12 **dnh** en todos los sustratos con la misma frecuencia de aplicación y evaluar estas variables cuatro días después, se encontró que tanto el **CRA** como el Ψ_h fueron similares en todos los tratamientos, lo que evidencia que la reducción del suministro hídrico no provocó la marchitez permanente de las plantas, ya que las mismas fueron capaces de recuperar la turgencia de sus tejidos.

También, al analizar el comportamiento del Potencial Osmótico Real (Ψ_s) y el de Turgencia (Ψ_p) foliar, a los 12 **dnh** (**Figura 10 A y B**) se encontró un efecto positivo de la aplicación de biosólidos cuando se restableció sólo el 50% de las **PAevt**, ya que las plantas desarrolladas en este sustrato presentaron magnitudes cercanas y/o similares a las cultivadas en los sustratos bien abastecidos hídricamente (**S₁₀₀**, **F₁₀₀**, **B₁₀₀**); mientras que, las plantas que crecieron en el suelo natural (**S₅₀**) y el tratado con fertilizante mineral (**F₅₀**) bajo la misma condición de humedad mostraron una mayor afectación de su estado hídrico.

Cuando se aplicó biosólidos y se restableció el 50% de las **PAevt**, el Ψ_p sólo sufrió una reducción del 30% en su magnitud; sin embargo, las reducciones evidenciadas por las plantas cultivadas en el suelo natural (**S₅₀**) y el suelo tratado con fertilizante mineral (**F₅₀**) fueron de 92,15 y 94,72%, respectivamente. Estos resultados demuestran los beneficios que le confiere la aplicación de biosólidos al sustrato y a las plantas bajo una condición de deficiencia hídrica en los suelos, evidenciado por la mayor turgencia de las plantas desarrolladas en el suelo tratado con este residuo, con relación a las crecidas en los otros sustratos, lo que posibilita que las afectaciones de las funciones vitales de las mismas sean menos drásticas cuando el suelo se trate con biosólidos.

Es destacable el hecho, que al evaluar el Potencial Osmótico Saturado (Ψ_{ss}) no se encontraron interacciones entre los factores en estudio (**Figura 10 C₁ y C₂**) y esta variable en las plantas desarrolladas en el



suelo tratado con biosólidos alcanzaron magnitudes intermedias en relación con las cultivadas en el suelo natural (**S**) y el tratado con fertilizante mineral (**F**), logrando las plantas de este último tratamiento las mayores magnitudes (**Figura 10 C₁**). A pesar, de que estadísticamente hay diferencias significativas entre los valores de potencial osmótico saturado de las plantas desarrolladas en los diferentes sustratos, estas pequeñas diferencias no son biológicamente importantes.

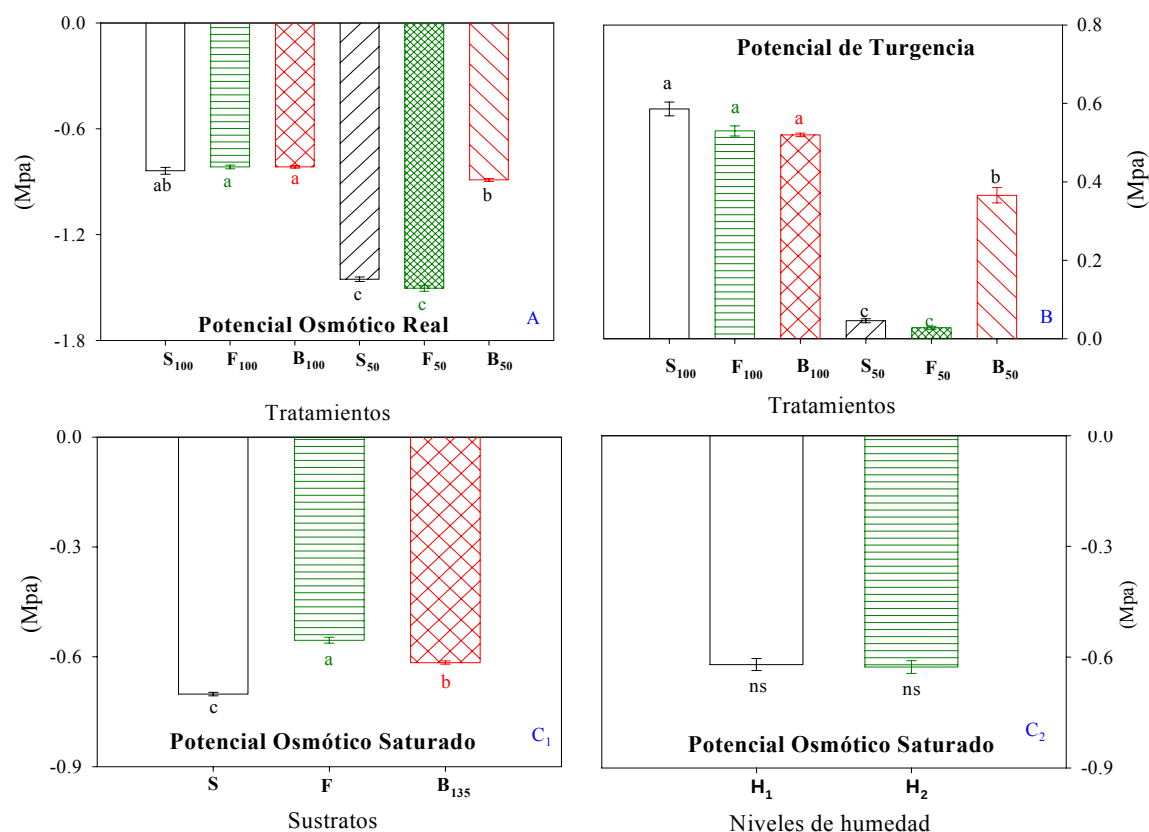


Figura 10. Potencial Osmótico Real (Ψ_s), Potencial de Turgencia (Ψ_p) y Potencial Osmótico Saturado (Ψ_{ss}) de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, a los 12 **dnh**. **S₁₀₀**, suelo natural (**S**) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H₁**); **F₁₀₀**, suelo tratado con fertilizante mineral (**F**) + **H₁**; **B₁₀₀**, 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo (**B₁₃₅**) + **H₁**; **S₅₀**, **S** + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H₂**); **F₅₀**, **F** + **H₂**; **B₅₀**, **B₁₃₅** + **H₂**. **I**, Error estándar de la media.



Por otra parte, los niveles de humedad estudiados no influyeron significativamente en el Potencial Osmótico Saturado foliar (**Figura 10 C₂**), lo que indica que independientemente del sustrato empleado las plantas no realizaron ajuste osmótico, al no producir una síntesis adicionalmente significativa de solutos, provocada por la condición de humedad impuesta.

En la **Figura 11** se observa que las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos bajo condiciones normales de abastecimiento hídrico (**B₁₀₀**) presentaron valores de conductancia estomática similares a las cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral (**F₁₀₀**); mientras que, las plantas desarrolladas en el suelo natural bajo la misma condición de humedad (**S₁₀₀**) mostraron los valores más altos de esta variable, debido al menor contenido de elementos disponibles y/o asimilados por las plantas de este tratamiento, lo cual provocó una utilización menos económica del agua por parte de la planta y por consiguiente, una mayor conductancia estomática. Este fenómeno se debe a que cuando una planta esta bien nutrida, su plasma se vuelve más viscoso y posibilita que su consumo de agua sea más económico, disminuyendo así su pérdida por transpiración. Este hecho también fue encontrado por Primavesi (2002).

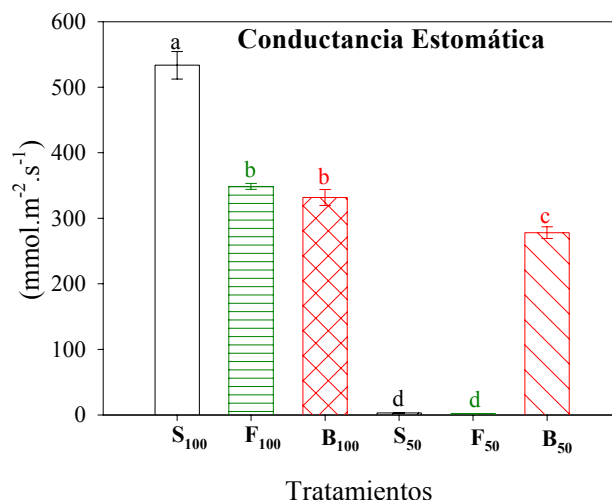


Figura 11. Conductancia Estomática (CE) de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, a los 12 dnh. **S₁₀₀**, suelo natural (S) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H₁**); **F₁₀₀**, suelo tratado con fertilizante mineral (F) + **H₁**; **B₁₀₀**, 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo (**B₁₃₅**) + **H₁**; **S₅₀**, S + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H₂**); **F₅₀**, F + **H₂**; **B₅₀**, **B₁₃₅** + **H₂**. I, Error estándar de la media.

Sin embargo, es importante destacar que las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos y sometidas a la condiciones de abastecimiento hídrico limitado (**B₅₀**) mostraron un cierre parcial de sus estomas, por lo que atenúo el efecto negativo que sobre esta variable produjo la condición de humedad impuesta, encontrándose valores superiores a los obtenidos por las plantas cultivadas en el suelo natural (**S₅₀**) y el tratado con fertilizante mineral (**F₅₀**), las cuales evidenciaron un cierre total de los estomas.

En trabajos realizados por Jerez y Morales (1999) en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), por Barroso y Jerez (2000) en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y por Zaharieva y col. (2001) en trigo (*Triticum aestivum* L.) se encontró que las plantas experimentan una disminución de la apertura estomática como respuesta a la deficiencia de agua aprovechable en los suelos, efecto que se minimizó con la aplicación de biosólidos, según los resultados encontrados en el presente estudio.



El comportamiento observado se debe a que el rápido cierre de los estomas ante la deficiencia hídrica en el suelo está en estrecha vinculación con el decrecimiento del contenido hídrico de la planta, con el balance iónico dentro de la misma y con la disminución del contenido de agua en el sustrato. El órgano que recibe el estímulo del déficit hídrico en el suelo es la raíz, la cual sintetiza ácido abscísico (**ABA**), lo transporta vía xilema hasta las hojas y ahí induce cambios en la permeabilidad de las membranas de las células guardas, las cuales liberan solutos (principalmente K^+ y Ca^{2+}) hacia el citoplasma de las células acompañantes, y con ella, disminuye el Potencial de Turgencia, que hace que los estomas se cierren parcialmente, lo que justifica la respuesta mostrada por las plantas desarrolladas en los tratamientos donde el suministro hídrico fue limitado. Según Alves y Setter (2000); Stoll y col. (2000); Zaharieva y col. (2001) y Maroco y col. (2002), ante condiciones estresantes por déficit hídrico, las plantas reducen rápidamente la apertura estomática, con lo que disminuyen así las pérdidas de agua por transpiración, a la vez que se ve reducida la entrada de CO_2 necesario para la fotosíntesis, se afectan los procesos enzimáticos, el transporte electrónico, el contenido de clorofila y decrece la eficiencia fotoquímica de la fotosíntesis y con ella la producción de asimilatos y su traslocación a los órganos de consumo de la planta, fenómeno que fue informado por Jiang y Huang, (2000).

Al hacer un análisis de la *actividad de la enzima nitrato reductasa* (**AEnr**) foliar a los 12 **dnh** (**Figura 12**), se observó que la aplicación de biosólidos (**B₁₀₀**) bajo condiciones de abastecimiento hídrico normal (restablecimiento del 100% de las **PAevt**), propició que los niveles en la actividad de la enzima encontrados en las plantas desarrolladas en este sustrato fueran similares a los alcanzados por las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral (**F₁₀₀**) y ambos tratamientos superaron la actividad de la enzima de las plantas cultivadas en el suelo



natural (S_{100})). se destaca que los niveles de la **AEnr** en las plantas cultivadas en el suelo tratado con biosólidos y el tratado con fertilizante mineral, presentaron magnitudes similares a las encontradas por Cuba, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (Torres, 2001), en plantas de tomate desarrolladas en condiciones normales de abastecimiento hídrico. Esto demuestra la capacidad de los biosólidos para garantizar además de N en forma amoniacal, niveles de nitratos adecuados para el buen funcionamiento de la enzima nitrato reductasa.

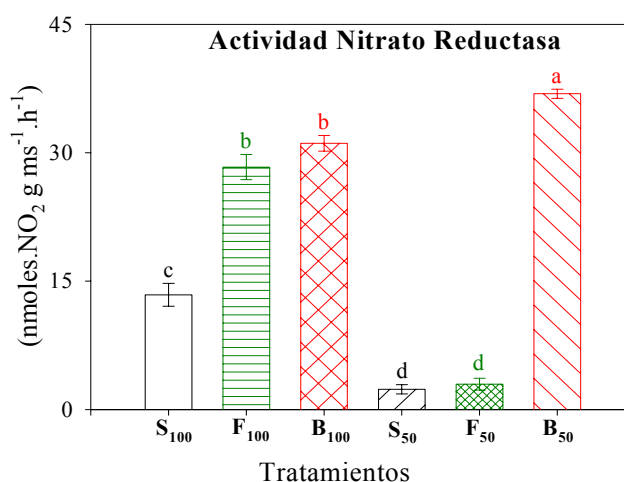


Figura 12. Actividad de la enzima Nitrato Reductasa foliar de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, a los 12 **dnh**. S_{100} , suelo natural (S) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H_1); F_{100} , suelo tratado con fertilizante mineral (F) + H_1 ; B_{100} , 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo (B_{135}) + H_1 ; S_{50} , S + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H_2); F_{50} , F + H_2 ; B_{50} , B_{135} + H_2 . I, Error estándar de la media.

La utilización de la **AEnr** como indicador del estado hídrico de las plantas, evidenció que a los 12 **dnh** las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos y se restableció el 50 % de las **PAevt** (B_{50}), lograron valores en la **AEnr** significativamente superiores al de los restantes tratamientos, incluyendo aquellos en que se restableció el 100% de las **PAevt**.

Este comportamiento, pudo deberse a que cuando la afectación del estado hídrico en la planta es ligera o moderada, como ocurrió en las



plantas cultivadas en el suelo tratado con biosólidos y se restablecieron sólo el 50% de las **PAevt**, ocurre una acumulación de nitratos al disminuir el volumen celular, el cual induce el incremento de la enzima, si la deficiencia persiste hasta volverse severa y la concentración de nitratos continua en aumento, esto unido al incremento del amonio libre producido por la degradación de las proteínas y los aminoácidos, entonces se alcanzan niveles tóxicos que afectan negativamente la actividad de las enzimas del metabolismo del N, fundamentalmente la nitrato reductasa, ya que el ión NO_3^- según lo encontrado por Lovatt, (1987) y Chaves y col., (2002) es inductor al mismo tiempo que inhibidor de esta enzima. Esto conjuntamente con los daños celulares que ocurren por el estado de deshidratación de los tejidos, provoca la disminución de la actividad enzimática, según Flexas y Medrano, (2002), como se observó en los tratamientos donde las plantas crecieron en suelo natural y donde se aplicó fertilizante, ambos con aplicación del 50% de las **PAevt** (**S₅₀** y **F₅₀**, respectivamente). A lo anterior, se suma la pérdida de capacidad de absorción y traslocación de elementos, especialmente N en la planta cuando ésta se encuentra sometida a condiciones estresantes por deficiencia hídrica, según lo informado por Wagner y col., (1998). Por otra parte, la **AEnr** también se vió afectada cuando las plantas se desarrollaron en suelo natural con restablecimiento del 100% de las **PAevt**, lo cual pudo deberse a los niveles relativamente bajos de MO presente en este tipo de suelo, fuente natural de N en el mismo.

El comportamiento observado en la **AEnr** tiene un gran significado fisiológico ya que un estado de estrés en las plantas inhibe la reducción de los nitratos y su incorporación a las proteínas, aspecto que corrobora lo planteado por Ackerson y col., (1980). La síntesis de proteínas esta estrechamente relacionada con la producción de nuevos tejidos, los que constituyen el principal sitio de consumo de los productos nitrogenados,



debido a esto cuando la deficiencia hídrica inhibe el metabolismo del N, el crecimiento celular se ve severamente afectado, aspecto que fue informado por Kramer, (1983).

4.3.3 Crecimiento de las plantas.

En coincidencia con lo planteado por Azcón-Bieto y Talón (2001); Bissuel y col. (2002a) y Parra y col. (2002) en este trabajo se pudo evidenciar que el crecimiento vegetal, es el primer síntoma visible ante situaciones de deficiencia hídrica en el suelo y se encuentra dentro de los procesos fisiológicos más afectados por este fenómeno, debido a la pérdida de capacidad de las plantas para aumentar significativamente su producción de biomasa cuando las mismas se desarrollan en estas condiciones.

De forma general, en este trabajo se observa que la respuesta del crecimiento de las plantas en condiciones de abastecimiento hídrico normal (*restablecimiento del 100% de las **PAevt***), a diferencia del comportamiento de las variables relacionadas con el estado hídrico del vegetal, está en dependencia de los aportes de nutrientes, al responder positivamente a la adición de biosólidos y fertilizante mineral.

El crecimiento en altura de la planta a los 12 **dnh**, no mostró interacción entre los factores en estudio (sustratos y niveles de humedad). Cuando se analizó la influencia del sustrato en esta variable se observó un efecto positivo de la aplicación de biosólidos, superando en 18 % las magnitudes encontradas en las desarrolladas en el suelo natural, e inclusive los resultados fueron similares a las cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral (**Figura 13 A**). Cuando se analizó el factor humedad se observó que la reducción del abastecimiento hídrico al 50% de las **PAevt**, redujo en un 17% la altura de la planta (**Figura 13 B**).

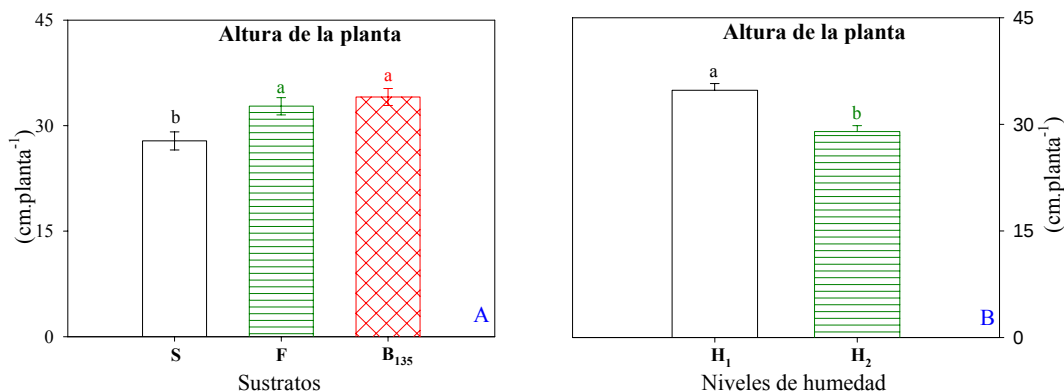


Figura 13. Altura de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, a los 12 **dnh**. **S**₁₀₀, suelo natural (**S**) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H**₁); **F**₁₀₀, suelo tratado con fertilizante mineral (**F**) + **H**₁; **B**₁₀₀, 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo (**B**₁₃₅) + **H**₁; **S**₅₀, **S** + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H**₂); **F**₅₀, **F** + **H**₂; **B**₅₀, **B**₁₃₅ + **H**₂. **I**, Error estándar de la media.

Estos resultados muestran la sensibilidad del crecimiento en altura de la planta a niveles limitados de humedad en los sustratos donde se desarrollan y coinciden con los informados por Dell'Amico (1992) en tomate y Pettigrew (2004) en algodón..

La aplicación de biosólidos en condiciones de buen abastecimiento hídrico (**B**₁₀₀), incrementó la superficie foliar de las plantas (**Figura 14**), de manera similar a las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral y fue superior a las desarrolladas en los restantes sustratos. Cuando se restableció el 50 % de las **PAevt**, las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos sólo experimentaron una reducción de su superficie foliar del 32%; mientras que, las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral redujo su superficie foliar en un 44%, con respecto a las desarrolladas en el mismo sustrato, pero con restablecimiento del 100% de las **PAevt**. Se destaca, que la reducción de esta variable en las plantas desarrolladas en el suelo natural sólo fue del 33%. De forma general, se evidencia una tendencia de las plantas crecidas en el suelo tratado con biosólidos a disminuir menos la superficie foliar cuando crecen en un medio con



restricción de humedad, que cuando crecen en un medio fertilizado mineralmente en igual condición de suministro hídrico.

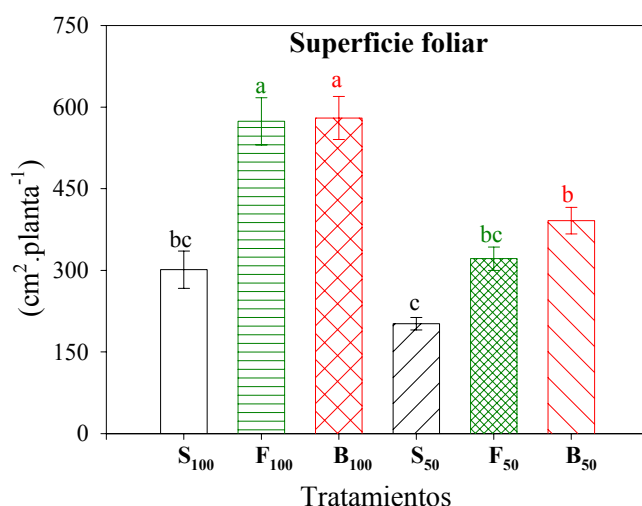


Figura 14. Superficie foliar de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, a los 12 dnh. **S₁₀₀**, suelo natural (**S**) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H₁**); **F₁₀₀**, suelo tratado con fertilizante mineral (**F**) + **H₁**; **B₁₀₀**, 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo (**B₁₃₅**) + **H₁**; **S₅₀**, **S** + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (**H₂**); **F₅₀**, **F** + **H₂**; **B₅₀**, **B₁₃₅** + **H₂**. **I**, Error estándar de la media.

El comportamiento presentado cuando se redujo el suministro hídrico al 50% de las **PA_{evt}** pudiera ser una respuesta de adaptación de las plantas a la reducción del agua en el sustrato, las cuales retardan el crecimiento de la superficie foliar hasta que el agua está disponible, mediante este mecanismo el desarrollo de la superficie transpiracional es disminuída y el crecimiento de las hojas se mantiene por más tiempo en equilibrio con el suministro de fotoasimilatos. Estos resultados están en correspondencia con el comportamiento del Ψ_h foliar (**Figura 9**).

En este sentido, Alves y Setter (2000) en yuca, Bissuel y col. (2002a) en trébol blanco y Pettigrew (2004) en algodón, observaron una rápida disminución de la superficie foliar de las plantas como respuesta al déficit hídrico en el suelo.



En la **Figura 15** se presentan los resultados de las evaluaciones de la producción de biomasa seca de los diferentes órganos y total de las plantas, en la misma se observa que de forma general la mayor producción de biomasa se alcanzó en las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos y el tratado con fertilizante mineral (**F₁₀₀**), ambos con restablecimiento del 100% de las **PA_{evt}**.

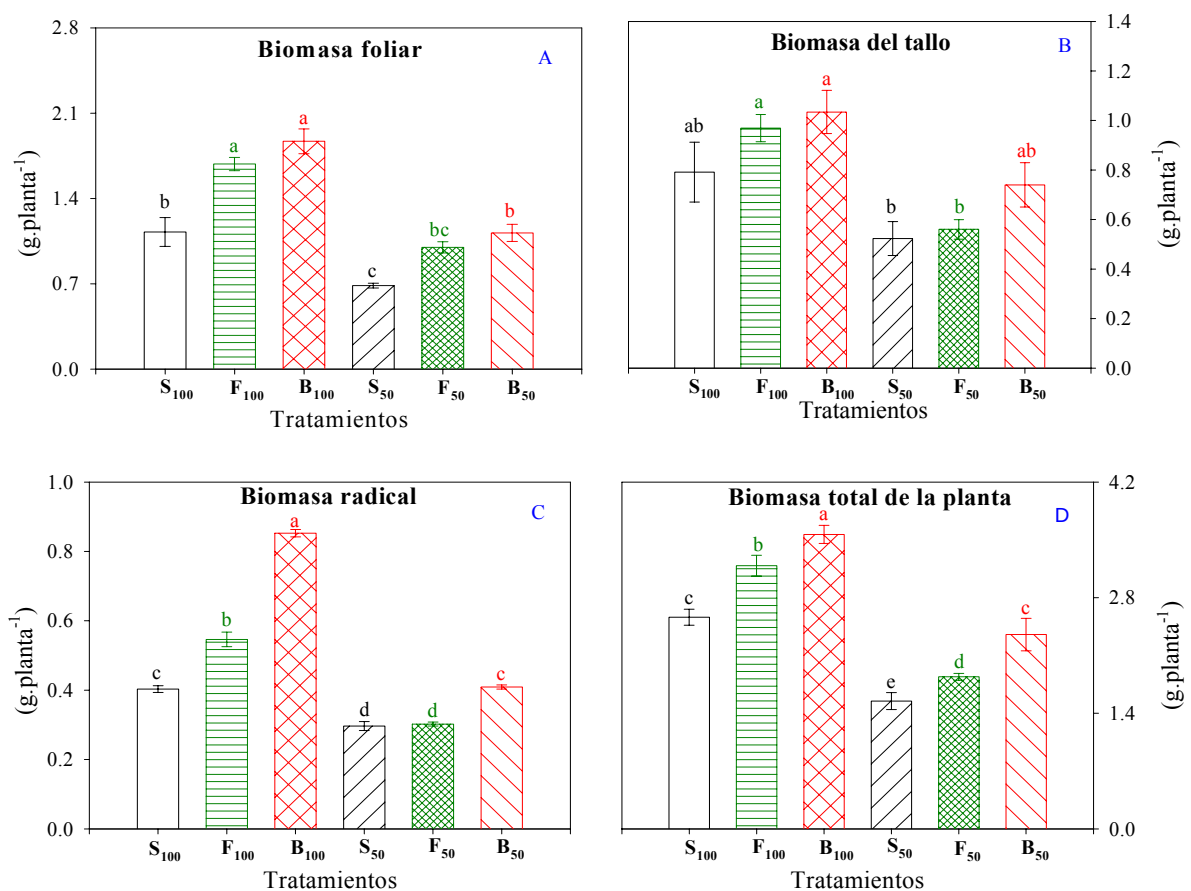


Figura 15. Producción de biomasa por órganos y total de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico, a los 12 dnh. S₁₀₀, suelo natural (S) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H₁); F₁₀₀, suelo tratado con fertilizante mineral (F) + H₁; B₁₀₀, 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo (B₁₃₅) + H₁; S₅₀, S + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H₂); F₅₀, F + H₂; B₅₀, B₁₃₅ + H₂. I, Error estándar de la media.

La aplicación de biosólidos en condiciones de abastecimiento hídrico limitado atenúo los efectos de la deficiencia hídrica en el suelo,



provocando una afectación ligera cuyo efecto causó una reducción de sólo el 33% en la producción de biomasa total de las plantas (**Figura 15 D**); mientras que, en las plantas desarrolladas en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral las afectaciones fueron más severas, lo que indujo a que los porcentajes de reducción fueran del 47% y 41% respectivamente, comparado con las plantas controles, las cuales se desarrollaron en los mismos sustratos y que se les restableció el 100% de las **PAevt**.

Este comportamiento se debe a que las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos contaron con una mayor reserva hídrica en el sustrato, lo cual garantizó un mayor flujo del agua y de los nutrientes procedentes directamente de los biosólidos y una mayor absorción y/o asimilación por parte de las plantas; sin embargo, cuando las plantas se cultivaron en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral, el potencial hídrico del sustrato alteró los procesos mencionados anteriormente, lo cual afectó drásticamente algunos procesos vitales de las plantas, tales como es el caso de la conductancia estomática (**Figura 11**) y con ella la absorción y asimilación de C, elemento indispensable para el proceso de fotosíntesis, según lo informados por Chaves y col., (2002) y Lawlor (2002b).

Otro de los procesos que se vió afectado por la deficiencia de humedad en el suelo fue el metabolismo del N, especialmente la actividad de la enzima nitrato reductasa (**Figura 12**), primera enzima de dicho proceso y encargada de la reducción del nitrato hasta amonio, condición indispensable para que el nitrógeno sea asimilado por las plantas e incorporado a la producción de nueva biomasa vegetal. En este sentido, Cornic y Fresneau (2002) informaron de la afectación de esta enzima en plantas desarrolladas en un suelo sometido a condiciones de deficiencia hídrica.



Resultados que evidencian los efectos negativos del déficit hídrico en la producción de biomasa vegetal fueron encontrados por Traore y *col.*, (2000) en maíz, Barroso y Jerez, (2002) en albahaca, Bissuel y *col.*, (2002b) en trébol blanco, Stone y *col.*, (2004) en maíz dulce y Pettigrew (2004) en algodón.

Al hacer el análisis de algunos índices del crecimiento de las plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de suministro hídrico, en la etapa que comprende desde el inicio hasta los 12 **dnh** (**Figura 16**) se observó que la capacidad de las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos y con restablecimiento del 50% de las **PAevt** para acumular biomasa a partir de la ya existente, **TRC**, fue similar a la de las cultivadas en el suelo natural y la del suelo tratado con fertilizante mineral con restablecimiento del 100% de las **PAevt** y sólo fue superada por las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos y que se restablecieron el 100% de las **PAevt**. Las plantas cultivadas en el suelo donde se aplicó biosólidos y se restablecieron el 50% de las **PAevt** superaron los resultados alcanzados por las desarrolladas en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral, en ambos casos con abastecimiento hídrico limitado (**Figura 16 A**).

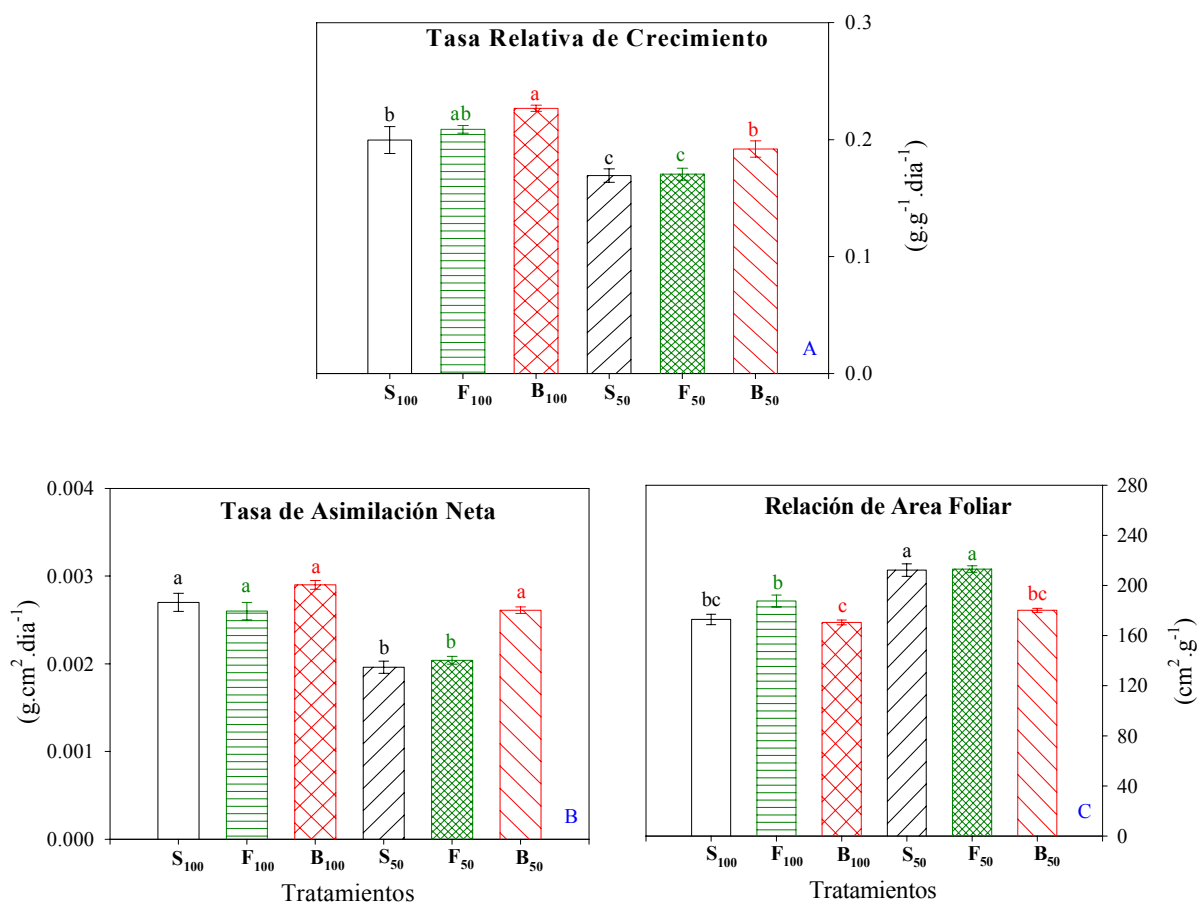


Figura 16. Tasa Relativa de Crecimiento (TRC), Tasa de Asimilación Neta (TAN) y Relación de Área Foliar (RAF) de plantas de tomate cultivadas en diferentes sustratos y niveles de abastecimiento hídrico. Fase comprendida desde el inicio hasta los 12 dnh. S₁₀₀, suelo natural (S) + 100% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H₁); F₁₀₀, suelo tratado con fertilizante mineral (F) + H₁; B₁₀₀, 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo (B₁₃₅) + H₁; S₅₀, S + 50% del restablecimiento de las pérdidas de agua (H₂); F₅₀, F + H₂; B₅₀, B₁₃₅ + H₂. I, Error estándar de la media.

En cuanto a la capacidad de las plantas para acumular biomasa en función de su superficie foliar, TAN, en el mismo período de tiempo (Figura 16 B), se encontró que los resultados alcanzados por las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos y que se restableció sólo el 50% de las PAevt, no difirieron significativamente del de las cultivadas en los diferentes sustratos donde se efectuó el riego normal (S₁₀₀, F₁₀₀ y B₁₀₀). Por otra parte, las plantas desarrolladas en



el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral, alcanzaron los menores valores.

La proporción de superficie foliar por unidad de biomasa (masa seca) presente en el instante de tiempo evaluado, **RAF**, se presenta en la **Figura 16 C**. En la misma se observa que las plantas desarrolladas en el tratamiento donde se aplicó biosólidos y se restableció el 50% de las **PAevt**, alcanzaron valores de **RAF** similares al de las plantas desarrolladas en los sustratos donde se restablecieron el 100% de las **PAevt**. Esto pone de manifiesto que las plantas desarrolladas en este sustrato realizaron una síntesis de biomasa a partir de la superficie foliar más equilibrada y proporcional que la encontrada en las plantas cultivadas en el suelo natural y el que se le aplicó fertilizante mineral y se restablecieron el 50% de las **PAevt**, la cual en este caso fue mayor. Los resultados muestran que en las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos la capacidad de su área fotosintéticamente activa para producir biomasa se afectó menos que cuando se aplicó el fertilizante mineral y cuando no se aplicó ninguna fuente nutritiva.

El comportamiento observado al hacer el análisis del crecimiento (**TRC**, **TAN** y **RAF**), se debe a que las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos y que se restableció el 50% de las **PAevt** dispusieron de una mayor reserva hídrica en el sustrato en comparación con las cultivadas en el suelo natural y en el suelo tratado con fertilizante mineral, bajo la misma condición de abastecimiento hídrico (**S₅₀** y **F₅₀**, respectivamente), fenómeno que fue evidenciado al evaluar el porcentaje de humedad del sustrato cada cuatro días (**Figura 8**), lo que le permitió a las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos con abastecimiento hídrico limitado una mejor absorción de agua y de los elementos esenciales presentes en la solución del sustrato, hecho que propició un adecuado estado hídrico de las plantas de este tratamiento, tal como se observa en la **Figura 9 y 10** y de esta manera



que sus funciones vitales no se vieran severamente afectadas, lo que le permitió acumular biomasa de manera similar a las plantas crecidas en los sustratos sin restricción del suministro hídrico.

4.3.4 Consideraciones generales.

En este trabajo es destacable la estrecha vinculación existente entre la característica del sustrato donde se desarrollan las plantas, las relaciones hídricas y el crecimiento vegetativo de las mismas.

Se encontró que cuando se aplicó biosólidos y se redujo el suministro hídrico al 50% de las **PAevt**, la capacidad de retención del agua por el sustrato fue mayor y las afectaciones de las relaciones hídricas de las plantas fueron menores, en todas las evaluaciones realizadas.

En el caso de las variables relacionadas con el crecimiento de las plantas se observó que cuando se restableció el 100% de las **PAevt**, éstas respondieron positivamente a la adición de biosólidos y fertilizante mineral, superando significativamente a las plantas del suelo natural. Cuando se redujo el suministro hídrico al 50% de las **PAevt**, al igual que el porcentaje de humedad del sustrato, el desarrollo vegetativo de las plantas se vió afectado, esta afectación fue menos severa en el suelo donde se aplicó biosólidos. En ambas condiciones de suministro hídrico se observó una marcada influencia del sustrato sobre el desarrollo vegetativo.

De los resultados de esta investigación, se puede deducir que el efecto conjunto de una suficiente disponibilidad de agua en el suelo asociada a un adecuado nivel de nutrientes disponibles para las plantas, procedentes de los biosólidos, hacen que las mismas absorban y distribuyan mejor sus nutrientes hacia los sitios de consumo de las plantas. Por otra parte, se pudo comprobar que la reducción del suministro hídrico al 50% de las **PAevt** influye negativamente en el comportamiento del tomate, debido a la afectación en el movimiento, disponibilidad y absorción de los elementos esenciales presentes en los



sustratos, ya que las plantas absorben estos elementos necesarios para su nutrición de la solución de éste, además el endurecimiento del sustrato en la mayoría de los casos impide la exploración del sistema radical, el cual a su vez aumenta la resistencia al paso del agua y nutrientes como un mecanismo para evitar las pérdidas de agua de las plantas hacia el sustrato.

A partir de estos resultados se puede inferir que ante la reducción drástica del suministro hídrico en el suelo, los biosólidos influyen positivamente en favor de la retención hídrica del mismo y la absorción del agua y nutrientes por parte de las plantas. Independientemente de los posibles mecanismos de aclimatación desarrollados por el vegetal ante la condición impuesta.

4.4 Aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas con diferentes frecuencias y sus efectos en las propiedades químicas y microbiológicas del suelo, en el rendimiento de las plantas, la calidad de los frutos y el contenido de metales pesados en los órganos vegetales.

Con el objetivo de determinar el efecto acumulativo y residual de la aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas con diferentes frecuencias en las propiedades químicas y microbiológicas del suelo, el rendimiento de las plantas de tomate, la calidad de los frutos y los contenidos de MP en los órganos vegetales, se diseñó un experimento de tres años de duración.

4.4.1 Aplicación de diferentes frecuencias de biosólidos de aguas residuales urbanas y sus efectos en las propiedades químicas.

El efecto de la aplicación de biosólidos (**B₁₃₅**) en las propiedades químicas más frecuentemente analizadas en los sustratos utilizados en trabajos de interés agronómico, en el primer año del experimento, se muestra en la **Tabla 12**, donde se observa claramente que la aplicación



de este residuo orgánico incrementó significativamente los contenidos de MO oxidable, P asimilable y Ca intercambiable por encima de lo encontrado en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral, no tuvo influencia en el contenido de K y el de Mg intercambiable, a pesar de que no difirió significativamente del encontrado en el suelo natural, tendió a decrecer. Este fenómeno se debe a los contenidos relativamente altos de MO oxidable, P y Ca encontrados en los biosólidos aplicados y a los niveles relativamente bajos de K y Mg presentes en los mismos.

Tabla 12. Efecto de la aplicación de biosólidos en las propiedades químicas más frecuentemente analizadas en los sustratos utilizados en trabajos de interés agronómico (en base seca). Primer año.

Indicadores		Tratamientos		
		S	F	B ₁₃₅
MO, %		2,38 ± 0,16 b	2,81 ± 0,12 b	5,73 ± 0,21 a
P, mg.kg ⁻¹		125,0 ± 19,0 b	107,33 ± 1,33 b	986,25 ± 37,46 a
K	cmol.kg ⁻¹	0,65 ± 0,003 ns	0,62 ± 0,02 ns	0,66 ± 0,02 ns
Ca		14,2 ± 0,4 b	14,63 ± 0,98 b	20,15 ± 0,32 a
Mg		1,47 ± 0,23 ab	2,43 ± 0,33 a	1,10 ± 0,20 b
pH		8,13 ± 0,033 a	8,03 ± 0,033 a	7,85 ± 0,029 b

Contenido medio del indicador y pH ± el error estándar. **S**: suelo natural; **F**: suelo tratado con fertilizante mineral (urea) y **B₁₃₅**: 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo.

La aplicación de biosólidos provocó una disminución en el pH del suelo. Esto se atribuye a las magnitudes del mismo en este residuo, los cuales se encuentran en valores cercanos a la neutralidad.

En el segundo año de experimentación (**Tabla 13**), la aplicación de biosólidos al suelo incrementó los contenidos de MO oxidable, P y Ca del mismo, conforme aumentaron las frecuencias de aplicación de estos residuos, superando significativamente al encontrado en el suelo natural, e incluso fue mayor al encontrado en el suelo tratado con fertilizante mineral. Es destacable, que el contenido de P encontrado en el suelo natural fue superado por el presente en el suelo tratado con



fertilizante mineral, debido a que este último recibió el aporte de fertilizante mineral enriquecido en este elemento (superfosfato triple). La aplicación de biosólidos al suelo por dos años consecutivos (**B₁₃₅ Consecutivos**) incrementó de manera significativa el contenido de Mg en el mismo. Este resultado indica que a pesar de que los niveles de este elemento en los biosólidos se encuentran en magnitudes relativamente bajas, aplicaciones sucesivas de estos biosólidos por más de un año produce un incremento o acumulación en el suelo receptor.

Tabla 13. Efecto de la aplicación de biosólidos en las propiedades químicas que con mayor frecuencia se analizan en los sustratos utilizados en trabajos de interés agronómico (en base seca). Segundo año.

Indicador		Tratamientos			
		S	F	B₁₃₅ Anterior	B₁₃₅ Consecutivos
MO, %		2,77±0,08 c	2,18 ± 0,10 c	5,21±0,25 b	6,59±0,19 a
P, mg.kg ⁻¹		118,33±10,48 d	454,00 ± 26,21 c	680,00 ± 35,23 b	829,00 ± 35,23 a
K	cmol.kg ⁻¹	0,42 ± 0,01 c	0,61± 0,01 a	0,48 ± 0,01 b	0,50± 0,02 b
Ca		12,47 ± 0,13 c	12,46 ± 0,18 c	15,90 ± 0,46 b	19,0 ± 0,38 a
Mg		0,79 ± 0,09 b	0,83 ± 0,13 b	1,37 ± 0,23 b	2,97 ± 0,37 a
pH		8,3 ± 0,03 a	8,3 ± 0,06 a	8,0 ± 0,1 b	7,7 ± 0,06 b

Contenido medio del indicador y pH ± el error estándar. S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral (aplicación de urea, superfosfato triple y cloruro de potasio) y **B₁₃₅ Anterior**, biosólidos aplicado el año anterior y **B₁₃₅ Consecutivos**, biosólidos aplicados dos años consecutivos.

En cuanto al contenido de K, no se observaron diferencias significativas entre los sustratos donde se aplicó biosólidos, independientemente de su frecuencia de aplicación y sus niveles fueron superiores al encontrado en el suelo natural; sin embargo, el contenido de este elemento en el suelo tratado con fertilizante mineral fue significativamente superior al de los restantes sustratos, como resultado del aporte de K mediante la aplicación de fertilizante mineral (cloruro de potasio).

Los valores de pH al igual que en el primer año, disminuyeron con la aplicación de biosólidos, independientemente de sus frecuencias de aplicación, debido a las razones expuestas en el análisis de la **Tabla 12**.



En el tercer año de experimentación (**Tabla 14**), la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias influyó de manera similar a lo encontrado en el segundo año, donde se evidencia un incremento en el contenido de MO oxidable y Ca del sustrato y sus magnitudes de concentraciones se presentaron en un orden decreciente: **B₁₃₅ Consecutivos** > **B₁₃₅ Alternos** > **B₁₃₅ Primer** > **F=S**.

La aplicación de biosólidos dos años alternos y tres consecutivos incrementó el P en el suelo, en niveles superiores a los alcanzados en los restantes sustratos, e incluso al tratado con fertilizante mineral. El contenido de P en el suelo donde se aplicó biosólidos sólo el primer año fue superado por el tratado con fertilizante mineral, debido a que este último recibió el suministro de P, mediante la adición de superfosfato triple.

En cuanto al contenido de Mg, cuando se aplicó biosólidos dos alternos y tres años consecutivos se lograron los mejores resultados, debido a la posible acumulación del elemento provocada por aplicaciones sucesivas de biosólidos.

Tabla 14. Efecto de la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias en las propiedades químicas que con mayor frecuencia se analizan en los sustratos utilizados en trabajos de interés agronómico (en base seca). Tercer año.

Indicadores		Tratamientos				
		S	F	B 135 Primer	B 135 Alternos	B 135 Consecutivos
MO, %		2,83±0,03 d	2,86±0,12 d	4.84±0.056 c	5,88±0,09 b	8,95±0,23 a
P, mg.kg ⁻¹		110,7±2,9 e	563,0±6,1 c	413,3±17,6 d	750,0±36,5 b	1083,3±33,3 a
K	cmol.kg ⁻¹	0,36±0,01 d	0,64±0,01 a	0,35±0,01 d	0,45±0,02 c	0,55±0,02 b
Ca		13,00±0,00 d	12,70±0,70 d	15,67±0,27 c	17,13±0,39 b	19,6±0,29 a
Mg		1,75±0,05 b	2,5±0,35 b	2,23±0,09 b	3,97±0,15 a	4,46±0,19 a
pH		8,20±0,00 a	8,27±0,03 a	7,95±0,02 b	7,70±0,00 c	7,50±0,00 d

Contenido medio del indicador y pH ± el error estándar. S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral (urea, superfosfato triple y cloruro de potasio) y **B₁₃₅ Primer**, biosólidos aplicado sólo el primer año; **B₁₃₅ Alternos**, biosólidos aplicados en años alternos y **B₁₃₅ Consecutivos**, biosólidos aplicados tres años consecutivos.



Al igual que en el año anterior, el mayor contenido de K se observó en el suelo donde se aplicó fertilizante mineral (**F**), seguido del tratado con biosólidos tres años consecutivos y dos alternos, respectivamente. No se encontraron diferencias entre los niveles de K del suelo donde se aplicó biosólidos sólo el primer año y suelo natural, quizás debido al mayor desarrollo y rendimiento de las plantas de tomate cultivadas en el suelo tratado con biosólidos sólo el primer año, en los anteriores años de la experimentación, para lo cual las plantas necesitaron mayores extracción de elementos esenciales.

El pH disminuyó conforme al aumento de las frecuencias de aplicación de biosólidos, comportamiento debido a las menores magnitudes presentes en los biosólidos aplicados, respecto al suelo utilizado.

De forma general, la aplicación de biosólidos al suelo incrementó los contenidos de elementos esenciales y MO del suelo, fenómeno debido al contenido relativamente alto de estos constituyentes en estos residuos orgánicos (**Tabla 8**), los cuales modificaron la composición química del suelo.

Es destacable, que las aplicaciones de biosólidos no tuvieron una influencia muy marcada en el contenido de K en los primeros años de experimentación, debido a su contenido relativamente bajo en los biosólidos, debido a la alta solubilidad de este elemento y su pérdida con el agua una vez depurada; no obstante, el 100% de este elemento presente en los biosólidos se considera asimilable por las plantas, fenómeno informado por Ferreira (2000).

El incremento de los niveles de K y Mg intercambiables observado cuando se aplicó biosólidos dos años alternos y tres consecutivos pudo ser debido a la capacidad tampón del potencial potásico y magnésico del suelo, lo que permite mantener un equilibrio en las concentraciones de estos elementos en el mismo. Sólo podrá alterarse significativamente las concentraciones de estos elementos haciéndose aplicaciones muy



elevadas o sucesivas de portadores de estos elementos o haciendo elevadas extracciones en los sustratos, ya sea por parte de las plantas o por lavado o lixiviación de las partículas del suelo.

En cuanto al pH, de forma general se observó que sus valores disminuyeron en los suelos tratados con biosólidos (tomando valores ligeramente básicos) y sus magnitudes disminuyen con el aumento de las frecuencias de aplicación de estos materiales orgánicos al suelo. En este sentido, Da Silva y col. (2001) notificaron que la aplicación de biosólidos al suelo tenía un efecto corrector del pH, aspecto muy importante por la implicación que tiene el mismo en la movilidad y/o disponibilidad de los elementos minerales en los sustratos.

4.4.2. Efecto de la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias en los contenidos totales de metales pesados en los sustratos y las plantas.

4.4.2.1. Efecto de la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias en los contenidos de metales pesados en los sustratos.

Debido al peligro que presupone para la salud humana la ingesta de alimentos con contenidos excesivos de MP y teniendo en cuenta que en la mayoría de los casos estos elementos provienen de los sustratos donde se desarrollan las plantas, se procedió a evaluar la concentración de Fe, Mn, Cu, Zn, Ni, Co, Cr y Pb en los sustratos (**Tabla 15**).



Tabla 15. Niveles totales de metales pesados en un suelo Ferralítico Rojo compactado eútrico tratado con diferentes frecuencias de aplicación de biosólidos (en base seca) , al final del experimento (final del tercer año).

Metales pesados		Tratamientos				
		S	F	B 135 Primer	B 135 Alternos	B 135 Consecutivos
Fe	(%)	8,61±0,03 a	8,83±0,08 a	7,96±0,03 b	7,06±0,06 c	6,36±0,09 d
Mn		0,40±0,003 a	0,40±0,01 a	0,36±0,006 b	0,32±0,003 c	0,26±0,006 d
Zn	(mg.kg ⁻¹)	76,67±3,33 c	70,0±5,77 c	306,67±136,79 b	316,67±17,64 b	513,33±3,33 a
Cu		87,67±3,18 d	84,0±2,89 d	146,67±3,33 c	173,33±3,33 b	226,67±3,33 a
Ni		44,0±1,53 b	47,67±1,76 b	58,33±1,76 a	57,67±1,45 a	62,67±2,60 a
Co		36,67±3,33 b	53,33±3,33 a	33,33±3,33 b	33,33±3,33 b	33,33±3,33 b
Cr		17,0±1,0 ns	19,33±1,77 ns	16,33±0,88 ns	14,33±0,33 ns	16,67±0,88 ns
Pb		< LD	< LD	< LD	< LD	< LD

Nivel medio de metales pesados ± el error estándar. LD: Límites de Detección (20 mg.kg⁻¹). S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₁₃₅ Primer, biosólidos aplicado sólo el primer año; B₁₃₅ Alternos, biosólidos aplicados en años alternos y B₁₃₅ Consecutivos, biosólidos aplicados tres años consecutivos.

En la misma, se observa que al final del experimento los MP en el suelo natural se encuentran en un orden decreciente Fe > Mn > Cu > Zn > Ni > Co > Cr > Pb. Sin embargo, las concentraciones totales de MP en el suelo, cuando se aplicó biosólidos, independientemente de sus frecuencias de aplicación se encuentran en una secuencia decreciente: Fe > Mn > Zn > Cu > Ni > Co > Cr > Pb, lo que evidencia que la aplicación de estos residuos no sólo alteró la cantidad de MP en los sustratos, sino que también cambió la secuencia de concentración de estos elementos en los mismos, donde el Zn, el cual es el cuarto elemento de mayor concentración en el suelo, cuando se aplicó biosólidos pasó a ser el tercero, superando a la concentración de Cu. Este fenómeno pone de manifiesto el impacto que puede causar la aplicación de estos residuos en los suelos, los cuales en algunos casos pueden alterar la composición original de los mismos. En este sentido, Illera y col. (2001) encontraron que la aplicación de biosólidos en un suelo Leptosoles Rendsicos cambió las secuencias de concentraciones de MP en la capa superficial del mismo.



La aplicación de biosólidos disminuyó el contenido de Fe y Mn en el suelo, conforme aumentó el número de frecuencias de aplicación de este residuo y su mayor concentración se observa en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral. La mayor concentración observada en estos dos últimos tratamientos, se debe a los mayores niveles de éstos elementos en el material que le da origen a los suelos Ferralíticos Rojos. Sin embargo, cuando se aplicó biosólidos al suelo el contenido relativamente alto de MO aportado por estos residuos, pudo propiciar la formación de quelatos, ya que según Jordão y col. (1993), citado por Ferreira (2000) la MO presenta en su composición sustancias húmicas que poseen grupos funcionales con excepcional reactividad para acomplejar metales (carboxilos, hidroxilos, fenólicos y de varios tipos), los cuales pueden propiciar la formación de compuestos organo-minerales de relativa movilidad que pueden ser coprecipitados con otros elementos y/o lavados por el agua de riego, provocando una disminución de sus concentraciones en la capa más superficial del suelo. La aplicación de biosólidos al suelo incrementó el contenido de Zn y sus mayores magnitudes se encontraron cuando se aplicó este residuo orgánico tres años consecutivos, seguido del que se aplicó sólo el primer año y en años alternos, entre los cuales no se observaron diferencias significativas y los menores contenidos de este metal se encontraron en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral. Esto pudo deberse a la concentración de este elemento en los biosólidos aplicados, el cual ocupó el tercer lugar con los mayores niveles (**Tabla 9**). Se señala, que el nivel de Zn detectado en el suelo tratado con biosólidos tres años consecutivos, representa el 85,55% del valor considerado como crítico para el normal desarrollo de las plantas (600 mg.kg^{-1}) informado por Muñiz (2000) para suelos Ferralíticos Rojos. Si bien esta situación constituye una alerta para el cultivo del tomate desarrollado en un suelo tratado con biosólidos por más de tres años, los niveles posibles a



alcanzar pueden resultar tóxico para las plantas; sin embargo, para los animales no ofrece peligro inmediato ya los mismos toleran niveles significativamente más altos de MP, sin que ocasione toxicidad al organismo.

El contenido de Cu se incrementó conforme aumentó las frecuencias de aplicación de biosólidos, los valores alcanzados por el suelo donde se aplicó biosólidos tres años consecutivos fueron superiores al de los restantes sustratos, como consecuencia del contenido del metal en los biosólidos aplicados (**Tabla 9**); mientras que, los menores valores se encontraron en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral. Estos resultados coinciden con los informados por Séller y *col.* (2002) quienes plantearon que la aplicación de biosólidos produce incrementos del contenido de este metal en los suelos tratados. De igual manera, Benítez y *col.* (2000); Carvalho y Mattiazzo (2001) y Mbila y *col.* (2001) notificaron que la aplicación de biosólidos aumenta de forma significativa la concentración total de Cu y Zn en el suelo.

Al evaluar el contenido de Ni se observó que los sustratos donde se aplicaron biosólidos presentaron los mayores valores, independientemente de las frecuencias de aplicación de los mismos, siendo superiores al encontrado en el suelo natural y el suelo tratado con fertilizante mineral, respectivamente.

En cuanto al Co, se observó que la aplicación de biosólidos no alteró el contenido de este elemento en el suelo, en comparación con el encontrado en el suelo natural, por lo que no existieron diferencias significativamente entre ellos. Sin embargo, el contenido presente en el suelo tratado con fertilizante mineral fue superior al de los restantes tratamientos, quizás debido a la presencia de este elemento en los fertilizantes minerales sintéticos aplicados durante la fase de experimentación.



Las diferentes frecuencias de aplicación de biosólidos no tuvieron influencia en la concentración de Cr en el suelo y según lo notificado por Andrade y Matiazzo (2000), sus valores están dentro del rango considerado como normal para suelos de usos agrícolas, por lo que no ofrece ningún peligro para el desarrollo de las plantas. En este sentido, Benítez y col. (2000), encontraron que la aplicación de biosólidos en un suelo no calcáreo (Xerocept típico) no alteró el contenido de Co y Cr en el suelo.

La aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias no tuvo influencia en el contenido de Pb del sustrato y al igual que en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral los niveles en todos los sustratos estuvieron por debajo del Límite de Detección (20 mg.kg^{-1}). Este comportamiento se debe a que el contenido de este elemento en los biosólidos también está por debajo del límite de detección (5 mg.kg^{-1}). Carvalho y Mattiazzo (2001) informaron que al aplicar biosólidos en un suelo de uso agrícola, el contenido de Pb se mantuvo por debajo del Límite de Detección en todos los tratamientos estudiados.

Contrario a lo obtenido por Illera y col. (2001), quienes observaron que al año de aplicar biosólidos de aguas residuales urbanas en un suelo clasificado como Leptosol Rendsicos, ocurrió un incremento generalizado en los contenidos de todos los metales con respecto al suelo natural.

Los resultados encontrados en este trabajo evidencian que los contenidos totales de MP detectados en los sustratos están en dependencia de su concentración en los biosólidos y en el suelo, además de su movilidad en el sustrato y de la capacidad genética de las plantas para absorberlos o extraerlos del mismo y que los niveles de los mismos se encuentran por debajo de los niveles considerados como críticos por exceso para este tipo de suelo, razón por la cual no se evaluó el contenido asimilable de estos elementos en los sustratos.



De forma general, la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias no incrementaron los contenidos de Fe, Mn, Cu, Zn, Ni, Co, Cr y Pb en los sustratos, hasta niveles que constituyen un riesgo potencial de fitotoxicidad, si se tiene en cuenta que los contenidos totales de estos elementos no sobrepasan los niveles considerados como críticos por Muñiz (2000) para suelos Ferralíticos Rojos (Ni, 1100 mg.kg⁻¹; Pb, 350 mg.kg⁻¹; Cu, 600 mg.kg⁻¹ y Zn, 600 mg.kg⁻¹); a pesar de que la concentración de Zn representa el 85,55% de la concentración considerada como crítica para este tipo de suelo. De esta forma se corrobora lo planteado por Passos y col. (2004), quienes informaron que los biosólidos provenientes de tratamientos de residuales predominantemente doméstico presentan bajos contenidos de MP, dentro los que se destacan el Cu, Ni, Zn, Pb, Mn, Fe y el Cr.

4.4.2.2 Efecto de la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias en la concentración de metales pesados en los órganos vegetales.

Los resultados del efecto de diferentes frecuencias de aplicación de biosólidos en el contenido de Cr, Cu, Ni, Zn, Co Mn, Fe y Pb en los diferentes órganos de plantas de tomate después de tres años de experimentación se muestran en la **Tabla 16**.

Es de destacar el hecho, de que los niveles de todos los elementos en los órganos de las plantas cultivadas en los diferentes sustratos estuvieron por debajo de los límites máximos considerados como críticos para esta especie informados por Alloway (1990), citado por García y col. (2000).



Tabla 16. Niveles de metales pesados en los órganos de plantas de tomate, desarrollados en un suelo tratado con diferentes frecuencias de aplicaciones de biosólidos (mg.kg^{-1} muestra seca), al final del experimento (final del tercer año).

Metales pesados	Órganos	Tratamientos				
		S	F	B 135 Primer	B 135 Alternos	B 135 Consecutivos
Fe	Raíz	2140,00±102,96 ns	2600,00±488,19 ns	2275,0±205,7 ns	1933,33±88,19 ns	2500,0±57,7 ns
	Tallo	1042,00±132,91 a	322,50±61,55 b	330,00±54,01 b	292,50±42,11 b	283,33±38,44 b
	Hojas	1682,50±77,28 ns	986,00±127,54 ns	765,00±93,94 ns	983,33±273,88 ns	1330,±56,27 ns
	Frutos	310,00±56,72 a	110,00±40,82 b	127,50±12,50 b	150,00±12,91 b	182,50±14,93 b
Mn	Raíz	85,7±6,83 ns	96,75±23,30 ns	88,28±7,15 ns	74,33±1,33 ns	91,33±2,73 ns
	Tallo	133,20±20,36 ns	89,85±9,94 ns	118,25±3,94 ns	86,5±7,22 ns	89,67±3,33 ns
	Hojas	113,75±8,72 ns	101,40±12,70 ns	87,50±12,82 ns	61,67±8,11 ns	88,25±8,11 ns
	Frutos	38,00±5,42 a	29,25±3,40 ab	26,00±0,58 ab	25,75±0,63 ab	21,98±0,72 b
Zn	Raíz	51,26±2,68 cd	47,3±10,15 d	81,63±4,19 bc	111,83±10,83 ab	119,60±12,87 a
	Tallo	71,38±7,07 c	58,98±1,40 c	117,58±12,44 bc	190,00±18,45 ab	202,67±45,50 a
	Hojas	100,58±7,62 ab	128,00± 5,66 a	82,70±7,90 b	76,57±6,57 b	104,18±11,7 ab
	Frutos	30,85±2,81 ns	27,35±3,07 ns	28,13±1,96 ns	29,68±5,90 ns	33,90±1,70 ns
Cu	Raíz	17,64±0,44 b	18,7±1,82 ab	21,43±0,23 ab	20,50±1,27 ab	22,50±0,55 a
	Tallo	18,40±1,22 ns	12,93±1,81 ns	16,63±0,79 ns	18,50±1,36 ns	16,80±1,46 ns
	Hojas	14,90±0,95 c	16,12±1,61 bc	17,23±0,62 bc	22,93±2,13 ab	25,73±2,46 a
	Frutos	13,98±1,67 ns	16,15±1,09 ns	15,33±2,08 ns	14,68±0,49 ns	13,35±0,39 ns
Ni	Raíz	8,80±0,63 ns	6,43±0,54 ns	7,25±0,75 ns	7,73±0,96 ns	6,63±0,13 ns
	Tallo	7,60±1,62 ns	7,48±0,73 ns	8,48±1,00 ns	6,95±1,07 ns	11,73±3,55 ns
	Hojas	17,00±3,55 ns	11,75±0,40 ns	11,28±2,73 ns	10,80±1,94 ns	11,70±1,97 ns
	Frutos	4,33±0,27 ns	5,13±0,55 ns	4,45±0,41 ns	4,00±0,31 ns	5,08±0,49 ns
Co	Raíz	4,20±0,53 ns	3,00±0,53 ns	2,65±0,35 ns	4,17±0,29 ns	3,67±0,32 ns
	Tallo	5,54±0,40 ns	4,25±0,99 ns	4,95±0,83 ns	3,18±0,30 ns	3,07±0,47 ns
	Hojas	6,23±0,53 ns	5,96±0,87 ns	6,08±0,40 ns	6,27±0,64 ns	6,98±0,43 ns
	Frutos	5,93±0,41 ns	5,38±1,16 ns	4,93±1,02 ns	2,85±0,43 ns	4,73±0,15 ns
Cr	Raíz	7,96±2,01 ns	8,55±1,77 ns	7,10±0,65 ns	5,70±0,15 ns	6,17±0,15 ns
	Tallo	5,26±0,87 ns	3,75±0,34 ns	4,58±1,65 ns	3,73±0,52 ns	4,17±1,09 ns
	Hojas	9,10±0,82 ns	7,68±1,11 ns	7,36±1,04 ns	6,10±0,76 ns	7,35±1,35 ns
	Frutos	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
Pb	Raíz	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Tallo	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Hojas	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Frutos	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD

Nivel medio de metales pesados ± el error estándar. LD: Límite de Detección (5 mg.kg^{-1}). S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B_{135 Primer}, biosólidos aplicado sólo el primer año; B_{135 Alternos}, biosólidos aplicados en años alternos y B_{135 Consecutivos}, biosólidos aplicados tres años consecutivos.



Al analizar los contenidos de Fe en los diferentes órganos, se observó que la aplicación de biosólidos no provocó cambios ni en la raíz y ni en las hojas; mientras que en el tallo y los frutos disminuyó su acumulación con respecto a las plantas desarrolladas en suelo natural y no difirió significativamente del de las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral. Este comportamiento puede ser debido a que este elemento en suelos ligeramente básicos presenta baja solubilidad, además en los casos donde se aplicó biosólidos también pudiera estar influyendo la formación de quelatos, los cuales se forman como resultado de la unión de este elemento con las sustancias orgánicas aportadas por los biosólidos, tal como se informó al analizar la **Tabla 15**.

En esta tabla se observa que cuando se aplicó biosólidos con diferentes frecuencias al suelo, la concentración de Zn en la raíz y el tallo, tendió a incrementar con el aumento de las frecuencias de aplicación, siendo el contenido encontrado en las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos tres años consecutivos superior al de las plantas desarrolladas en el suelo natural, el tratado con fertilizante mineral y al que se le aplicó biosólidos sólo el primer año de la experimentación. La aplicación de biosólidos no tuvo una influencia marcada en los niveles de Zn en las hojas y en los frutos; aunque cuando se aplicaron bajas frecuencias hubo una tendencia a la disminución en las hojas.

Es destacable, que a pesar de que el contenido de Zn es relativamente alto en los sustratos, su concentración en los órganos vegetales es relativamente baja, quizás debido a que la absorción de este elemento por las plantas está influenciada por la presencia de Ca, Cu y P en los sustratos, fenómeno evidente en esta experimentación. Resultados que avalan este comportamiento fueron encontrados por Malavolta y col. (1989) y Karbata-Pendias y Pendias (1985), citado por Moreno (2003)



quienes notificaron que la absorción de Zn en presencia de Ca, Cu y P se ve reducida, ya que el mecanismo de absorción del Zn, el Cu y el Ca es el mismo y con el del P lo que ocurre es una inhibición no competitiva en la absorción. Todo esto provoca que cuando hay un incremento de estos elementos en el suelo, decrece la absorción del Zn por las plantas. Además el Zn tiene la propiedad de formar complejos insolubles con las arcillas y la MO del suelo (Nanthi y col., 2003), por lo que pudo estar retenido fuertemente por los sustratos.

Las diferentes aplicaciones de biosólidos no influyeron en los niveles de Cu encontrados en el tallo y los frutos (**Tabla 16**). Mientras que, en la raíz y en las hojas su concentración tendió a incrementar con el aumento de las frecuencias de aplicación de biosólidos, alcanzando las plantas desarrolladas en el suelo tratado con biosólidos tres años consecutivos contenidos superiores del metal en sus raíces, al encontrado en las raíces de las plantas desarrolladas en el suelo natural y en las hojas, al de las desarrolladas en el suelo natural, el tratado con fertilizante mineral y el tratado con biosólidos sólo el primer año de la investigación.

Este comportamiento se corresponde con el contenido de este metal presente en los sustratos, los cuales se muestran en la **Tabla 15**. Se señala además, que a pesar de que los niveles de Cu en el suelo son inferiores a los valores considerados como críticos en este tipo de suelo, este metal al igual que otros tiene la propiedad de formar quelatos, los cuales presentan una movilidad que le permiten ser absorbido mejor por las plantas, pero también pueden ser trasladados a capas más profundas del suelo. Además al igual que el Zn, este compuesto forma complejos organo-mineral con la MO presente en el suelo, lo que en ocasiones provoca que su movilidad y absorción por las raíces de las plantas sea limitada. En este sentido, Nanthi y col. (2003) encontraron



que al aplicar varias dosis de Cu en un suelo tratado con biosólidos este elemento formaba complejos con las arcillas y la MO del mismo, lo que le confería relativa movilidad al metal en el suelo, pero incrementaba la concentración del mismo en la MO. Moreno (2003) y De Andrade (2004) también informaron de la afinidad del Cu a formar complejos con los ácidos húmicos y otros ligandos orgánicos presentes en los suelos. Sumado a esto, Malavolta y col. (1989) informaron del antagonismo existente entre este elemento y el Ca en el suelo, lo que propiciaba que en presencia de contenidos relativamente altos de Ca la absorción de Cu fuera limitada.

Resultados que confirman el incremento en el contenido de Cu y Zn en los órganos vegetales provocados por la aplicación de biosólidos fueron encontrados por Martínez y col. (2003), quienes informaron que la aplicación de estos residuos incrementó el contenido de dicho metal en los tejidos de plantas nativas crecidas en ecosistemas semiáridos.

De forma general, se pudo observar que a pesar de que el nivel de Cu en los biosólidos fue mayor que el de Zn, se evidencia una mayor retención de este último metal pesado en el suelo y una mayor movilidad hacia las plantas; sin embargo, cuando se analiza el caso del Cu, el mismo tiene menor movilidad hacia las plantas y su concentración en la capa más superficial del suelo (0 - 20 cm) da indicio de que gran parte de este elemento pudo ser trasladado con el agua de riego a capas más profundas del suelo.

La aplicación de biosólidos al suelo con diferentes frecuencias no tuvo influencia en la concentración de Ni, Co y Cr encontrada en los diferentes órganos de la planta y en el caso del plomo Pb, los valores de concentración del elemento estuvieron por debajo del límite de detección (5 mg.kg^{-1}).



En cuanto a los niveles de Cr, su comportamiento en los órganos vegetales se corresponde con el encontrado en los sustratos donde se desarrollaron las plantas, donde tampoco se observaron diferencias significativas entre los sustratos. Es destacable, que la concentración de este elemento está por debajo del Límite de Detección en los frutos (1.5 mg.kg^{-1}). Además, este elemento posee baja solubilidad en los sustratos, ya que generalmente se encuentra fuertemente retenido en la fracción más resistente de los mismos, tal como fue notificado por Walter y Cuevas (1999); por lo tanto, la disponibilidad y absorción por las plantas es limitada.

Al hacer el análisis de la acumulación de los MP en los diferentes órganos de las plantas de tomate cultivadas en el suelo donde se aplicó biosólidos por tres años consecutivos (**Tabla 17**), se pudo observar que de manera general, la mayor acumulación de los MP se encontró en la parte vegetativa de las plantas (raíz, tallo y hojas), con una mayor tendencia a acumularse en la raíz y las hojas, y la menor concentración se evidenció en los frutos. Este comportamiento es de vital importancia ya que precisamente es el fruto el órgano de consumo para el hombre y de la calidad del mismo depende en gran medida la salud humana. En este sentido Singh y col. (2002), informaron de la baja movilidad de algunos MP desde los diferentes órganos vegetativos de las plantas de tomate hacia los frutos.

Se destaca, que si se tienen en cuenta las concentraciones totales de MP en el sustrato, la absorción por las plantas fue reducida, lo que evidencia que a pesar de los factores que pudieron afectar la disponibilidad y la absorción de los mismos en los sustratos, las plantas son capaces de desarrollar varios mecanismos frente a la presencia de estos en el ambiente. Entre ellos, los MP pueden ser absorbidos en cantidades muy pequeñas, aunque su concentración en el medio sea



muy elevada y una vez extraídos los MP del sustrato, dentro de la planta pueden tener diferentes destinos, es frecuente que se acumulen en ciertos órganos (raíces, tallos y hojas), en algunos casos, pueden quedar adsorbidos en las raíces de las plantas sin llegar a entrar en ellas, así algunas plantas acumulan metales en las paredes celulares y evitan de esta forma su presencia en el interior celular.

Tabla 17. Niveles totales de metales pesados en un suelo Ferralítico Rojo tratado con biosólidos de aguas residuales urbanas por tres años consecutivos y su acumulación en los órganos de las plantas de tomate, al final del experimento (final del tercer año).

Metales pesados		Sustrato	Órganos			
			Raíz	Tallo	Hojas	Frutos
Fe	(%)	63600±900	2500,0±57,7 a	283,33±38,44 c	1330,±56,27 b	182,50±14,93 c
Mn		2600±60	91,33±2,73 a	89,67±3,33 a	88,25±8,11 a	21,98±0,72 b
Zn		513,33±3,33	119,60±12,87 ab	202,67±45,50 a	104,18±11,7 b	33,90±1,70 c
Cu		226,67±3,33	22,50±0,55 ab	16,80±1,46 bc	25,73±2,46 a	13,35±0,39 c
Ni		62,67±2,60	6,63±0,13 ns	11,73±3,55 ns	11,70±1,97 ns	5,08±0,49 ns
Co		33,33±3,33	3,67±0,32 bc	3,07±0,47 c	6,98±0,43 a	4,73±0,15 b
Cr		16,67±0,88	6,17±0,15 ns	4,17±1,09 ns	7,35±1,35 ns	< LD
Pb		< LD	< LD	< LD	< LD	< LD

Nivel medio de metales pesados ± el error estándar. **LD:** Límite de Detección (5 mg.kg⁻¹).

De forma complementaria pueden existir sistemas activos de extrusión de

metales. Muy a menudo se encuentra una compartimentación, por lo que ocurre en las vacuolas un enmascaramiento de los metales con agentes acomplejantes tales como, los aminoácidos, los ácidos carboxílicos (malatos, citratos y oxalatos) (Jordan, 2001) o los pasan al apoplasto.

Por los resultados observados en esta tabla se puede deducir que las potencialidades genéticas de las plantas de tomate juegan un papel decisivo en la absorción y acumulación diferencial y selectiva de los MP por las mismas. Este fenómeno propicia que algunos MP no sean absorbidos por las plantas o de ser absorbidos en pequeñas o grandes cantidades queden retenidos mayoritariamente en los órganos



vegetativos, tal es el caso del Fe, frente al cual las plantas mostraron un mecanismo de exclusión, hecho que propició su elevada acumulación en la raíz, en comparación con los restantes órganos; mientras que, los demás metales presentaron una distribución más equilibrada entre los diferentes órganos del vegetal. El comportamiento observado puede deberse a la presencia de determinados transportadores y/o ATPasas específicas a nivel de las membranas, los cuales son diferencialmente selectivos a la hora de la absorción de los diferentes elementos metálicos hacia el interior de las plantas.

En este sentido, varios autores han informado la existencia de las chaperonas de Cu, las cuales son mezclas de proteínas solubles de baja masa molecular receptoras de metales y están involucradas en el tráfico intracelular de iones metálicos. Las ATPasas transportadoras de Cu se piensan que no sólo son importantes para obtener suficientes cantidades de iones de MP para funciones celulares esenciales en las plantas, sino que también previenen la acumulación de estos iones a niveles tóxicos. La acumulación de los metales mayoritariamente en la raíz y las hojas se debe a que; el primero, es el órgano de contacto inmediato con los elementos del suelo y de absorción por parte de las plantas, dentro de ellos los MP; mientras que, el segundo es el órgano en el cual se realizan unas series de reacciones bioquímicas y procesos fisiológicos vitales para el adecuado desarrollo de las plantas, en los cuales los MP se encuentran formando parte estructural o como activadores enzimáticos en la síntesis de clorofilas, proteínas, ácidos nucleicos, además participan en el intercambio gaseoso, la fotosíntesis, la respiración y la asimilación del nitrógeno, del azufre, entre otros.

Por otro lado, la formación de complejos órgano-metálicos disminuye la absorción de los MP por las raíces de las plantas (Ramos y Aguilera, 1995). Sumado a esto, la baja movilidad y/o disponibilidad, así como la absorción de estos metales por las plantas desarrolladas en este tipo de



suelo, también pudo estar influenciada por los contenidos relativamente altos de óxidos de Fe, Al y Mn, debido a la formación litogénica del mismo, los cuales en altos valores de pH se precipitan con los MP (Mattiazzo, 1994, citado por Moreno, 2003).

4.4.3. Efecto de la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias en las poblaciones microbianas en los sustratos.

Al evaluar la influencia de la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias en la biomasa microbiana del suelo al final del experimento (**Tabla 18**) se observó un incremento del contenido total de los principales microorganismos encargados de la degradación de la MO y de los diferentes ciclos de los nutrientes en los suelos (bacterias, hongos y actinomicetos), siendo evidente la presencia relativamente elevada de bacterias encargadas de la fijación de N en los suelos, las cuales fueron estimuladas por la presencia de éstos microorganismos en los biosólidos (**Tabla 10**), aspecto muy importante ya que estas bacterias juegan un papel preponderante en el ciclo de este elemento en los suelos y representa aproximadamente más del 50% del N fijado por la fijación biológica, según lo informado por Paneque (2006). Esto trae consigo una mayor disponibilidad de este elemento para las plantas e influye positivamente en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de las mismas.

Otro de los beneficios de estos microorganismos es que son capaces de sintetizar sustancias biológicamente activas (auxinas, citoquininas, giberelinas, aminoácidos, enzimas y vitaminas) que estimulan el desarrollo de las plantas. Dentro de las enzimas excretadas por los microorganismos se pueden encontrar algunas que oxidan MP y lo convierten en compuestos no asimilables por las plantas, hecho que fue informado por Bader y col., (1999), esta última propiedad es utilizada actualmente como una tecnología promisoría por la Comunidad



Científica Internacional para descontaminar los suelos de MP y es llamada comúnmente bioremediación.

Tabla 18. Efecto de la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias en las poblaciones microbianas del suelo, al final del experimento (final del tercer año).

Microorganismos		Tratamientos				
		S	F	B 135 Primer	B 135 Alternos	B 135 Consecutivos
Bacterias totales	UFC.g ⁻¹ muestra)	5,8 x 10 ⁵	5,3x10 ⁵	8,5x10 ⁵	1,5x10 ⁶	6,7x10 ⁶
Hongos totales		9,3x10 ⁴	3x10 ⁴	2,9x10 ⁵	4,4x10 ⁵	5,8x10 ⁵
Actinomicetos totales		4,5x10 ³	3,6x10 ³	1x10 ⁴	6,3x10 ⁴	9,2x10 ⁵
Nitro fijadores totales		10 ³	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵
Coliformes totales		<1x10	<1x10	<1x10	<1x10	<1x10
Coliformes fecales		0	0	0	<1x10	<1x10
<i>Staphylococcus aureus</i>		< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		negativa	negativa	negativa	negativa	negativa
<i>Salmonellas spp.</i> , (4 UFC.g ⁻¹ muestra		negativa	negativa	negativa	negativa	negativa

UFC, Unidades formadoras de colonias. S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₁₃₅ Primer, biosólidos aplicado sólo el primer año; B₁₃₅ Alternos, biosólidos aplicados en años alternos y B₁₃₅ Consecutivos, biosólidos aplicados tres años consecutivos.

Dentro de los hongos totales existentes en los biosólidos pueden encontrarse los del tipo micorrizógeno, lo cuales establecen asociaciones simbióticas con las plantas superiores y favorecen su capacidad para extraer agua y nutrientes del suelo.

Las poblaciones de microorganismos patógenos (Coliformes totales y fecales, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonellas spp*) se encuentran en magnitudes relativamente bajas en todos los sustratos y no se observaron marcados incrementos provocados por la aplicación de biosólidos. Aunque no se pueden tener criterios acerca de estos resultados debido a la no existencia de un consenso entre las comunidades mundiales en cuanto a la definición de límites máximos permisibles para suelos de uso agrícola (Ferreira, 2000).

No obstante, la persistencia de estos microorganismos en el suelo es relativamente corta. En este sentido, Cesario (2001) informó que el



tiempo de sobrevivencia de las bacterias en el suelo varía de 5 – 90 días después de su aplicación, los cuales tienen poco tiempo de supervivencia, quizás debido a la competencia o relaciones antagónicas que se establecen entre éstas y las nativas del suelo, además de las diferentes de las condiciones del sustrato en relación con su hábitat natural. En este sentido, Andraus y *col.* (1997), citado por Ferreira (2000) informaron que el tiempo de supervivencia de los microorganismos presentes en los biosólidos está en dependencia de un sinnúmero de factores ambientales que varían con las diferentes composiciones de los sustratos. Estos autores también plantean que los protozoarios de vida libre son considerados importantes predadores de coliformes y comprobaron que las bacterias entéricas aplicadas en suelos estériles bajo control, sobreviven más tiempo que aquellas que son adicionadas en un suelo no estéril. Además, se destaca que en el proceso de depuración de las aguas residuales se reduce drásticamente la *Demanda Bioquímica de Oxígeno* (DBO) desde su entrada a la planta depuradora que es de 23 mg.L⁻¹ hasta 5 mg.L⁻¹ en su salida (Almora y Alpízar, 2002)

De estos resultados, se puede concluir que la aplicación de biosólidos de aguas residuales urbanas al suelo influye positivamente en la población de microorganismos encargados de la mineralización de la MO y de los diferentes ciclos de los elementos esenciales para las plantas en los sustratos y no representa un riesgo potencial de contaminación producido por los microorganismos patógenos presentes en estos residuos, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la caracterización de los biosólidos y los niveles de microorganismos patógenos en los sustratos, los cuales están por debajo de los límites aceptados por la USEPA (1993).

Se informa, que contrario a los contaminantes orgánicos y a los MP, los cuales requieren métodos de remoción económicamente insostenible



(Cesário, 2001), la presencia de microorganismos patógenos en los biosólidos está en función de las cualidades de los mismos y del sistema de tratamiento por los cuales pasan en la depuradora. A través de diversos procesos de higienización, conforme al destino previsto, los biosólidos pueden ser desinfectados, de manera que los niveles de microorganismos patógenos pueden ser reducidos drásticamente. Es por ello, que además de que la población de estos microorganismos en los biosólidos es muy importante para determinar su calidad para ser utilizado en la agricultura, debido a los daños que puede causar a la salud humana, la presencia de MP representa su principal factor limitante.

4.4.4 Efecto de la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias en el número de frutos, la masa fresca de los frutos y el rendimiento de las plantas de tomate.

En la **Figura 17** se evidencia la respuesta positiva que mostró el rendimiento y sus componentes a la adición de biosólidos al suelo. De forma general, en este primer año de experimentación, las plantas cultivadas en el suelo donde se aplicó este residuo orgánico superaron ampliamente a los valores obtenidos por las desarrolladas en el suelo natural y el tratado con fertilizante mineral.

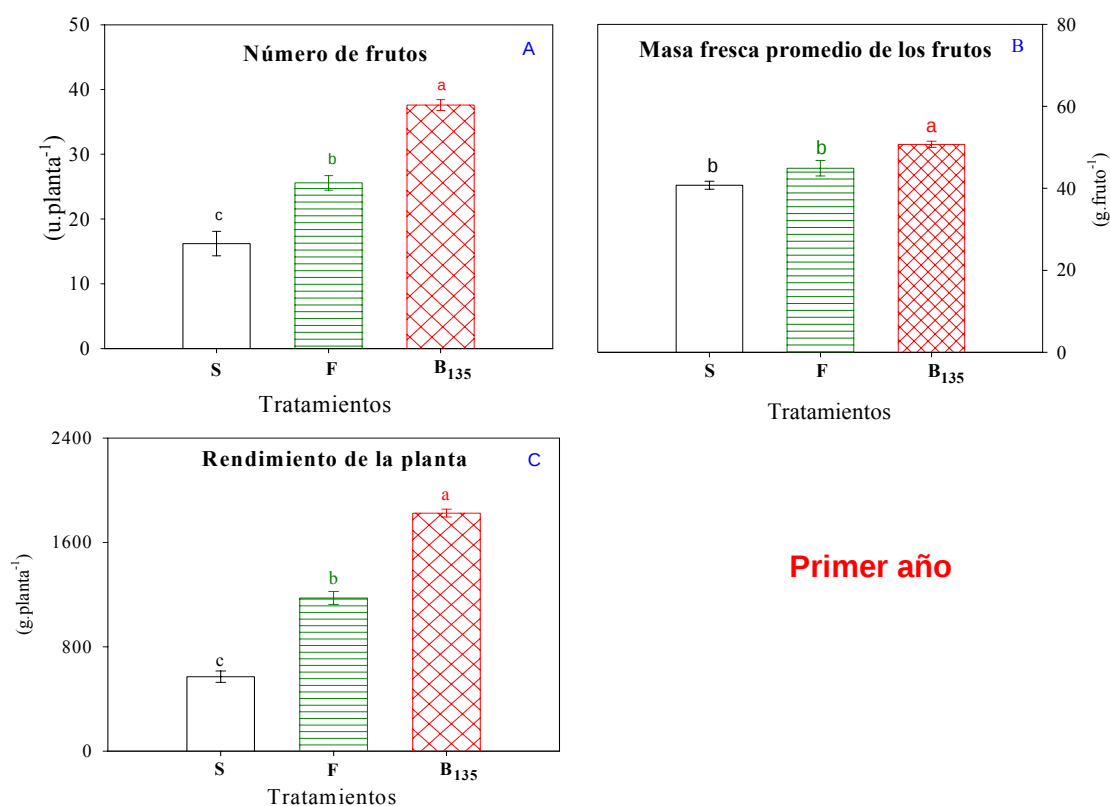


Figura 17. Número de frutos, masa fresca promedio de los frutos y rendimiento por plantas de tomate desarrolladas en un suelo Ferralítico Rojo, tratado con biosólidos. **S**, suelo natural; **F**, suelo tratado con fertilizante mineral y **B₁₃₅**, 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo. **I**, error estándar. Tercer año.

En el segundo año de experimentación (**Figura 18**), se hizo evidente que las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos alcanzaron valores del número de frutos (**Figura 18 A**), de masa fresca promedio de los frutos (**Figura 18 B**) y del rendimiento por planta (**Figura 18 C**) superiores al de los restantes sustratos, incluyendo el suelo tratado con fertilizante mineral.

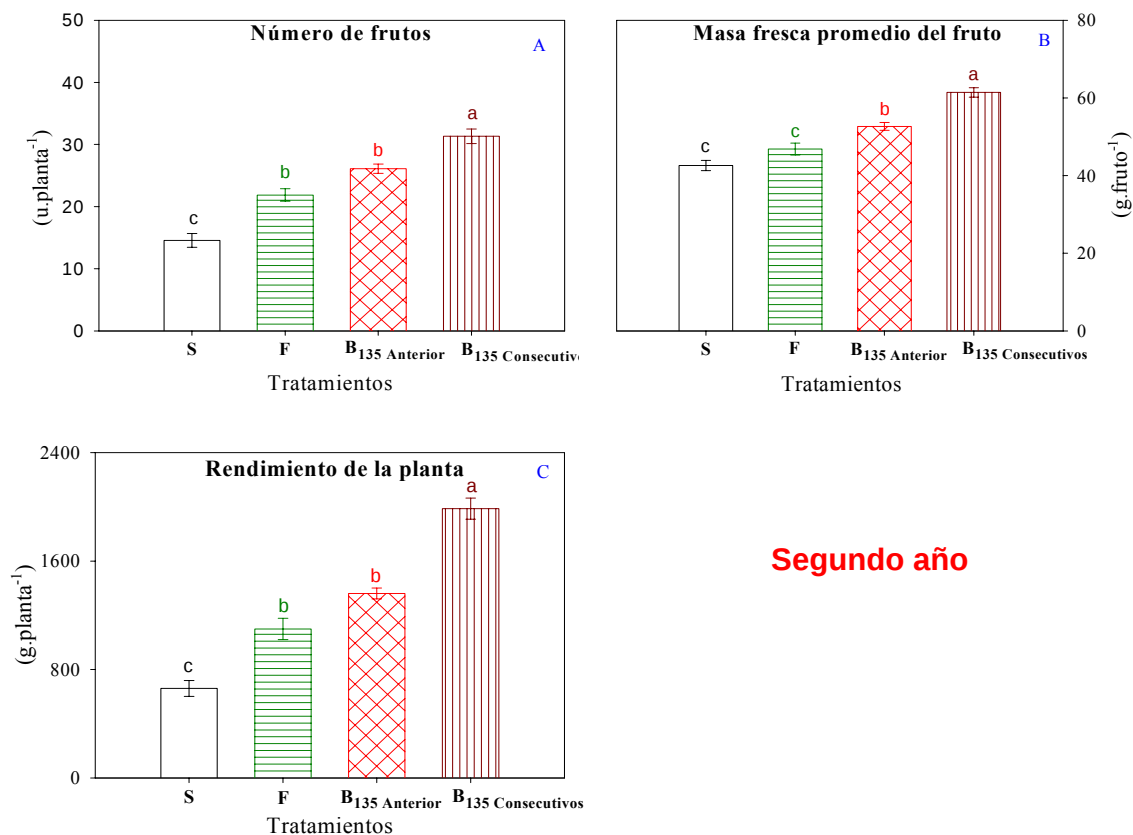
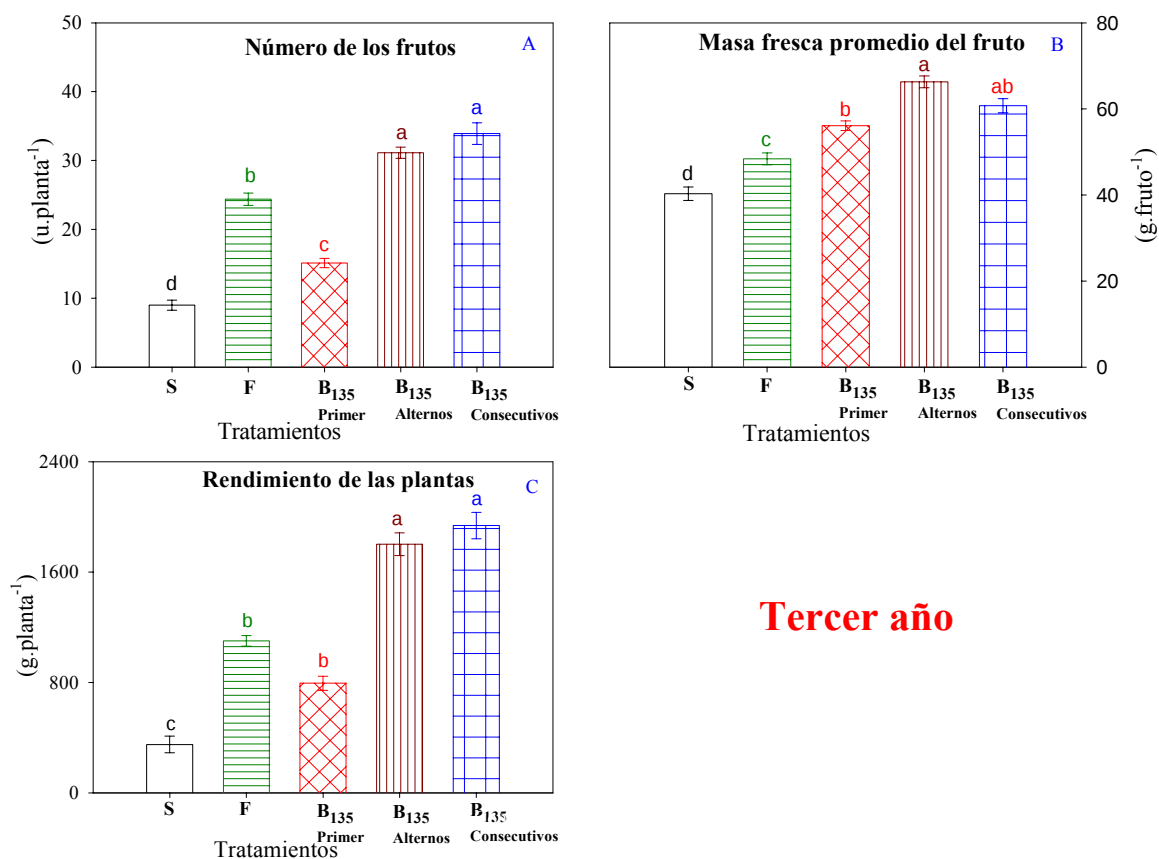


Figura 18. Número de frutos, masa fresca promedio de los frutos y rendimiento en plantas de tomate desarrolladas en un suelo Ferralítico Rojo, tratado con biosólidos. **S**, suelo natural; **F**, suelo tratado con fertilizante mineral; **B₁₃₅ Anterior**, biosólidos aplicado el primer año de experimentación y **B₁₃₅ Consecutivos**, biosólidos aplicados dos años consecutivos. **I**, error estándar. Segundo año.

Cuando se analizó el número de frutos y el rendimiento por plantas, se observó que las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos el año anterior superaron las magnitudes encontradas en las plantas desarrolladas en el suelo natural y no difirió significativamente de las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral, aunque numéricamente tendió al incremento. En el caso de la masa fresca promedio de los frutos, las plantas desarrolladas en este sustrato las plantas cultivadas en el suelo donde se aplicó biosólidos el año anterior



superó a los valores alcanzados por las plantas desarrolladas en el suelo natural y las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral. En el tercer y último año de experimentación (**Figura 19**), se apreció que de forma general cuando se aplicó biosólidos dos años alternos y tres consecutivos se lograron los mayores valores de las variables estudiadas e incluso superó a los de las plantas del suelo tratado con fertilizante mineral.



Tercer año

Figura 19. Número de frutos, masa fresca promedio de los frutos y rendimiento en plantas de tomate desarrolladas en un suelo Ferralítico Rojo, tratado con biosólidos. **S**, suelo natural; **F**, suelo tratado con fertilizante mineral y **B₁₃₅ Primer**, biosólidos aplicado sólo el primer año; **B₁₃₅ Alternos**, biosólidos aplicados en años alternos y **B₁₃₅ Consecutivos**, biosólidos aplicados tres años consecutivos. **I**, error estándar. Tercer año.

Cuando se aplicó biosólidos dos años alternos y tres consecutivos, las plantas cultivadas en estos sustratos lograron valores en el número de



frutos por planta, que superaron a los obtenidos por las plantas desarrolladas en el suelo natural en 73%, a las cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral en 28%, y a las desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos sólo el primer año de la investigación en 55% (**Figura 19 A**).

La masa fresca promedio de los frutos también fue incrementada por la aplicación de biosólidos (**Figura 19 B**), donde se observó que la masa fresca promedio de los frutos de las plantas cultivadas en el suelo donde se aplicó 135 g de biosólidos.kg⁻¹ de suelo en años alternos no difirieron significativamente de las cultivadas en el suelo donde se aplicó 135 g de biosólidos.kg⁻¹ de suelo tres años consecutivos. Las plantas desarrolladas en años alternos superaron en 39% a las cultivadas en el suelo natural (**S**), en 26,95% a las cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral y en 15,06% a las desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos sólo el primer año de experimentación. Se evidencia que la masa fresca de los frutos en las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos sólo el primer año superó significativamente la encontrada en las desarrolladas en el suelo tratado con fertilizante mineral.

En cuanto al rendimiento (**Figura 19 C**), las plantas cultivadas en el suelo donde se aplicó biosólidos dos años alternos y tres consecutivos obtuvieron las mayores magnitudes, no observándose diferencias significativas entre ellos y superaron en 81,9% al rendimiento obtenido por las plantas cultivadas en el suelo natural, en 43,15% a las cultivadas en el suelo tratado con fertilizante mineral y en 59% a las cultivadas en el suelo tratado con biosólidos sólo el primer año de experimentación.

Es válido destacar, el aumento de la masa fresca promedio de los frutos en detrimento de su número en las plantas desarrolladas en el suelo donde se aplicó biosólidos sólo en el primer año de experimentación lo



que provocó que al final del experimento no existieran diferencias estadísticas entre el rendimiento de las plantas desarrolladas en este sustrato y el que se aplicó fertilizante mineral. De esta forma, se evidencia el efecto residual de la aplicación de biosólidos en el rendimiento de las plantas tres años después de su aplicación, con resultados similares a los obtenidos con la fertilización mineral efectuada anualmente. En este sentido, Vaz y Gonçalves (2002) informaron del efecto residual de la aplicación de biosólidos al trabajar con plantas de *Eucaliptos sp.*, este experimento arrojó como resultado que la aplicación de este residuo surtió su mayor efecto en la quinta y sexta cosecha.

De forma general, se pudo observar que el mayor efecto de la aplicación de biosólidos en el rendimiento de las plantas y sus componentes se logra cuando se aplica este residuo orgánico inmediatamente antes de la siembra, tal como se observó en el primer año de experimentación, cuando el suelo fue tratado con biosólidos, en el que se aplicó en años alternos y en el que se aplicó tres años consecutivos. Cuando se aplicó biosólidos sólo en el primer año, su efecto disminuyó paulatinamente con el aumento del tiempo que medió entre su aplicación y las subsiguientes evaluaciones realizadas en los sucesivos años del experimento. Cuando se aplicó biosólidos en años alternos, se observó que en el segundo año donde no se aplicó este residuo disminuyeron las magnitudes de las variables evaluadas, incrementando en el tercer año con la nueva aplicación. En cambio, cuando se aplicó biosólidos por tres años consecutivos su efecto estimulador sobre el rendimiento y sus componentes se mantuvo en un rango que no fue superado por las magnitudes de las plantas desarrolladas en los restantes sustratos.

Este comportamiento, se debe a que los biosólidos tienen a su vez un beneficio adicional al de los fertilizantes minerales, ya que no sólo proporcionan nutrientes para las plantas de forma inmediata (formas inorgánicas), sino que son capaces de liberarlos de forma gradual



(formas orgánicas); en consecuencia, pueden ser aprovechados mejor por las plantas y también por cultivos sucesivos.

La MO oxidable presente en los biosólidos tiene un efecto a más largo plazo sobre las propiedades del suelo, aumenta los reservorios de nutrientes en los mismos, mejorando su balance hídrico y activando la vida microbiana, entre otros beneficios. También contribuyen a mantener el pH uniforme y estable en los suelos (Andreoli y *col.*, 2001). Por otra parte, el interés agrícola de los biosólidos además de los aportes de macronutrientes (**Tabla 8**), viene dado por sus contenidos en micronutrientes (**Tabla 9**). Ferreira (2000), informó que generalmente cuando los biosólidos se aplican en dosis suficientes para suplir las necesidades de N de las plantas, las necesidades de micronutrientes también se suplen (SANEPAR, 1997).

El N es normalmente el componente más valioso de estos residuos, siendo el elemento al cual las plantas experimentan mayor respuesta. Este elemento es usado como factor limitante para la definición de dosis máxima de biosólidos al ser aplicados en los suelos de uso agrícola.

El P también es utilizado para definir las dosis a aplicar en los cultivos agrícolas, la disponibilidad de este elemento en los biosólidos es alta y se considera que el 50% del P presente en estos residuos orgánicos está disponible para las plantas en un año, después de su aplicación en el suelo (SANEPAR, 1997). En tal sentido, Carneiro y Poggiani (2003) encontraron que el P u otros nutrientes presentes en los biosólidos son liberados lentamente, permitiendo que el mismo sea absorbido o aprovechado más eficientemente por las plantas.

Los restantes macronutrientes (Ca, Mg, S, etc.) en los biosólidos se encuentran esencialmente en forma mineral. Aplicaciones modestas de estos materiales orgánicos pueden suplir las necesidades de la mayoría de los vegetales (SANEPAR, 1997).



Sumado al efecto que pueden tener la MO y los elementos nutrientes presentes en los biosólidos, la respuesta del desarrollo y el rendimiento de las plantas está en función de las mejoras que producen su aplicación en las propiedades físicas de los suelos (Akrivos y col., 2000; Dimas y col., 2001; Foley y Cooperband, 2002; Peruca y col., 2004; Silva y col., 2004), a la vez que se ven incrementadas las poblaciones microbianas encargadas de la degradación de la MO y de los ciclos biogeoquímicos (**Tabla 18**), efecto que también fue evidenciado por Quereshi y col., (2004) y Sánchez y col., (2004).

Por lo planteado con anterioridad, es que se pudo evidenciar el marcado efecto de la aplicación de biosólidos en el rendimiento de las plantas y máxime si se conoce que el tomate es exigente en niveles de nutrientes, debido al gran volumen de frutos que produce el cultivo por unidad de superficie (Hernández y Chailloux, 2001).

Investigaciones realizadas en otros cultivos apuntan hacia el efecto beneficioso de la aplicación de biosólidos en el rendimiento de las plantas. Tal es el caso de Quintero y col. (1998), quienes informaron el aumento del rendimiento de plantas de cebada y maíz, y Barbarick y col., (2003) e Ippólito y col., (2003), en el trigo cuando el suelo fue tratado con estos residuos.

Los resultados obtenidos en el rendimiento de las plantas y sus componentes demuestran que una producción de frutos con una práctica alternativa de fertilización (con el uso de MO) es posible, debido a la alta concentración de N y elementos esenciales normalmente presentes en la misma, tal como han informado Atiyeh y col. (2000) y Ferreira y col. (2003).



4.4.5 Efecto de la aplicación de biosólidos con diferentes frecuencias en la acidez, el contenido de sólidos solubles totales (Brix) y el porcentaje de masa seca de los frutos de tomate.

La aplicación de biosólidos no tuvo un marcado efecto en la calidad de los frutos de tomate, sólo se observaron ligeras diferencias en el contenido de sólidos solubles totales (Brix) en el primer año (**Tabla 19**) y en éste y la acidez, en el segundo año (**Tabla 20**), mientras que en el tercer año de experimentación, los tratamientos estudiados no mostraron diferencias significativas entre sí, en ningunas de las variables (**Tabla 21**). Estos resultados son muy importantes, pues al no alterarse drásticamente la calidad de los frutos, se puede prescindir de la fertilización mineral y utilizar los biosólidos como una alternativa agroecológica para aumentar la producción de tomate sin afectar su calidad, máxime si se consideran las exigencias actuales y la preferencia de la comunidad internacional por consumir productos ecológicos, tal como ha indicado García-Roche (1996), citado por Terry (2005) al estudiar diferentes alternativas nutricionales en este cultivo.

Por otra parte, los valores de sólidos solubles totales encontrados en todos los tratamientos (4,34-5,86), se encuentran en el rango óptimo para el cultivo (por encima del 4%), indicado por Baugarther y col. (1998) y Terry (2005), así como la acidez, aunque disminuyó ligeramente en el último año (0,27-0,35).



Tabla 19: Calidad de los frutos de plantas de tomate desarrolladas en un suelo tratado con diferentes frecuencias de aplicación de biosólidos. Primer año.

Indicadores		Tratamientos		
		S	F	B ₁₃₅
Acidez	%	0,62 ± 0,02 ns	0,56 ± 0,02 ns	0,61 ± 0,01 ns
Brix		5,39 ± 0,02 a	4,58 ± 0,01 b	5,01 ± 0,07 a
Masa seca de los frutos		4,61 ± 0,17 ns	4,47 ± 0,10 ns	4,80 ± 0,06 ns

Valor medio del indicador ± error estándar. S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₁₃₅, aplicación de 135 g biosólidos.kg⁻¹ de suelo. Año 1.

Tabla 20: Calidad de los frutos de plantas de tomate desarrolladas en un suelo tratado con diferentes frecuencias de aplicaciones de biosólidos. Segundo año.

Indicadores		Tratamientos			
		S	F	B ₁₃₅ Anterior	B ₁₃₅ Consecutivos
Acidez	%	0,77±0,02 a	0,74±0,04 a	0,63±0,02 b	0,65±0,01 b
Brix		5,39±0,01 bc	5,88 ±0,02 a	5,20±0,05 c	5,67±0,12 ab
Masa seca de los frutos		7,06±0,01 ns	7,13 ±0,01 ns	7,21± 0,13 ns	6,60±0,22 ns

Valor medio del indicador ± error estándar. S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₁₃₅ Anterior, biosólido aplicado el año anterior; B₁₃₅ Consecutivos, biosólidos aplicados dos años consecutivos.

Tabla 21: Calidad de los frutos de plantas de tomate desarrolladas en un suelo tratado con diferentes frecuencias de aplicaciones de biosólidos. Tercer año.

Indicadores		Tratamientos				
		S	F	B 135 Primer	B ₁₃₅ Alternos	B ₁₃₅ Consecutivos
Acidez	%	0,27±0,0 ns	0,32±0,01 ns	0,35±0,02 ns	0,33±0,03 ns	0,28±0,05 ns
Brix		4,34±0,0 ns	4,54±0,0 ns	4,54±0,0 ns	4,54±0,0 ns	4,34±0,12 ns
Masa seca en frutos		5,7±0,0 ns	5,48±0,0 ns	5,62±0,13 ns	5,55±0,11 ns	5,61±0,22 ns

Valor medio del indicador ± error estándar. S, suelo natural; F, suelo tratado con fertilizante mineral y B₁₃₅ Primer, biosólidos aplicado sólo el primer año; B₁₃₅ Alternos, biosólidos aplicados en años alternos y B₁₃₅ Consecutivos, biosólidos aplicados tres años consecutivos.

4.5 Consideraciones finales del documento de tesis.

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo se evidencia que el uso agrícola de los biosólidos tiene gran importancia desde el punto de vista económico, agronómico y ambiental.

Desde el punto de vista económico:

- Se aprovecha un residuo en la agricultura cubana que hasta el momento no tiene definido cual es su destino más adecuado.



- Con la aplicación de biosólidos, se ahorran inversiones en moneda libremente convertible, al poder sustituir parcial o totalmente la adición de fertilizante mineral, los cuales casi siempre son de importación o formulados a partir de portadores importados.
- Con la adición de este material orgánico en el suelo Ferralítico Rojo compactado eútrico, se incrementan los rendimientos del tomate por encima de los obtenidos con la adición de fertilización mineral.
- El uso agrícola de los biosólidos, incrementa la fertilidad de los suelos y mejora las propiedades físicas, físico-químicas y microbiológicas de los mismos, sobre todo su contenido de MO. Todos estos aspectos son de incalculable valor económico.
- La principal limitante desde el punto de vista económico de la aplicación de biosólidos en grandes extensiones de terreno, es la misma que afecta a la aplicación de cualquier material orgánico al suelo, donde se incurre en gastos muy elevados por concepto de transportación, dado los grandes volúmenes que se deben aplicar para satisfacer las demandas de nutrientes de las plantas de cultivo. Por esta razón, el empleo de biosólidos debe quedar limitado a áreas de producción agrícolas cercanas a la EDARs y donde los volúmenes de aplicación no sean tan elevados, como es el caso, de las instalaciones de la agricultura urbana.

Desde el punto de vista agronómico:

Mediante la aplicación de biosólidos, el suelo y las plantas reciben un sinnúmero de beneficios, que se traducen en un mayor desarrollo vegetativo y rendimiento de las plantas. Estos residuos, una vez estabilizados y acondicionados y tras su utilización en sistemas agrícolas, la MO presente en los mismos contribuye a mejorar las propiedades físicas de los suelos y su capacidad de retención de humedad, a la vez, que favorecen las relaciones hídricas de las plantas en condiciones de escaso suministro hídrico al suelo.



Esta opción para la evacuación de los biosólidos perfecciona la práctica más ancestral del hombre, donde todos los residuos que él generaba, rápidamente se convertían en abono y alimento para gran número de organismos, une la ciudad con el campo y nuestros desagües con los suelos agrícolas. De este modo, se ha conseguido que estos desechos orgánicos vuelvan a reutilizarse en el ciclo natural de la materia, evitando otros destinos mucho menos armoniosos con el medio ambiente, como pueden ser el depósito en vertederos controlados, el vertimiento a los océanos y la incineración. La aplicación de este material es capaz de retornar al suelo una parte de los nutrientes exportados a las ciudades en forma de productos agrícolas.

Desde el punto de vista ambiental:

El uso de los biosólidos procedentes de la EDAR “Quibú” en la agricultura es una alternativa adecuada, por ser estos residuos además de una fuente potencial de MO fácilmente degradable, un reservorio de nutrientes esenciales para las plantas y no representa riesgos de fitotoxicidad por niveles excesivos de MP en los suelos, por lo que es una práctica ambientalmente recomendable durante un periodo de tres años de aplicación, ya que reduce el poder de contaminación que representa una disposición inadecuada de estos residuos en el suelo, la atmósfera y las corrientes de aguas subterráneas y superficiales. La aplicación de estos residuos orgánicos en los suelos Ferralíticos Rojo eútrico influye favorablemente sobre su capacidad de retención de humedad, aspecto muy importante debido a los cambios globales con efectos negativos sobre el ecosistema que se están observando en el clima nacional y mundial, los cuales han provocados intensos períodos de sequía.



5. CONCLUSIONES

1. Los biosólidos generados en la Estación Depuradora de Aguas Residuales “Quibú”, presentan características químicas y microbiológicas comparables con los abonos orgánicos más utilizados en la agricultura y sus niveles de metales pesados y microorganismos patógenos están por debajo de los límites máximos permisibles establecidos por las leyes de varios países, por lo que pueden ser considerados aptos para ser aplicados en terrenos de uso agrícola.
2. La disposición de biosólidos al suelo aumenta su contenido de materia orgánica, fósforo asimilable y calcio cambiante, aspecto que se refleja positivamente en el desarrollo vegetativo y el rendimiento de las plantas, los que son superiores a los obtenidos con la aplicación de fertilizante mineral, por lo que se puede prescindir parcial o totalmente de éste.
3. La aplicación de biosólidos en condiciones de buen abastecimiento hídrico no tiene marcada influencia en las relaciones hídricas de las plantas; sin embargo, cuando el suministro hídrico es limitado las favorece, al igual que la conservación de la humedad de los sustratos.
4. La aplicación reiterada de biosólidos con dosis de hasta 135 g.kg^{-1} de suelo, incrementa los contenidos de Cu, Ni y Zn hasta niveles inferiores a los límites considerados como máximos permisibles en estos tipos de suelos, no altera los contenidos de Co, Cr y Pb y disminuye las concentraciones de Fe y Mn.
5. A pesar de las concentraciones de metales pesados relativamente elevadas en los sustratos, las plantas de tomate absorben cantidades relativamente pequeñas e inferiores a las



concentraciones consideradas como críticas por exceso, las cuales se acumulan mayoritariamente en los órganos vegetativos.

6. La aplicación de biosólidos durante tres años consecutivos influye positivamente en las poblaciones de microorganismos encargadas de la degradación de la materia orgánica y los ciclos de los nutrientes en los sustratos; mientras que, la población de microorganismos patógenos fue mínima y en algunos casos nula.
7. La adición de biosólidos al suelo no sólo mejora sus propiedades químicas a corto plazo, sino que su efecto se prolonga por más de un año, aspecto que se refleja positivamente en el rendimiento de las plantas y no altera significativamente la calidad de los frutos.



6. RECOMENDACIONES

Se recomienda:

1. Utilizar los biosólidos, por un período máximo de hasta tres años consecutivos, como abono organo-mineral para el cultivo del tomate en la Agricultura Urbana, ya que los aportes de materia orgánica y elementos esenciales presente en los mismos condicionan un sustrato con características adecuadas par el incremento del desarrollo vegetativo y el rendimiento de las plantas.
2. Utilizar los biosólidos como una alternativa para el desarrollo de las plantas en condiciones limitadas de suministro hídrico, ya que los mismos influyen positivamente en la capacidad de retención de agua de los sustratos y en las relaciones hídricas de las plantas.
3. Proporcionar estudios de capacitación sobre el uso de los biosólidos a los pobladores dedicados a la actividad agrícola en las zonas aledañas a la Estación Depuradora de Aguas Residuales.
4. Continuar los estudios encaminados a determinar la dosis óptima de biosólidos y con que frecuencia se deben aplicar al suelo, sin que causen riesgos ambientales que atenten contra la calidad de las producciones agrícolas.
5. Evaluar el efecto de la aplicación de biosólidos en diferentes tipos de suelos y con diferentes especies de cultivos.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abuzio, A.; Nardi, S.; Guilli, A. Plant growth regulator activity of small molecular size humic fractions. *The Science of the Total Environment*, 1989, vol. 81-82, p. 671-674.
2. Ackerson, R. C.; Krieg, D. R.; Sung, J. M. Leaf conductance and osmoregulation of field grown sorghum genotypes. *Crop. Sci.*, 1980, vol. 20, p.10-14.
3. Aggelides, S. M.; Londra, P. A. Effects of compost produced from town wastes and sewage sludge on the physical properties of a loamy and clay soil. *Bioresource Technolog.*, 2000, vol. 71, p.253 - 259.
4. Akrivos, J.; Mamais, D.; Katsara, K.; Andreadakis, A. Agricultural utilisation of lime treated sewage sludge. *Water Science & Technology*, 2000, vol. 42, no. 9, p. 203 - 210.
5. Al-Jaloud, A. Effect of sewage sludge on germination, growth and biomass yield of Sorghum in calcareous soil. *Journal of Biological Science*, 1999, vol. 2, no. 2, p. 494 - 497.
6. Almora, M.; Alpízar, A. Implantación de nueva técnica analítica para la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en la EDAR Quibú, [Proyecto de grado], I. P. Q. "Mártires de Girón", 2002. 61 p.
7. Alves, A. C.; Setter, T. L. Response of cassava to water deficit. Leaf area and abscisic acid. *Crop Sci.*, 2000, vol. 40, no. 1, p. 131 - 137.
8. Andrade, Ma. L.; Quintero, M.; Reyzaabal, M. L.; Estévez, J. Composición de materia orgánica y determinación de metales en biosólidos para su uso potencial como enmendantes de suelo. *Revista Información Tecnológica*, 1999, vol. 10, no. 6, p. 79-88.
9. Andrade, C. A.; Mattiazzi, M. E. Nitratos e metais pesados no solo e nas árvores após aplicao de biosólido (lodo de esgoto) em plantacoes florestais de *Eucalyptus grandis*. *Scientia Forestalis*, 2000, no. 58, p. 59 - 72.
10. Andrade, Ma. L.; Marcet, P.; Reysal, Ma. L.; Montero, M. J. Contenidos, evolución de nutrientes y productividad en un suelo tratado con lodos residuales urbanos. *Edafología*, 2000, vol. 7, no. 3, p. 21 - 29.
11. Andrade, C. A. De. Fração orgânica de biossólidos e efeito no estoque de carbono e qualidade da matéria orgânica de um Latossolo cultivado com eucalipto. [Tesis de Grado], Universidade de Sao Paulo. 2004. 135 p.
12. Andreoli, C. V.; Pegorini, E. S.; Fernández, F. Disposicao do lodo no solo. In Von Sperling, M.; Andreoli, C. V.; Fernandes, F. (Ed.) Lodo de esgotos: Tratamento e desposicao final, Belo Horizonte: DESA-UFGM, 2001, p. 319 - 397. (Principios do tratamento biológico de agua residuárias, vol. 6)
13. Anjos, A. R. M.; Mattiazzi, M. E. Extratores para Cd, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn em latossolos tratados com biossólido e cultivado com milho. *Scientia Agrícola, Piracicaba*, 2001, vol. 58, no. 2, p. 337 - 344.
14. AOAC. Association of Official Agricultural Chemist. Official Methods of Analysis (Cunniff, Ed.) 16 ed. VI II, Gaithersburg, Maryland. 1997
15. Aparecida, M.; Castro, J. de. Extração e fitodisponibilidade de metais em resposta à adição de lodo de esgoto no solo. *Scientia Agrícola*, 2002, vol. 59, no.3, p.555 - 563.

16. Atiyeh, R. M.; Aracon, N.; Edwards, C. A.; Metzger, J. D. Influence of earthworm-processed pig manure on the growth and yield of greenhouse tomatoes. *Bioresource Technology*, 2000, vol. 75, no. 3, p.175 - 180.
17. Atlas, R. M. "Handbook of Microbiological Media". Boca de Ratón. CRC Press., 1993: 1079 p.
18. Awad, F.; Kahl, L.; Kluge, R.; Abadia, J. Environmental aspects of sewage sludge and evaluation of super absorbent hydrogel under Egyptian conditions. In: Iron Nutrition in Soil and Plants. *Proceedings of the Seventh International Symposium, Zaragoza*, 1995, p. 53 - 62.
19. Azcón-Bieto, J.; Talón, M. Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2da reimpresión España: Ed Univ. Barcelona, 2001, 515 p.
20. Azevedo, C. De.; Rocha, A.; Lima, M. R. De.; Pohlman, M. Efeito residual do lodo de esgoto alcalinizado em atributos químicos e granulométricos de um cambissolo húmico. *Scientia Agraria*, 2001, vol. 2, no. 1-2, p. 87 - 91.
21. Bader, J. L.; Gonzalez, G.; Goodell, P. C.; Ali, A. S.; Pillai, S. D. Aerobic reduction of hexavalent chromium in soil by indigenous microorganisms, *Bioremed. J.*, 1999, vol. 3, no. 3, p. 201 - 211.
22. Barbarick, K. A.; Ippolito, J. A.; Westfall, D. G. Extractable trace elements in soil profile after years of biosolids application. *J. Environ. Qual.*, 1998, vol. 27, p. 801 - 805.
23. Barbarick, K. A.; Ippolito, J. A. Termination of sewage biosolids application affects wheat yield and other agronomic characteristics. *Agronomy Journal*, 2003, vol. 95, no. 5, p. 1288 - 1294.
24. Barbosa, G. M. C.; Tavares Filho, J.; Fonseca, I. C. B. Avaliações das propriedades físicas em Latossolo Vermelho eutrófico tratado com lodo de esgoto por dois anos consecutivos. *Sanare*, 2002, vol. 17, p. 94 - 101.
25. Barreto, E. Diversidade metabólica em solo tratado com biosólidos. [Tesis de Grado]. Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz". Universidade de Sao Paulo, 2001, 165 p.
26. Barroso, L.; Jerez, E. Comportamiento de las relaciones hídricas en albahaca blanca (*Ocimum basilicum*, L.) al ser irrigada con diferentes volúmenes de agua. *Cultivos Tropicales*, 2000, vol. 21, no. 3. p. 57 - 59.
27. Barroso, L.; Jerez, E. Fenología de la albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L.) cultivada en diferentes fechas de siembra. *Cultivos Tropicales*, 2002, vol. 23, no. 2, p. 43 - 46.
28. Barrs, H. D.; Weatherley, P. E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Science*, 1962, no. 15, p. 413 - 428.
29. Baugartner, J. G./ y col./. Nutricao mineral de hortaliças. 2da ed. Sao Paulo. Fundacao Cargill, 1998, 132 p.
30. Beadle, C. L. Growth analysis. In: Photosynthesis and production in a Changing Environment (Hall, D. O.; Scurtock, J. M. O.; Bolhar-Nordenstam, H. R.; Leegood, R. C. and Long, S. P. eds). London. Chapman and Hall, 1993, p. 36 - 45.

31. Beltrán, E. M.; Miralles, R.; Porcel, M. A.; Delgado M. M.; Beringola, J. V.; M. Biegeriego. Effect of sewage sludge compost application on ammonium-nitrogen and nitrate-nitrogen contents of an olive grove soil. In: *Proceedings 12th International Soil Conservation. Organization Conference*. Pekín. Tsinghua University Press. 2002, vol. III, p. 395 - 402.
32. Benítez, E.; Romero, E.; Gallardo-lara, F.; Nogales, R. Asimilabilidad de metales pesados en un suelo enmendado con diferentes biosólidos residuales urbanos. *Edafología*, 2000, vol. 7, no. 2, p. 157 - 164.
33. Beutler, A. N.; Centurion, J. F.; Souza, Z. M.; Andrioli, I.; Roque, C. G. Retenção de água em dois tipos de Latossolos sob diferentes usos. *R. Bras. Ci. Solo*, 2002, vol. 26, p. 829 - 834.
34. Binder, D. L.; Dobberman, A.; Sander, D.H.; Cassman, K. G. Biosolids as nitrogen source for irrigated maize and rainfed sorghum. *Soil Sci. Soc. Am. J*, 2002, vol. 66, p. 531 - 543.
35. Bissuel, C.; Cowan, A. A.; Marshall, A. C.; Wery, J. Reproductive Development of White Clover (*Trifolium repens* L.) is Not Impaired by a Moderate Water Deficit That Reduces Vegetative Growth. II. Fertilization Efficiency and Seed Set. II. Fertilization Efficiency and Seed Set. *Crop Science*, 2002a, vol. 42, p. 414 - 422.
36. Bissuel, C.; Cowan, A. A.; Marshall, A. C.; Wery, J. Reproductive Development of White Clover (*Trifolium repens* L.) is Not Impaired by a Moderate Water Deficit That Reduces Vegetative Growth. I. Inflorescence, Floret, and Ovule Production. *Crop Science*, 2002b, vol. 42, no. 2, p. 406 - 414.
37. Blondel, A. M.; Blanc, D. Mise au point d'une méthode de mesure in vivo de l'activité de la nitrate reductase. *Ann. Agron*, 1975, vol. 26, p. 309 - 322.
38. BOA (Boletín Oficial de Aragón). Decreto 77/1997, de 27 de mayo, del gobierno de Aragón, por el que se aprueba el código de buenas prácticas agrarias de la comunidad autónoma de Aragón y se designan determinadas áreas zonas vulnerables a la contaminación de las aguas por los nitratos procedentes de fuentes agrarias, 1997, 321 p.
39. BOC (Boletín Oficial de Canarias). Orden de 11 de febrero de 2000, de la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, por la que se aprueba el Código de Buenas Prácticas Agrarias de la Comunidad Autónoma de Canarias, 2000, 296 p.
40. BOE (Boletín Oficial de Estado). Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la Utilización de los Lodos de Depuración en el Sector Agrario. Mº De Agricultura, Pesca y Alimentación, 1990, 262 p.
41. Boeira, R. C.; Vieira, M. A.; Dynia, J. F. Mineralização de nitrogênio em solo tropical tratado com lodos de esgoto. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, 2002, vol. 37, no. 11, p. 1639 - 1647.
42. Bontoux, L.; Vega, M.; Papameletiou, D. Tratamiento de las aguas residuales urbanas en Europa: el problema de los lodos. [Consultado 12-3-2003]. Disponible en: <<http://www.jrc.es/ipsreport/vol23/spanish/env25236.htm>>

43. Brofas, G. P.; Alifragis, D. Sewage sludge as an amendment for calcareous bauxite mine spoils reclamation. *J. Environ. Qual.*, 2000, vol. 29, p. 811 - 816.
44. Burns, R. G. Enzyme activity in soil. Some theoretical and practical considerations. En: R. G. Burns (Ed) *Soil enzymes*. New York. Academic Press. Inc. 1978, 346 p.
45. Calvo, R.; Walter, I.. Emergencia de seis cultivos tratados con lodo, fresco y compostado, de estaciones depuradoras. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 2002, vol. 18, no. 3, p. 139 - 146.
46. Camacho, S.; Ríos, D. Factores de calidad de algunas frutas cultivadas en Colombia. *Revista Publicación Científica del Instituto Colombiano Agropecuario*, 1972, vol. 7, no. 1, 32 p.
47. Campbell, G. S. Steady state diffusion porometers. En: *Measurement of stomatal aperture and diffusive resistance*. Bull. Coll. Agr. Res. Center, Washington State Univ., Pullman, Washington. 1975, no. 809, p. 20 - 23.
48. Carneiro, M.; Poggiani, F. Variação dos teores de nutrientes foliares em eucalipto fertilizado com biossólido. *Scientia Forestalis*, 2003, no. 63, p. 188 - 201.
49. Carvalho, F.; Mattiazzi, M. E. Metais pesados em Latossolo tratado com de esgoto e em planta de cana-de-acucar. *Scientia Agrícola*, 2001, vol. 58, no. 3, p. 581 - 593.
50. Cervantes, C.; Moreno R. Contaminación ambiental por metales pesados: Impacto en los seres vivos. AGT Editor S. A. México, 1999, 157 p.
51. Cesário, S. M. Principais contaminantes do lodo. In: Von Sperling, M.; Andreoli, C. V.; Fernandes, F. (Ed.) *Lodo de esgotos: Tratamento e desposicao final*, Belo Horizonte. Principios do tratamento biológico de agua residuárias: DESA-UFGM, 2001, vol. 6, p. 69 - 121.
52. Chaves, M. M.; Pereira, J. S.; Maroco, J.; Rodríguez, M. L.; Ricardo, C. P. P.; Osorio, M. L.; Carvalho, I.; Faria, T.; Pinheiro, C. How Plant cope with Water Stress in the field? Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany*, 2002, vol. 69, no. 7, p. 907 - 916.
53. Chicón, L. Especiación de metales pesados en lodos de aguas residuales de origen urbano y aplicación de lodos digeridos como mejoradores de suelos. Trabajo de investigación del Programa de Doctorado en *Ingeniería Ambiental* de la Universidad de Málaga. 2000. [Consultado 02/06/2005]. Disponible en: <http://usuarios.lycos.es/ambiental/lodos.html>
54. Cogger, C. G.; Bary, A. I.; Fransen, S. C.; Sullivan, D. M. Seven years of biosolids versus inorganic nitrogen applications to tall fescue. *J. Environ. Qual.*, 2001, vol. 30, p. 2188 - 2194.
55. Colombia, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Exploración de Mercados: Tomate fresco. En: *Observatorio Agracadenas Colombia*. [Consultado 27/08/03]. Disponible en: http://www.agrocadenas.gov.co/inteligencia/int_tomate.htm.
56. Connor'd, J.; Legge, N. J.; Turner, N. C. Water relations of mountain ash (*Eucalyptus regnans* F. Muell) forest. *Aust. J. Plant. Physiol.*, 1977,

- vol. 4, p. 753 - 762.
- 57.Cornic, C.; Fresneau, C. Photosynthetic Carbon Reduction and Carbon Oxidation Cycles are the Main Electron Sinks for Photosystem II Activity during a mild drought. *Annals of Botany*, 2002, vol. 89, p. 887 - 894.
 - 58.Cuartero, J. Tomate para consumo fresco. Madrid: Ed. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas, Mundi prensa, 2001, 431 p.
 - 59.Cuba. MINAGRI. Instituto de Suelos: Génesis y Clasificación de los Suelos de Cuba (texto explicativo del Mapa Genético de los Suelos de Cuba, escala 1: 250 000). Academia de Ciencias de Cuba, La Habana, 1973, 315 p.
 - 60.Cuba. MINAGRI. Carta Tecnológica del cultivo del tomate. 1990.
 - 61.Cuba. MINAGRI. Instituto de Suelos. Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. Hernández y col. La Habana. AGRINFOR, 1999, 64 p.
 - 62.Cuba. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Efecto de estrés abiótico asociado a los cambios globales en la biología de dos especies de importancia económica. Torres y col. Informe final de proyecto, INCA, 2001, 147 p.
 - 63.Cuevas, F. Evaluación agronómica de la nutrición mineral con NPK y la aplicación de biopreparados en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en un suelo Hidromórfico Gley Nodular ferruginoso. [Tesis de Maestría], 1998, 59 p.
 - 64.Cuevas, G.; Martinez, F.; Walter, I. Field-Grown maize (*Zea mayz* L.) with composted sewage sludge. Effect on soil and grain quality. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2003, vol. 1, no. 3, p. 1 - 9.
 - 65.Cuevas, G.; Walter, I. Metales pesados en maíz (*Zea mayz* L) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 2004, vol. 20, no. 2, p. 59 - 68.
 - 66.Cunningham, S. D.; Ow, D. W. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*, Rockville, 1996, vol. 110, p. 715-719.
 - 67.Darren, L. B.; Dobermann, A.; Sander, D. H.; Cassman, K. G. Biosolids as Nitrogen Source for Irrigated Maize and Rainfed Sorghum. *Soil Science Society of America Journal*, 2002, no. 66, p. 531-543.
 - 68.Delgado, M. M.; Porcel, M. A.; Miralles de Imperial R.; Bellido N.; Bigeriego M.; Beltrán E.; Calvo R. Mineralización del N procedente de residuos orgánicos. *Rev. Contam. Ambient.*, 1999, vol. 15, no. 1, p. 19 - 25.
 - 69.Delgado, M.; Porcel, M. A.; Miralles, R., Beltrán, E.; García, J.; Bellido, N.; Bigeriego, M. Empleo de compost de depuradora como fertilizante en el cultivo de Maíz. *Vida Rural*, 2000, vol. 109, p. 24 - 26.
 - 70.Delgado, M. M.; Porcel, M. A.; Miralles, R.; Beltrán E. M.; Beringola, L.; Martín, J. V. Sewage sludge compost fertilizer effect on Maize yield and soil heavy metal concentration. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 2002a, vol. 18, no. 3, p. 147 - 150.
 - 71.Delgado, M. M.; Miralles, R.; Porcel, M. A.; Beltrán, E. M.; Beringola, L.; Martín J. V.; Bigeriego, M. Ensayo sobre el efecto como fertilizantes del

- compost de lodo y del RSU, para su empleo en la forestación de tierra agrarias. *Montes*, 2002b, vol. 67, p. 54 - 58.
72. Dell'Amico, J. M. Comportamiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentm* Mill) ante diferentes condiciones de abastecimiento hídrico del suelo. [Tesis de grado]: INCA, 1992. 168 p.
 73. Dimas, J.; Díaz, A.; Martínez, E.; Valdez, R. D. Abonos orgánicos y su efecto en propiedades físicas y químicas del suelo y el rendimiento en maíz. *Terra*, 2001, vol. 19, no. 4, p. 293 - 299.
 74. Douglas, M.; Prescott, C. E.; Preston, C. M. Decomposition and Nitrogen Mineralization from Biosolids and Other Organic Materials: Relationship with Initial Chemistry. *J. Environ. Qual.*, 2001, vol. 30, p.1401-1410.
 75. Dumontet, S.; Scopa, A.; Kerje, S.; Krovacek, K. J. The importance of pathogenic organisms in sewage and sewage sludge. *J. Air Waste Manage Assoc.*, 2001, vol. 51, p. 848 - 860.
 76. Fabiszewski, J.; Brej, T.; Bielecki, K. Plant reactions as indicators of air pollution in the vicinity of a copper smelter. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 1987, vol. 56, no. 2, p. 353 - 363.
 77. FAO. FAOSTAT Database Query, 2005, [Consultado 4/2/2006]. Disponible en: <http://faostat.fao.org/faostat/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&hasbulk=&version=ext&language=ES>.
 78. Ferreira, M. C.; Pessoa da Cruz, M. C, eds. Micronutrientes na agricultura. Piracicaba: Associação Brasileira para pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1991, p. 734.
 79. Ferreira, R.; Carlesso, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 1998, vol. 2, no. 3, p. 287 - 294.
 80. Ferreira, W. Estudo de patógenos e metais em lodo digerido bruto e higienizado para fins agrícolas, das estações de tratamento de esgotos da ilha do governador e da penha no estado do Rio de Janeiro. [Tesis de Maestria]; Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, Brasilisla, 2000, 89 p.
 81. Ferreira, M. M. M.; Ferreira, G. B. Fontes, P. C. R. Produção do tomateiro em função de doses de nitrogênio e da adubação orgânica em duas épocas de cultivo. *Horticultura Brasileira*, 2003, vol. 21, no. 3, p. 468 - 473.
 82. Fiscus, E. L.; Kaufman, M. R. The nature and movement of water in plants. En: *Irrigation of Agricultural Crops* (Stewart, B. A.; Nielsen, D. R., eds.), *Agronomy Monograph*, 1990, n. 30, p. 191 - 245.
 83. Fjällborg, G.; Nilsson A. E.; Dave, G. Identification of metal toxicity in sewage sludge leachate. *Environment International*, 2005, vol. 31, no. 1, p. 25 - 31.
 84. Flexas, J.; Medrano, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plant: Stomatal and Non-stomatal Limitation Revisited. *Annals of Botany*, 2002, vol. 89, p. 183 - 189.

85. Foley, B. J.; Cooperband, L. R. Paper Mill Residuals and Compost Effects on Soil Carbon and Physical Properties. *J. Environ. Qual.*, 2002, vol. 31, p. 2086 - 2095.
86. Galego, R. Evaluación del impacto de la sequía en distintos períodos fenológicos del Albaricoquero. Mecanismos de resistencias. [Tesis de Grado], Centro de Edafología y Biología Aplicada de Segura, CEBAS, 1998, 278 p.
87. Gallardo, F.; Nogales, R. Effects of the application of town refuse compost on the soil-plant system. A review. *Biological Wastes*, 1987, vol. 19, p. 35 - 62.
88. García, J. F.; Amaral, N. M. B. Do.; Belloso, A. C. Contaminação da microbacia de Caetés com metais pesados pelo uso de agroquímicos. *Pesq. Agropec. Bras. Brasília*, 2000, vol. 35, no. 7, p. 1289 - 1303.
89. Gascó, G.; Martínez, M. J.; Alonso, J.; Vicente, M. A.; Lobo, M. C. Utilización agrícola de biosólidos de depuradoras: Aplicación al olivar madrileño. *Boletín Agrario*, 2001, vol. 30, p. 31 - 35.
90. Gavande, S. A.; Taylor, S. A. Influence of soil water potential and atmospheric evaporative demand on transpiration and the energy status of water in plants. *Agron. J.*, 1967, vol. 29, p. 4 -7.
91. Gazete, R. Toprak Kirliliği Kontrol. *Y.netmeliği*, 2001, no. 24609.
92. Gómez, I.; Moral, R.; Navarro, J.; Pedreño, F. García, J. M. Efecto fertilizante NPK de un lodo de depuradora. Prácticas ecológicas para una agricultura de calidad. *I Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica*. Toledo, septiembre de 1994. 5 p.
93. Gómez, O.; Casanova, A.; Laterrot, H.; Anais, G. Mejora genética y manejo del cultivo del tomate para la producción en el caribe. Eds R. C. Alvarezsar y W. Calderón, 2000, 159 p.
94. González, F. J.; Martín, F.; Verdejo T. Influencia del aporte de compost sobre la fracción humica del suelo. En: *II Congreso Nacional Recuperación de Recursos de los Residuos*. Soria, 1986, p. 961 - 972.
95. González, P.; Miralles, R.; Lobo, M. C. Uso de lodos de depuradoras compostados como enmienda orgánica en suelos de olivar. Monografía INIA: Serie Agrícola, Ed. Instituto Nacional de Investigaciones y tecnologías Agraria y Alimentaria del Ministerio de Educación y Ciencia, 2005, no. 18. 120 p.
96. Hale, J. C.; Ormrod, D. P.; Laffey, P. J.; Allen. A. Effects of nickel and copper mixtures on tomato in sand culture. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 1985, vol. 39, no. 1, p. 53 - 69.
97. Harris, M. J.; Outlaw, W. H. Rapid adjustment of guard-cell abscisic acid levels current leaf-water status. *Plant Physiol.*, 1991, vol. 95, p. 171 - 173.
98. Hernández, M. I.; Chailloux, M. La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Temas de Ciencia y Tecnología*, 2001, vol. 15, no. 3, p. 11-27.
99. Hernández, R. Nutrición mineral de las plantas. 2001. En: Libro de Botánica [on line.]. [Consultado 26/9/2005]. Disponible en: <<http://www.forest.ula.ve/~rubenhq/nutricionmineral/>>.

100. Hernando, S. Aprovechamiento de residuos sólidos urbanos como fuente de materia orgánica y sus efectos en las propiedades físicas y químicas del suelo. [Tesis de Grado], Universidad Autónoma de Madrid, 1988, 362 p.
101. Hsiao, T. C. Plant resource to water stress, *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 1973, vol. 24, p. 519 - 570.
102. Hsiao, T. C. Measurements of plants water status. En: Irrigation of Agricultural Crops (Stewart, B. A.; Nielsen, D. R., eds). *Agronomy Monograph*, 1990, n. 30, p. 243 - 279.
103. Hsiao, T. C.; Xu, L. K. Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. *Journal of Experimental Botany*, 2000, vol. 51, no. 350, p. 1595 - 1616.
104. Illera, V.; Walter, I.; Souza, P.; Cala, V. Short-term of biosolid and municipal solid waste application on heavy metals distribution in a degraded soil under a semi-arid environmental. *The Science of the Total Environmental*, 2000, vol. 255, p. 29 - 44.
105. Illera, V.; Walter, I.; Cala, V. Niveles de metales pesados en *Thymus zygis* desarrollado en suelos enmendados con residuos orgánicos urbanos. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 2001, vol. 17, no. 4, p. 170 - 186.
106. Ippolito, J. A.; Barbarick, K. A.; Gourd, T. Application of anaerobically Digested biosolids to Dryland Winter Wheat. Colorado State University. *Technical Report*, 2003, 15 p.
107. Jackson, M. L. Análisis químicos de suelos. La Habana: Edición Revolucionaria, 1970, 662 p.
108. Jaimez, E.; Guerra, M.; Alcalde, J.; Pérez, B. García, A.; Campos, M. Diagnostico ambiental de los suelos de la cuenca de Ariguanabo. *Revista Ciencias de la Tierra y el Espacio*, 2003, no. 4, p. 1-10.
109. Jerez, E.; Morales, D. Comportamiento de dos variedades de arroz (*Oryza sativa*, L.) sometidas a estrés hídrico. *Cultivos Tropicales*, 1999, vol. 20, no. 3, p. 33 - 35.
110. Jiang, Y.; Huang, B. Effects of drought or heat stress Alone and in Combination on Kentucky bluegrass. *Crop Sci.*, 2000, vol. 40, no. 5, p. 1358 - 1362.
111. Johannes, S.; Brian, L. M.; Kenneth, J. B.; James, W. J.; Sal, J. L.; Olson, S. M. Nitrogen Stress Effects on Growth and Nitrogen Accumulation by Field-Grown Tomato. *Agronomy Journal*, 2000, no. 92, p. 159-167.
112. Jones, H. G. Physiological aspects of the control of water status in horticultural crops. *HortScience*, 1990, vol. 25, p. 19 - 26.
113. Jones, R. A. Plants and Microclimate. Cambridge. Cambridge Univ. Press. 1992, 62 p.
114. Jordan, M. Adaptaciones de plantas a estres abiotico que les permiten vivir y prosperar en diferentes condiciones ambientales, *Revista Creces*, Julio 2001. 15p.
115. Kanemasu, E. T.; Thurtell, G. W.; Tanner, C. B. Design, calibration and field use of stomatal diffuse porometer. *Plant Physiol.*, 1969, vol. 44, p. 881 - 885.

116. Kanemasu, E. T. The porometer of Kanemasu, Thurtell and Tanneer. En: Measurement of stomatal aperture and diffusive resistance (Kanemasu, E. T., eds). Coll. Agr. Res. Center, Washington State Univ., Pullman, Washington, 1975, Bul. 809, p. 17 - 20.
117. Keller, C.; McGrath, S. P.; Dunham, S. J. Trace metal leaching through a soil-Grassland System after sewage sludge application. *J. Environ. Qual.*, 2002, vol. 31, no. 5, p. 1550 - 1560.
118. Khanna, R.; Rao, P. S. S.; Maheswari, M.; Xiaobing, L.; Shivshankar, K. S. Effect of Water Deficit on Accumulation of Dry Matter, Carbon and Nitrogen in the Kernel of Wheat Genotypes Differing in Yield Stability. *Annals of Botany*, 1994, no. 74, p. 503 - 511.
119. Kirhan, M. B. Thechniques for water-use measurements of crop plants. *HortScience*, 1985, vol. 20, p. 993 - 1001.
120. Kramer, P. J.; Kozlowsky, T. T. Physiology of woody plants. Academic Press, News York. 1979.
121. Kramer, J. P. Water relation of plants./ J. P. Kramer. Londres: Academic Press. 1983. 670 p.
122. Kropisz, A.; Rusell, S. Effect of fertilization of light loamy soil with the Dano compost on microflora as well as on yields and chemical comparation of lettuce and spinach. *Rocz. Navk. Nol. Ser*, 1978, vol. 103, p. 20 - 37.
123. Lawlor, D. W. Limitation to photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany*. 2002a, vol. 89, p. 871 - 885.
124. Lawlor, D. W. Limitation in Water stressed Leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany*, 2002b, no. 2, p. 871-875.
125. Leal, R. Ma.; Molerio, L. Estudio de vulnerabilidad en un sector del municipio San Antonio de los Baños, La Habana. *Revista Ciencias de la Tierra y el Espacio*, 2003, no. 4, 8 p.
126. Leidi, E. O.; Gomez M.; Guardia M. D. De la. Soybean genetic differences in response to Fe and Mn: activity of metalloenzymes. *Plant Soil*, 1987, vol. 99, p. 139-146.
127. López, G. Límites permisibles de Cr, Zn, Cu, Se y As en suelo: Aproximación metodológica. [Trabajo de diploma]. Universidad Autónoma de Chapingo, 2001. 72 p.
128. Lovatt, C. J. Stress. *California Avocado Society Yearbook*, 1987, p. 251 - 255.
129. Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; Rondall, R. J. Protein measurement whith the folin phenol reagent. *J Biological Chemistry*, 1951, no.193, p. 265 - 275.
130. Maclaren, R. G.; Clucas, L. M.; Taylor, M. D.; Hendry, T. Leaching of macronutrients and metals from undisturbed soil treated with metal-spiked sewage sludge. 1. Leaching of macronutrients. *Australian Journal of Soil Research.*, 2003, vol. 41, no. 3, p. 571 - 588.
131. Maestrey, A. Fertilización del tomate cultivado en primavera. [Tesis de Grado]. La Habana, 1986, 100 p.

132. Malavolta, E.; Vitti, G. C.; Oliveira, S. A. De. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios y aplicações. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fósforo, 1989, 201 p.
133. Marciano, C. R.; Moraes, S. O.; Oliveira, F. C.; Mattiazzi, M. E. Efeito do lodo de esgoto e do composto de lixo urbano sobre a condutividade hidráulica de um Latossolo Amarelo saturado e não saturado. *R. Bras. Ci. Solo*, 2001, vol. 25, p. 1 - 9.
134. Maroco, J. P.; Rodríguez, M. L.; Lopes, C.; Chaves, M. M. Limitations to leaf photosynthesis in grapevine under drought-metabolic and modelling approaches. *Functional Plant Physiol.*, 2002, vol. 29, p. 1 - 9.
135. Marques, V.; Magalhães, P. C.; Machado, F. O.; Mota, L. E.; Corsetti, A. A. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. *Ciência rural*, Santa Maria, 2002, vol. 32, no. 1, p. 13 - 17.
136. Marrero, O. Efecto de productos naturales en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. Var. Amalia) crecidas en un medio contaminado con cobre. [Trabajo de diploma]. UNAH, 2005. 44 p.
137. Martín, F.; Valero, J. Agronomía del riego. Madrid. Mundi prensa. 1993. 732 p.
138. Martínez, F.; Cuevas, G.; Calvo, R.; Walter I. Biowaste effects on soil and Native plants in a semiarid ecosystem. *J. Environ. Qual.*, 2003, vol. 32, no. 2, p. 472 - 479.
139. Martínez, E. Metales pesados en lodos residuales generados en una planta de tratamiento de aguas residuales de aguascalientes, ags., [Trabajo de diploma]; Universidad Autónoma Chapingo. Mexico. 2004. 75 p.
140. Martins, A. L. C.; Bataglia, O. C.; Camargo, O. A. Corn yield and uptake of Cu, Fe, Mn and Zn from sewage sludge-amended soil with and without liming. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, 2003, vol. 27, no. 3, p. 563 - 574.
141. Marur, C. J.; Mazzafera, P.; Magalhães, A. C. Actividade da enzima reductase do nitrato em algodoeiro submetido ao déficit hídrico e posterior recuperação da turgescencia. *Sci. Agric*, 2000, vol. 57, no. 2, p. 35 - 43.
142. Mathan, K. K. Studies on the influence of long-term municipal sewage-effluent irrigation on soil physical properties. *Bioresource Technology*, 1994, vol. 48, p. 275 - 276.
143. Mbila, M. O.; Thompson, M. L.; Mbagwu J. S. C.; Laird D. A. Distribution and Movement of Sludge-Derived Trace Metals in Selected Nigerian Soils. *Journal of Environmental Qualit.*, 2001, vol. 30, no. 5, p. 1667 - 1674.
144. Mengel, K.; Kirkby, E. A. Principles of Plant Nutrition. 4th ed. Berna: International Potash Institute. 1987, 96 p.
145. Miralles, R.; Beltrán, E.; Porcel, M. A.; Beringola, M. L.; Martín, J. V.; Calvo, R.; Delgado, M. M. Influencia de tres tipos de biosólidos de estaciones depuradoras en el desarrollo de estaquillas de olivo. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 2002a, vol. 14, no. 4, p. 163 - 169.

146. Miralles, R.; Beltrán, E.; Porcel, M. A.; Delgado, M.; Beringola, M. L.; Valero, J.; Calvo, R.; Walter I. Emergencia de seis cultivos tratados con lodo, fresco y compostado, de estaciones depuradoras. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 2002b, vol. 18, no. 3, p. 139 - 146.
147. Miralles, R.; Beltrán, E.; Porcel, M. A.; Beringola, M. L.; Valero, J.; Calvo, R.; Delgado, M. Disponibilidad de nutrientes por el aporte de tres tipos de lodo de estaciones depuradoras. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 2003, vol. 19, no. 3, p. 127 - 136.
148. Morales, M. A. Aspectos agronómicos y fisiológicos de la respuesta a la salinidad de plantas ornamentales silvestres (*Limonium sp.*, *Lotus creticus* y *Argyranthemum coronopifolium*). [Tesis de Grado] CEBAS, 1999, 189 p.
149. Moreno, A. M. Biosolids conditioning and the availability of Cu and Zn for Rice. *Scientia Agrícola*, 2003, vol. 60, no. 1, p. 161 - 166.
150. Moya, C.; Oliva A.; Alvares, M.; Morales, C.; Florido, M.; Plana. D. Evaluación de nuevos cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en los períodos temprano y óptimo de siembra en el occidente del Cuba. *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 22. no. 3, p. 67-72.
151. Muñiz, O. Informe de salida del proyecto: Contaminación por metales pesados en algunos de los principales agroecosistemas cubanos. Metodología para la determinación de la contaminación por metales pesados en algunos de los principales suelos cubanos. PNCT Producción de alimentos por métodos sostenibles. Proyecto 00200042, 2000, MINAGRI. Instituto de Suelos. Dirección Provincial de Suelos la René – Habana. 10 p.
152. Nanthi, B.; Domy, A.; Senniappan, M.; Afiqu, K. Adsorption, complexation, and phytoavailability of copper as influenced by organic manure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2003, vol. 22, no 2, p. 450 - 456.
153. Nascimento, C. W. A.; Barros, D. A. S.; Melo, E. E. C. Soil chemical alterations and growth of maize and bean plants after sewage sludge application. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, 2004, vol. 28, no. 2, p. 385 - 392.
154. NOM-004-ECOL-2001. Norma Oficial Mexicana, Protección ambiental; lodos y biosólidos; especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. SEMARNAT. Publicado en el Diario Oficial de la Federación el 18 de febrero de 2002.
155. Nyamangara, J.; Mzezewa, J. The effect of long-term sewage sludge application on Zn, Cu, Ni and Pb levels in a clay loam soil under pasture grass in Zimbabwe. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 1999, vol. 73, p. 199 - 204.
156. Oliveira, F. C.; Mattiazzi, M. E.; Marciano, C. R.; Cassio Hamilton Abreu, C. H. Movimentação de metais pesados em Latossolo adubado com composto de lixo urbano. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 2002, vol. 37, no. 12, p. 1787 - 1793.
157. Ortiz, H. L.; Gutiérrez, R. M.; Sánchez, S. E. Propuesta de manejo de los lodos residuales de la planta de tratamiento de la Ciudad

- Industrial del Valle de Cuernavaca, Estado de Morelos, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 1995, vol. 11, no. 2, p. 105 - 115.
158. Paneque, V. M.; Calaña, J. M. Abonos orgánicos. Conceptos prácticos para su evaluación y aplicación. ACTAf, 2004. 54 p.
 159. Paneque, W. A. Producción agroexportadora e (in) seguridad alimentaria: el caso de la soja en Argentina. *Revista de la Red Iberoamericana de economía ecológica*. ISSN 13902776. [Consultado 23/07/2006]. Disponible en: http://www.redibec.org/archivos/revista/revista3_1.htm.
 160. Parra, R. A.; Becerril, A. E.; López, C. Transpiración, resistencia estomática y potenciales hídricos en manzano "Golden delicious" injertado sobre portainjerto clonales. *Terra*, 2002, vol. 20, no. 2, p. 113 - 121.
 161. Pasqualoto, L.; Santos, G.; Rumjanek, V. M.; Morales, A.; Guridi, F. Distribuição da materia orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição residuos de origen urbana. *Pesq. Agrop. Bras. Brasília*, 2001, vol. 36, no. 12, p. 1529 - 1538.
 162. Passos, O. J.; Silva, C. A.; Wagner Bettiol, W.; Guimarães, L. R.; Dynia, J. F. Acúmulo de Cu, Mn, Ni, Pb E Zn em latossolo vermelho adubado com fontes de lodo de esgoto e cultivado com milho. *Ciênc. Agrotec. Lavras*, 2004, vol. 28, no. 1, p. 15 - 23.
 163. Pazos, M. Aislamiento e identificación de cepas nativas, pertenecientes al género *Azospirillum* mediante técnicas moleculares. [Tesis de Maestría]; U. H., 2000, 50 P.
 164. Pedreno, J. N.; Gomez, I.; Moral, R.; Mataix, J. Improving the agricultural value of a semi arid soil by addition of sewage sludge and almond residue. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1996, vol. 58, p. 115 - 119.
 165. Peláez, O. Cruzada ambiental con lombricultura. *Granma*. Órgano Oficial del Comité Central del Partido Comunista de Cuba. 27 de junio de 2003.
 166. Penn, C. J.; Sims, J. T. Phosphorus forms in Biosolids-Amended Soil and losses in Runoff. *J. Environ. Qual.*, 2002, vol. 31, no. 4. p. 1349 - 1361.
 167. Peralta H. Sistemas de fertilización fósforica de la papa en una secuencia de cultivos papa-maíz, en un suelo Ferralítico Rojo compactado. [Tesis de grado]. INCA. 1991. 102 p.
 168. Peruca, V. M.; Beutler, A. N.; Souza, Z. M. De.; Centurión, J. F.; Wanderley, J. M. Atributos físicos de Latossolos adubados durante cinco anos com bio sólido. *Pesq. Agropec. Bras.*, 2004, vol. 39, no. 1, p. 67 - 72.
 169. Perucci, P. Effect of the addition of municipal soild-waste compost on microbial biomass and enzyme activities in soil. *Biology and Fertility of Soils.*, 1990, vol. 10, p. 221 - 226.
 170. Pettigrew, W. T. Physiological consequences of Moisture Deficit Stress in Cotton. *Crop. Sci.*, 2004, vol. 44, p. 1265 - 1272.
 171. Philip, J. R. Plant water relations: Some physical aspects. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1966, vol. 17, p. 245 - 268.

172. Polo, M. J.; Ordóñez, R.; Giráldez, J. V. Caracterización de los fangos de depuradora de la EDAR de Córdoba. Estudio de su aptitud agronómica. *Tecnología del Agua*, 1998, vol. 172, p. 20 - 27.
173. Pomares, F.; Canet, R. Los residuos orgánicos utilizables en la agricultura: origen, composición y características. En: Aplicaciones agrícolas de residuos orgánicos. J. Boixadera y M. Rosa Teira, eds. Lleida. Ediciones de la universitat de Lleida, 2001, 356 p.
174. Primavesi, A. Manejo ecológico del suelo. 5 ed. Buenos Aires: el Ateneo. 2002, 499 p.
175. Prokipcak, B.; Ormrod, D. P. Visible injury and growth responses of tomato and soybean to combinations of nickel, copper and ozone. *Water, Air and Soil Pollution*, 1986, vol. 27, no. 3 - 4, p. 329 - 340.
176. Quereshi, S.; Richards, B. K.; Steenhuis, T. S.; McBride, M. B.; Baveye, P.; Dousset, S. Microbial acidification and pH effects on trace element release from sewage sludge. *Environmental Pollution*, 2004, vol. 132, p. 61 - 71.
177. Quintero, M. P.; Andrade, M. L.; Blas, E. De. Efecto de la adición de un lodo residual sobre las propiedades del suelo: experiencia de campo. *Edafología*, 1998, no. 5, p. 1 - 10.
178. Ramos B. R.; Aguilera, H. N. Contaminación por metales pesados, sales y sodio en suelos de chinampa de Xochimilco, San Luis Tlaxiátemalco, Tlahuac y Mixquic, D. F. La investigación edafológica en México 1992-1995. En: Memoria 26 Congreso Nacional de la Ciencias del Suelo. Cd. Victoria, Tamps. Méx., 1995, 32 p.
179. Ramothokang, T. R.; Drysdale, G. D.; Bux, F. Isolation and cultivation of filamentous bacteria implicated in activated sludge bulking. *Water SA*, 2003, vol. 29, no. 4, p. 405-410
180. Raschke, K.; Zeevart, J. A. D. Abscissic acid content, transpiration and stomatal conductance as related to leaf age in plants of *Xanthium strumarium* L. *Plant. Physiol.*, 1976, vol. 58, p. 169 - 174.
181. Reed, B. E.; Carriere, P. E.; Matsumoto, M. R. Applying sludge on agricultural land. *Biocycle*, 1991, vol. 37, p. 58 - 60.
182. Reynaldo, I.; Pérez, I.; Dell'Amico J. M. Efectos del estrés hídrico en la asimilación del nitrógeno en plantas de tomate cv INCA 9-1. *Cultivos Tropicales*, 2002, vol. 23, no. 2, p. 47-50.
183. Rio, L. A. Del.; Scandalio, L. M.; Yanez, J.; Gomez M. Induction of manganese superoxide dismutase in leaves of *Pissatium* by high nutrient levels of Zn and Mn. *J. Inorg. Biochem.*, 1985, vol. 24, p.25 - 34.
184. Rojas, M. Fisiología vegetal aplicada. Cuarta edición. Nueva editorial interamericana S. A., 1993, 275 p
185. Sánchez, J. Materia Orgánica del suelo. Humus, Origen, Composición y Dinámica. Alicante. Universidad de Alicante. 1999, 108 p.
186. Sánchez, M. A.; Mondini, C.; Nobili, M. De.; Leita, L.; Roig, A. Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter. *Waste Management*, 2004, vol. 24, p. 325 - 332.

187. SANEPAR. Companhia de Saneamento do Paraná: Manual Técnico para Utilização Agrícola do lodo de esgoto no Paraná, 1997. 96 p.
188. Saxe, H. Physiological and biochemical tools in diagnosis of forest decline and air pollution injury to plants. In: Plant responses to air pollution, Yumus, M. and Igbal, M. (eds.), John Wiley and Sons, 1996, 327 p.
189. Schwarzerová, K.; Zlenkova, S.; Nick, P.; Opatrn, Z. Aluminum induced rapid changes in the microtubular cytoskeleton of tobacco cell lines. *Plant Physiol and Cell*, 2002, vol. 43, no. 2, p. 207 - 216.
190. Selivanovskaya, S. Y.; Latypova, V. Z.; Kiyamova, S. N.; Alimova, F. K. Use of microbial parameters to access treatment methods of municipal sewage sludge applied to grey forest soils of Tatarstan. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 2001, vol. 86, p. 145 - 153.
191. Séller, C.; McGrath, S. P.; Dunham, S. J. Trace metal leaching through a soil-Grassland system after sewage sludge application. *J. Environ. Qual.*, 2002, vol. 31, no. 5 p. 1550 - 1560.
192. Shackel, K. The pressure chamber, a. k. a. "The Bomb". Fuit nut research information center. Crop Information, 2001 [Consultado 25/10/2003].
Disponível em:
<<http://www.fruitsandnuts.ucdavis.edu/pressure-chamber.htm>>.
193. Shaffer, B.; Whiley, A. Environmental physiology. In: Whilley, A; Shaffer, B. y Wolstenholme, B. eds. The avocado, botany, production and uses. Wallingford; CABI Publisching, 2002, p. 135-160.
194. Shober, A. L.; Stehouwer, R. C.; Macneal, K. E. On-Farm assessment of biosolids effects on soil and crop tissue quality. *J. Environ. Qual.*, 2003, vol. 32, no. 5, p. 1873 - 1880.
195. Siddique, M.; S. Robinson. Phosphorus sorption and availability in soils amended with animal manures and sewage sludge. *J. Environ. Qual.*, 2003, vol. 32, no. 3, p. 1114 - 1121.
196. Silva, F. C. Da.; Boareto, A. E.; Berton, R.; Bazaglia, H.; Pexe, C. A.; Mendça, E. Efeito de biosólidos de esgoto na fertilidade de um Argissolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-açúcar. *Pesq. Agrop. Bras., Brasília*, 2001, vol. 35, no. 5, p. 831 - 840.
197. Silva J.; Lima E.; Silva, P. S.; Oliveira, M.; Barbosa E.; Silva, K. M. Efeito de esterco bovino sobre os rendimentos de espigas verdes e de gras de milho. *Horticultura Brasileira. Brasilia*. 2004, vol. 22, no. 2, p. 326 - 331.
198. Singh, S.; Sinha, S.; Saxena, R.; Pandey, K. Translocation of metals and its effects in the tomato plants grown on various amendments of tannery waste: evidence for involvement of antioxidants. *Chemosphere*, 2002, vol. 57, no 2, p. 91 - 99.
199. Skousen J.; Clinger, C. Sewage sludge land application program in West Virginia. *Soil and Water*, 2003, vol. 48, no. 2, p. 17 - 22.
200. Slavick, B. Methods of studying plant water relations. Berlin. Spriger-Verlag. Ecological Studies, 1974, vol. 9, 36 p.
201. Sloan, J. J.; Dowdy, R.H.; Dolan M.S.; Linden, D.R. Long-term effects of biosolids applications on heavy metal bioavailability in agricultural soils. *J. Environ. Qual.*, 1997, vol. 26, p. 966 - 974.

202. Soliva, M. Aplicación de lodos resultantes de la depuración de aguas residuales urbanas a la agricultura. IQPC. Forum Internacional sobre: Tratamiento de lodos de depuradora: su minimización, valorización y destino final. Madrid, 2000, 21 p.
203. Steudle, E. Methods for studying water relations of plant cells and tissues. En: Measurements Techniques in Plant Science. Hashimoto, Y., Kramer, P. J. Nonami, H., Strain, B. R. eds. San Diego. Ademic. Press. 1990, p. 113-150.
204. Stoll, M.; Loveys, B.; Dry, P. Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine. *J. Exp. Bot.*, 2000, vol. 51, p. 1627 - 1634.
205. Stone, P. J.; Wilson, D. R.; Reid, J. B.; Gillespie, R. N. Water deficit effects on sweet corn. I. Water use, radiation use efficiency, growth, and yield. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2004, vol. 52, no. 1, p. 103 - 113.
206. Terry, E.; Nuñez, M.; Pino, M. A.; Medina, N. Efectividad de la combinación Biofertilizantes-Análogo de brasinoesteroides en la nutrición del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Cultivos Tropicales*. 2001, vol. 22, no. 2, p. 59-65.
207. Terry, E. Microorganismos benéficos y productos bioactivos como alternativa para la producción ecológica de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), variedad Amalia. [Tesis de Grado]; INCA, 2005, 103 p.
208. Tommaso, G.; Varesche, M. B.; Zaiat, M.; Vazoller, R. F.; Foresti, E. Morphological observation and microbial population dynamics in anaerobic polyurethane foam biofilm degrading gelatin. *Braz. J. Chem.Eng.*, 2002, vol. 19, no. 3, p. 287 - 292.
209. Traore, S. B.; Carlson, R. E.; Pilcher, C. D.; Rice, M. E. Bt and Non-Bt Maize Growth and Development as Affect by temperature and drought stress. *Agronomy Journal*, 2000, vol. 92, no. 5, p. 1027 - 1035.
210. Tsakelidou, K.; Karagiannidis, N.; Bladenopoulou, S. Effects of calcium carbonate and organic matter on soil aluminum, manganese, iron, zinc and cupper and their concentration in corn plants in Greek acid soils. *Agrochimica*, 1999, vol. 43, no. 2, p. 89 - 100.
211. Turner, N. C. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*, 1981, vol. 58, p. 339 - 366.
212. Turner, N. C. Measurement of plant water status by the pressure chamber *Technique. Irrig. Sci.*, 1988, vol. 9, p. 289 - 308.
213. Urriburi, L.; Ferrer, O.; Colina, A. Extracción y precipitación de las proteínas solubles del pastom elefante enano (*Pennisetum Purpureum* Schum CV. Mott). *Rev. FAc. Agron. (Luz)*, 2004. vol. 21, no 3, p. 268 - 279.
214. USEPA (U. S. Environmental Protection Agency). Standards for the use or disposal of sewage sludge. *Fed. Regist.* 1993. vol. 58, p. 9248 - 9415.
215. Utria, E.; Reynaldo, I.; Cabrera, A.; Morúa, A. Respuesta de las relaciones hídricas y el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) a la aplicación de lodos de depuradora en un suelo

- Ferrallítico Rojo sometidos a diferentes condiciones de abastecimiento hídrico. (En: Congreso Científico del INCA (14: 2004, nov 9-12), La Habana) Memorias. CD-ROM. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN 959-7023-27-X
216. Vaz, L. M. S.; Gonçalves, J. L. M. Uso de biossólidos em povoamento de eucalipto: efeito em atributos químicos do solo, no crescimento e na absorção de nutrientes. *R. Bras. C. Solo*, 2002, vol. 26, no. 3, p.747 - 758.
 217. Vega, F. V. A.; Bovi, M. L. A.; Berton, R. S.; Godoy, G.; Embranelli, M. A. R. Aplicação de biossólido na implantação da cultura da pupunheira. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 2004, vol. 22, no.1, p. 131 - 135.
 218. Wagner, M.; Laborem, G.; Medina, G.; Rangel, L. Efecto del patrón y la frecuencia de riego sobre el nivel foliar de prolina en el naranjo "Valencia". *Bioagro*, 1998, vol. 10, no. 3, p. 76 - 79.
 219. Walter, I.; Cuevas, G. Chemical fractionation of heavy metals in a soil attended with repeated sewage sludge application. *Sci. Total Environ*, 1999, vol. 226, p. 113 - 119.
 220. Walter, I.; Martinez, F.; Alonso, L.; De Garcia, J.; Cuevas, G. Extractable soil heavy metals following the cessation of biosolids application in agricultural soil. *Environ. Pollut*, 2002, vol. 117, p. 315 - 321.
 221. Watson, D. S. The physiological basis of variation in yield. *Advances in Agronomy*, 1953, vol. 4, p. 101-145.
 222. Woolhouse, H. G. Toxicity and tolerance in the responses of plants to metal. En: *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, Lange, O. I.; Nobel, P. S.; Osmond, C. B.; Ziegler, H. (eds.), Springer-Verlag, Heidelberg, 1983, vol. 12, p. 245 - 300.
 223. Xiloyannis, C.; Uriu, K.; Martin, G. C. Seasonal and diurnal variations in abscisic acid, water potential, and diffusive resistance in leaves from irrigated and non-irrigated peach trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1980, vol. 105, p. 412 - 415.
 224. Zaharieva, M.; Gaulin, E.; Havaux, M.; Acevedo E.; Monneveux, P. Drought and heat responses in the wild wheat relative *Aegilops geniculata* Roth. *Crop Sci.*, 2001, vol. 41, p. 1321 - 1329.
 225. Zanz, F. M. La gestión de las aguas residuales en los municipios pequeños de la provincia de Castellón. [Consultado 15-5-2002]. Disponible en: http://www.ces-cv-es/ces-cv/www/ukindice_segunda_conferencias_ma/segundas_conferencias_ma.htm_12k.