UNIVERSIDAD VERACRUZANA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

Campus Tuxpan

Maestría en Ciencias del Ambiente

"UTILIZACIÓN DE BIOSÓLIDOS PARA LA GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE *Citrus aurantium*."

TESIS

Que para obtener el título de:
MAESTRA EN CENCIAS DEL AMBIENTE

P R E S E N T A:

Ing. Carolina Trinidad Montero Rosado

Director:
Dra. Sara Aida Alarcón Pulido
Codirector:
Dr. Pablo San Martín del Ángel

Tuxpan, Veracruz 2017

Dr. José Luis Alanís Méndez
Coordinador de la Maestría en Ciencias del Ambiente

Tuxpan de Rodríguez Cano Veracruz, a 1 de Septiembre de 2017

El presente trabajo de intervención titulado: **"Utilización de biosólidos para la germinación y desarrollo de *Citrus aurantium*"**, realizado por la **Ing. Carolina Trinidad Montero Rosado**, bajo la Dirección y consejo particular de la Dra. Sara Aida Alarcón Pulido, ha sido revisada y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS DEL AMBIENTE

Dra. Sara Aida Alarcón Pulido
DIRECTOR

El presente trabajo de intervención titulado: **"Utilización de biosólidos para la germinación y desarrollo de *Citrus aurantium*"**, realizado por la Ing. Carolina Trinidad Montero Rosado, bajo la Dirección del Dra. Sara Aida Alarcón Pulido y asesoría del consejo particular del Dr. Pablo San Martín del Ángel, ha sido revisada y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS DEL AMBIENTE

Dra. Sara Aida Alarcón Pulido
DIRECTOR

Dr. Pablo San Martín del Ángel
CODIRECTOR

Universidad Veracruzana

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS DEL AMBIENTE

Revisión del Trabajo de Intervención de la alumna: **Ing. Carolina Trinidad Montero Rosado**

JURADO EXAMINADOR

NOMBRE	FECHA	DICTAMEN	FIRMA
Ascención Capistran Barradas	4-Septiembre 2017	Aprobada	
Maribel Ortiz Dominguez	5- Sept. 2017	Aprobada	
Rodrigo Cuervo González	5 Sept 2017	Aprobada	

En la presente revisión se acordó que el Trabajo de Intervención denominado "UTILIZACIÓN DE BIOSÓLIDOS PARA LA GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE *Citrus aurantium*." que presenta la sustentante para obtener el grado de Maestra, está terminado por lo que puede proceder a su inmediata impresión.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento de beca otorgado, que hizo realidad mis estudios de maestría.

A la Universidad Veracruzana, por darme la oportunidad de culminar esta importante etapa de mi formación.

Al Colegio de Postgraduado, la Universidad Autónoma de Chapingo y la Universidad de Trent por las facilidades proporcionadas para llevar a cabo con éxito el programa académico y de investigación.

A mí comité particular, por su valiosa conducción y orientación en el presente trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres

Felipe Montero Cuevas y Olivia Rosado Sansores

Por todos los sacrificios que hicieron para formarme como ser humano responsable y comprometida con la vida y conmigo misma, y de quienes aprendí a tener fortaleza en los momentos más difíciles de la vida.

A mis hermanas

Guillermina y Olivia

De quienes siempre he recibido apoyo sincero e incondicional.

A mis sobrinos

Rafael, Micaela e Inés

Quienes con su amor me impulsan a seguir superándome.

INDICE

RESUMEN.....XI

1. INTRODUCCIÓN 1

2. ANTECEDENTES 4

2.1 USO DE BIOSÓLIDOS EN LA AGRICULTURA 4

3.1 OBJETIVO GENERAL 9

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES..... 9

3.OBJETIVOS 9

4. ÁREA DE ESTUDIO..... 10

4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DEL RASTRO MUNICIPAL DE TUXPAN, VER 12

5. MATERIAL Y METODOS..... 15

5.1 FASE DE LABORATORIO 15

5.2 FASE DE CAMPO 17

5.3 DISEÑO EXPERIMENTAL..... 25

5.4 VARIABLES..... 26

5.5 MÉTODO ESTADÍSTICO..... 28

6. RESULTADOS 29

6.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS BIOSÓLIDOS 29

6.2 CARACTERISTICAS DEL SUELO 32

6.3 CARACTERÍSTICAS DE LAS PLANTAS 34

7. DISCUSION..... 61

8. CONCLUSIONES..... 70

8.1. APLICACIÓN PRÁCTICA 71

9. BIBLIOGRAFIA 73

10. ANEXO 82

10.1 APROVECHAMIENTO DE LOS BIOSÓLIDOS 82

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Determinaciones analíticas y metodologías empleadas en la caracterización de suelo y biosólidos (NOM-021-SEMARNAT-2000 Y NOM-004-SEMARNAT-2002)..... 16
Cuadro 2. Relación Biosólidos/Suelo para cada tratamiento..... 17
Cuadro 3 Distribución de bloques al azar para los tratamientos..... 25
Cuadro 4. Composición química de los biosólidos procedentes de la PTAR del rastro municipal de Tuxpan, Ver. 30
Cuadro 5. Concentración de metales pesados en los biosólidos 31
Cuadro 6. Resultados del análisis microbiológico de los biosólidos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales del rastro municipal de Tuxpan, Ver. 31
Cuadro 7. Características químicas del suelo 33
Cuadro 8. Concentración de metales en el suelo..... 33
Cuadro 9. Análisis estadístico: Porcentaje de Germinación 34
Cuadro 10. Resultado del análisis de varianza de la germinación a los 30 días..... 36
Cuadro 11. Resultado del análisis de varianza de la germinación a los 60 días..... 37
Cuadro 12. Resultado del análisis de varianza de la germinación entre tratamientos a los 90 días..... 38
Cuadro 13. Resultado del Análisis de Varianza para la altura de las plantas entre tratamientos..... 41
Cuadro 14 Resultado del análisis de varianza de la altura de las plantas entre tratamientos a los 30 días 42
Cuadro 15 Resultado del análisis de varianza de la altura de las plantas a los 135 días. 43
Cuadro 16. Resultado del análisis de varianza de la altura de las plantas de los 255 días. 44
Cuadro 17. Resultado del Análisis de Varianza para el diámetro de los tallos entre tratamientos..... 46
Cuadro 18. Resultado del análisis de varianza del diámetro del tallo entre tratamientos a los 30 días. 47
Cuadro 19. Resultado del análisis de varianza del diámetro del tallo a los 135 días..... 48
Cuadro 20. Resultado del análisis de varianza del diámetro de los tallos a los 255 días. 49
Cuadro 21. Resultado del análisis de varianza para la clorofila de las hojas entre tratamientos..... 51
Cuadro 22. Resultado del análisis de varianza para la biomasa de las plantas entre tratamientos..... 54

Cuadro 23. Resultado del análisis de varianza del largo de raíz entre tratamientos..... 56
Cuadro 24. Resultado del análisis de varianza para área foliar de las plantas entre tratamientos 58
Cuadro 25. Resultados del análisis de metales pesados en hojas de *Citrus aurantium.* .. 59
Cuadro 26.Clasificación de los biosólidos en función de su aprovechamiento 83
Cuadro 27. Límites máximos permisibles de metales pesados en biosólidos 84
Cuadro 28. Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos de lodos y biosólidos 85

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la localización geográfica de Tihuatlán, Ver. 10
Figura 2. Primera etapa de separación de los restos que se destinan al vertedero..... 13
Figura 3. Rector de tres niveles 14
Figura 4. Ciénega artificial 14
Figura 5. Biosólidos que son desechados a un costado de la PTAR..... 14
Figura 6. Tratamiento T0 correspondiente a 100% suelo..... 18
Figura 7. Tratamiento T1 correspondiente a 75% suelo y 25 % biosólido 19
Figura 8. Tratamiento T1 mezclado 19
Figura 9. Tratamiento T2: 50% suelo y 50 % biosólido 20
Figura 10. Tratamiento T2 mezclado 20
Figura 11. Tratamiento T3: 75% suelo y 25% biosólido 21
Figura 12. Tratamiento T3 mezclado 21
Figura 13. Tratamiento T4 correspondiente a 100% biosólido 22
Figura 14. Bolsas llenas y distribuidas por bloques al azar 22
Figura 15. Porcentaje de germinación de los 90 días de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según prueba de Tukey. 34
Figura 16. Porcentaje de germinación del experimento a los 30, 60 y 90 días 35
Figura 17. Porcentaje de germinación a los 30 días de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según prueba de Tukey. 36
Figura 18. Porcentaje de germinación a los 60 días de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según prueba de Tukey. 37
Figura 19. Porcentaje de germinación a los 90 días de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según prueba de Tukey. 38
Figura 20. Porcentaje de Germinación a los 30, 60 y 90 días en cada tratamiento 39
Figura 21. Valores promedio de la altura en las plantas de *Citrus aurantium* 40
Figura 22. Altura promedio en centímetros de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey. 41
Figura 23 Altura promedio en centímetros de los distintos tratamientos a los 30 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey... 42
Figura 24 Altura promedio en centímetros de los distintos tratamientos a los 135 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey... 43
Figura 25 Altura promedio en centímetros de los distintos tratamientos a los 30 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey... 44
Figura 26. Diámetros (cm) promedio de los tallos de las plantas por tratamiento..... 45
Figura 27. Diámetro promedio en centímetros de los tallos de las plantas entre los tratamientos. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey 46

Figura 28. Diámetro promedio en centímetros de los tallos de las plantas entre los tratamientos a los 30 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey. 47
Figura 29. Diámetro promedio en centímetros de los tallos de las plantas entre los tratamientos a los 135 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey. 48
Figura 30. Diámetro promedio en centímetros de los tallos de las plantas entre los tratamientos a los 255 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey. 49
Figura 31. Valores de fluorescencia de acuerdo a los distintos tratamientos (Fv/m) 50
Figura 32. Valores promedio de clorofila de acuerdo a los distintos tratamientos (SPAD). 50
Figura 33. Producción de clorofila de los distintos tratamientos al finalizar el experimento. Columnas con letras distintas son significativamente diferentes según prueba de Tukey. 51
Figura 34. Producción de clorofila en los cuatro bloques dentro de los tratamientos al finalizar el experimento. 52
Figura 35. Peso seco promedio de la planta completa por tratamiento. 53
Figura 36. Producción de biomasa de los distintos tratamientos al finalizar el experimento. Columnas con letras distintas son significativamente diferentes según prueba de Tukey. 54
Figura 37. Largo de raíz promedio de los distintos tratamientos. 55
Figura 38. Largo promedio de raíz de los distintos tratamientos al finalizar el experimento. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas. 56
Figura 39. Efecto de los bloques en los distintos tratamientos en el largo promedio de raíz de las plantas al finalizar el experimento. 57
Figura 40. Área foliar de los distintos tratamientos al finalizar el experimento. Columnas con letras distintas son significativamente diferentes según prueba de Tukey. 58
Figura 41. Metales pesados en plantas con tratamiento de biosólido 60

RESUMEN

En esta investigación se analizaron los biosólidos de la planta tratadora de aguas residuales (PTAR) del rastro municipal de Tuxpan, Veracruz para su aprovechamiento en la agricultura; considerando la producción de cítricos como una de las actividades agrícolas más representativas de la región, se estableció como objetivo el evaluar las características de los biosólidos y el efecto de su uso como sustrato en la propagación del portainjerto *Citrus aurantium*. Consistió en dos fases, la fase de laboratorio donde se caracterizaron física, química y biológicamente los biosólidos y la fase de campo, donde se estableció un diseño de bloques completos al azar con 5 tratamientos: T0 testigo, T1 25% biosólido y 75% suelo, T2 50% biosólido y 50% suelo, T3 75% biosólido y 25% suelo, y T4 100% biosólido, con 4 repeticiones. Las variables fueron germinación, altura, diámetro, largo de raíz, biomasa, clorofila y fluorescencia. Los resultados obtenidos en el laboratorio de los biosólidos presentaron un alto contenido de materia orgánica, de macro y micro nutrimentos, y sus concentraciones de metales pesado (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn y Fe) no rebasaron los límites máximos permisibles para biosólidos establecidos en la NOM-004-SEMARNAT-2002. En la fase de campo el porcentaje de germinación tuvo mejor respuesta el tratamiento T3. Este mismo grupo mostró el mejor desarrollo de la planta durante el experimento, a excepción del crecimiento de las raíces que fue similar para todos los tratamientos. Con estos resultados se asume que los biosólidos estudiados no representan riesgos significativos para el uso agrícola y al integrarlos a la cadena productiva como sustrato para la propagación favorece la germinación y el crecimiento de *Citrus aurantium*.

Palabras clave: Biosólidos, metales pesados, cítricos, germinación, sustratos.

1. INTRODUCCIÓN

La generación de residuos provenientes de las ciudades afecta negativamente no sólo a esa población, sino también a las poblaciones cercanas. Esto incluye desde su presencia en el ambiente, los productos en los que se convierte una vez que son degradados por el ecosistema o por procesos industriales, la disposición inadecuada de los residuos y por supuesto, los gastos resultantes de su manejo (Vélez, 2007). Uno de los recursos más usados en las ciudades es el agua, se usa diariamente para actividades cotidianas en los hogares, comercios e industrias. Como resultado del uso de agua obtienen miles de litros de agua contaminada, cada vez más ciudades en México se hacen cargo de esta situación retirando la mayor cantidad posible de agentes contaminantes en el agua en las plantas tratadoras de aguas residuales municipales (INEGI, 2015). Estas plantas producen continuamente lodos residuales que deben ser dispuestos de acuerdo a las especificaciones de la ley, aquí se incluyen los biosólidos.

Los lodos residuales se denominan biosólidos cuando han sido sometidos a un proceso de estabilización de agentes patógenos. Después de ser tratados y procesados, los biosólidos pueden ser reciclados y aplicados como fertilizante para mejorar y mantener productivos los suelos y estimular el crecimiento de las plantas debido a que son principalmente materia orgánica y contienen nutrientes esenciales (Obreza y O'connor, 2009). Al reciclar los biosólidos se combaten dos grandes problemas para las poblaciones. El primero de ellos es la acumulación de

residuos urbanos, actualmente la manera más popular de disponer los biosólidos que salen de las plantas tratadoras de aguas residuales son los vertederos cercanos a ellas. El segundo problema es el uso excesivo de fertilizantes químicos en la agricultura, aplicar biosólido a los cultivos puede minimizar el uso de fertilizantes inorgánicos, los cuales son más costosos para los agricultores y están contaminando el suelo y las aguas subterráneas. Es claro que los fertilizantes químicos han permitido aumentar la producción de alimentos, pero a elevados costos económicos y ecológicos. El uso continuo de fertilizantes químicos propicia el deterioro en el contenido de materia orgánica, un desbalance nutrimental, disminución de la actividad biológica y finalmente, en la pérdida de la fertilidad de los suelos y su capacidad productiva (Trinidad, 2002).

Según lo establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental: Lodos y Biosólidos, Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final; los biosólidos son lodos que han sido sometidos a procesos de estabilización y que por su contenido de materia orgánica, nutrientes y características adquiridas después de su estabilización, puedan ser susceptibles de su aprovechamiento. Se les denomina biosólidos debido al método más común que se usa para su obtención, el cual es un procesamiento biológico (digestión aerobia o anaerobia) de los sólidos procedentes del tratamiento de aguas residuales (Uribe *et al*., 1993).

En el presente trabajo se abordó la reutilización de los biosólidos generados por la planta de tratamiento de aguas residuales del rastro municipal de Tuxpan,

Veracruz. para promover el cultivo de cítricos de la región. Debido a que la composición de los biosólidos depende del origen de las aguas residuales, éstos biosólidos están conformados en su mayoría por restos orgánicos y cumplen con las especificaciones de las leyes mexicanas para su uso en la agricultura, analizados como sustrato para la germinación de la variedad *Citrus aurantium*, variedad que es usada como portainjerto.

2. ANTECEDENTES

2.1 USO DE BIOSÓLIDOS EN LA AGRICULTURA

Cuando los biosólidos son tratados y manejados apropiadamente de acuerdo a las regulaciones y estándares federales, son seguros para el medio ambiente y la salud humana. El reciclaje de éstos a través de la aplicación al terreno tiene varios propósitos. Mejoran las características del suelo, como la textura y la capacidad de absorción del agua, las cuales brindan condiciones favorables para el crecimiento de raíces e incrementan la tolerancia de las plantas a la sequía (EPA, 2000).

Se ha considerado que los biosólidos por sus características propias o adquiridas durante el proceso de estabilización pueden ser aprovechados siempre y cuando cumplan con los límites máximos permitidos de contaminantes establecidos en la Norma Oficial Mexicana (Anexo), para atenuar sus efectos contaminantes para el medioambiente y proteger a la población en general (López *et al*., 2012) .

Los biosólidos también proporcionan nutrientes esenciales para el crecimiento vegetal, incluyendo el nitrógeno y el fosforo, así como algunos micronutrientes esenciales tales como el níquel, el zinc y el cobre. Por esta razón pueden servir como alternativa o sustituto a los fertilizantes químicos que son más costosos. Algunas de las ventajas que ofrecen los biosólidos en comparación a los fertilizantes inorgánicos es que los nutrientes que contienen son orgánicos y pueden ser incorporados lentamente por las plantas en crecimiento; además son

menos solubles al agua, por lo tanto tienen una menor probabilidad de lixiviarse al agua subterránea o ser arrastrada a las aguas superficiales (Obreza y O'Connor, 2009).

El uso de los biosólidos modifica las propiedades físico-químicas del suelo ya que aumenta la retención del agua, mejora la estructura, incrementa la capacidad de intercambio catiónico, aporta macronurientes y micronutrientes de manera prolongada dándole mayor fertilidad aumenta la actividad microbiana y ayuda a disminuir la contaminación por agroquímicos. (López *et al.*, 2012).

Se han estudiado los efectos de los biosólidos en suelos agrícolas, suelos forestales, suelos degradados, áreas de ornato y recreación, materia prima para la elaboración de abonos y enmiendas orgánicas, cobertura de rellenos sanitarios y elaboración de materiales de construcción, entre otros. Esto ocurre desde hace algunos años en todo el mundo. Environmental Protection Agency (US EPA), entidad legisladora en materia de lodos y biosólidos en Norteamérica, afirma que desde el año 2005 alrededor del 60% de los biosólidos producidos por las plantas tratadoras de aguas residuales en Estados Unidos se utilizan como fertilizante en las tierras de cultivo (Vélez, 2007).

Investigaciones realizadas demuestran que el aporte de biosólidos contribuyó al incremento en rendimiento de los cultivos de maíz (*Zea mays* L.) lino (*Linum usitatissimum*), algodón (*Gossypium hirsutum*), cebada (*Hordeum vulgare*), pastos (*Bouteloua gracilis, Hilaria mutica, Paspalum notatum flugge*), girasol (*Helieanthus*

annus L), y especies arbóreas como el álamo (*Populus auramericana*) y el manzano (*Malus pumila Mill*), esto se reportó al analizar diferentes concentraciones del biosólido (Singh y Agrawal, 2008)

En México se han llevado a cabo estudios sobre los biosólidos en diversos campos. En Ciudad Juárez, Chihuahua se está utilizando los biosólidos producidos en dos de sus plantas de tratamiento de aguas residuales para la agricultura (Flores 2008, citado por Robledo 2012). En un estudio realizado sobre el uso de biosólidos como fertilizante por Uribe (1993), "El uso de biosólidos para incrementar la productividad de alfalfa" mostró que la producción de forraje seco se incrementó entre 17% y 31% en comparación con fertilización química. En 2006 Guerra en su estudio titulado "Producción y calidad de forraje y semilla del zacate navajita con la aplicación de biosólidos en un pastizal semiárido de Jalisco" obtuvo una mayor altura de las plantas y germinación más rápida de semillas.

En Delicias Chihuahua, México se realizó un estudio (2006) denominado "Uso de biosólidos en la nutrición del Nogal Pecanero" en el cual Rivero demostró que tras aplicar durante tres años dosis de biosólidos a nogales; concluyó que los biosólidos son tan eficientes como los fertilizantes en proveer nutrientes a los nogales y por lo tanto promueve su crecimiento y producción, el único macro nutrimento que aumentan los biosólidos en el suelo es el fosforo, y que los biosólidos no aumentan el contenido de metales pesados tóxicos en el fruto.

Borges *et al.* (2007) en su estudio sobre la aplicación de biosólidos en el cultivo de plántulas de tomate, observaron un incremento en las magnitudes de las variables evaluadas por lo que concluyeron que los biosólidos tienen un gran potencial para ser utilizados en sistemas de producción de plántulas en cultivos que necesiten ser llevados al campo después de una fase de semillero.

Jurado *et al.* (2007) encontró resultados favorables para el uso de biosólidos en la producción de forraje en pastizales semiáridos de México, los tratamientos con biosólidos que utilizó mejoraron las condiciones del suelo en cuanto a la humedad, pH y los nutrimentos disponibles para las plantas, principalmente nitrógeno y fósforo.

Flores y Flores (2005) analizaron la composición físico química de los lodos provenientes de la PTAR de aguas residuales de la ciudad de Aguascalientes y concluyeron que pueden ser utilizados como fertilizantes para la agricultura en los cultivos a excepción de hortalizas. Para remediación de suelos, proponen realizar estudios adicionales ecotoxicológicos *in situ* sobre las poblaciones microbianas y fauna.

Potisek *et al*. (2010) en su estudio sobre la aplicación de biosólidos al suelo y su efecto sobre el contenido de materia orgánica y nutrimentos , utilizó tratamientos de dosis con biosólido (100 y 200 mg ha^{-1}) 100 kg N ha^{-1} como sulfato de amonio y un testigo sin fertilizar, encontró que la aplicación de biosólidos incrementó la materia orgánica en el perfil del suelo, la concentración micronutrimentos en todo

el perfil del suelo en un orden de acumulación de Zn > Fe > Mn > Cu, por lo que concluye que los biosólidos son una buena opción para el uso en suelos agrícolas, forestales y pastizales que además de aportar nutrimentos a los cultivos permitiría reducir costos de producción.

Robledo (2010) en su estudio donde evaluó el efecto de los biosólidos en cuanto a metales pesados y sales solubles en suelo y plantas de pasto ballico, encontró que los biosólidos presentaron un pH ligeramente ácido, con alto contenido en sales solubles y concentración de metales pesados dentro de los límites máximos permisibles según la NOM-004-SEMARNAT-2002, por lo que se les puede dar uso agrícola. Y observó que las dosis crecientes de biosólidos incorporados al suelo no presentan efectos en cuanto acumulación de metales pesados pero sí se incrementó el contenido de sales solubles. En dosis superiores a 80 t-ha^{-1} se llegó a niveles que pueden reducir el rendimiento de la mayoría de los cultivos.

3.OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar las características de los biosólidos de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de Tuxpan, Ver. y el efecto de su uso como sustrato en la propagación del portainjerto *Citrus aurantium*.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Caracterizar física, química y biológicamente los biosólidos.
- Valorar el efecto de los biosólidos como sustrato en la germinación y crecimiento de plantas de cítricos.
- Determinar la dosis adecuada de biosólido para usarse como sustrato de plantas de cítricos.
- Analizar el efecto de la aplicación de biosólidos en el contenido de metales pesados en las plantas.

4. ÁREA DE ESTUDIO

La parcela experimental se localizó en la comunidad Enrique Rodríguez Cano dentro del municipio de Tihuatlán, Ver., México el cual colinda al norte con los municipios de Castillo de Teayo, Álamo Temapache y Túxpan, al este con los municipios de Tuxpan, Cazones de Herrera, Poza Rica de Hidalgo y Papantla, al sur con los municipios de Poza Rica de Hidalgo, Coatzintla y el estado de Puebla, al oeste con el municipio de Castillo de Teayo y el estado de Puebla (figura 1). Se encuentra ubicado en la zona norte Veracruz entre los paralelos 20° 29' y 20° 52' de latitud norte, y los meridianos 97° 22' y 97° 43' de latitud oeste. Con altitudes sobre el nivel del mar que van de los 20 m y 300 m (INEGI, 2012).

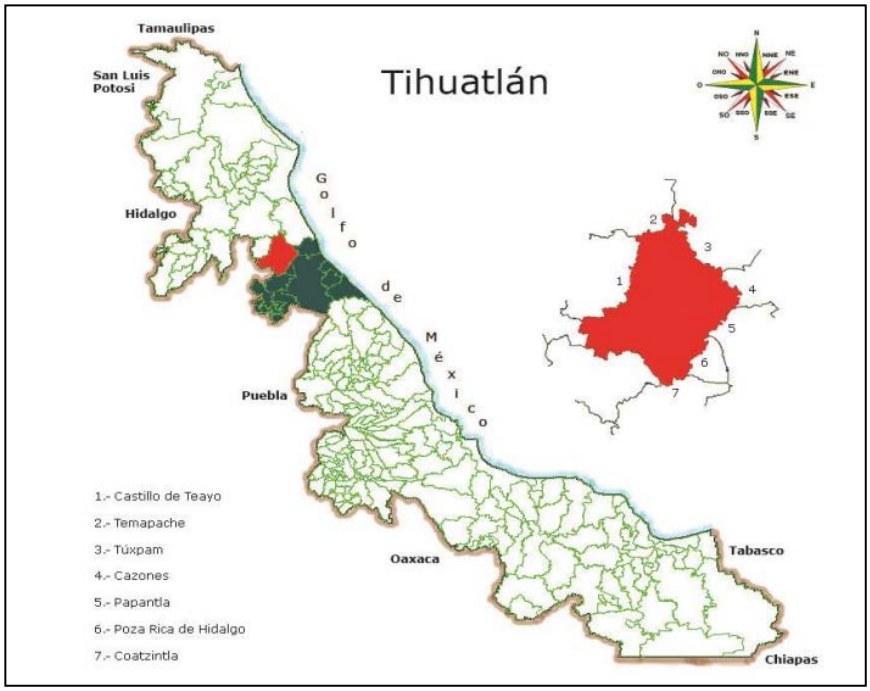

Figura 1. **Mapa de la localización geográfica de Tihuatlán, Ver.**

Fuente: SEFIPLAN, 2015.

El clima para la región del municipio de Tihuatlán es cálido subhúmedo con lluvias en verano de mayor humedad (57%) y cálido subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media (43%). La temperatura promedio anual va de los 24 a 27° C y un rango de precipitación de 1100 a 1300 mm. (INEGI, 2012).

La planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) se ubica en la ciudad de Túxpan de Rodríguez Cano. La extensión territorial del municipio es de 966.2 km^2 y representa el 1.3% del territorio estatal. Limita al norte con Álamo Temapache, Tamiahua y el Golfo de México, al este con el Golfo de México y el municipio de Cazones de Herrera, al sur con los municipio de Cazones de Herrera y Tihuatlán y al oeste con los municipios de Tihuatlán y Álamo Temapache. Está ubicado entre los 20° 44' y 21°09' de latitud norte, y los 97° 13' y 97° 36' de latitud oeste (INEGI, 2009).

En la ciudad de Tuxpan habitan 143 362 personas y el volumen de residuos de sólidos urbanos recolectados anualmente es de 40 mil toneladas. El área territorial destinada para rellenos sanitarios de 103.6 hectáreas, tiene una capacidad para 100 000 m^3. Para tratar las aguas residuales se tienen cuatro plantas municipales, con una capacidad instalada de 253 l/s y se trata un volumen anual de 3.1 millones de m^3 (INEGI, 2012).

4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA PTAR DEL RASTRO MUNICIPAL DE TUXPAN, VER

La PTAR del rastro municipal de Tuxpan, Veracruz, fue instalada en el 2001. En ésta se da tratamiento a las aguas provenientes de las actividades de sacrificio de reses y cerdos para abastecer el consumo local principalmente. El Ing. Gonzalo Monroy García, director de rastro municipal, brindó la siguiente información para el presente trabajo.

En las instalaciones de la PTAR se lleva a cabo el tratamiento y disposición de los desechos de 6 a 10 animales al día. La primera separación que se hace es de partes que no se destinaran para consumo, estos restos pasan directamente al contenedor para llevarse a su destino final que es el relleno sanitario ubicado en Tierra Blanca, Ver. a las afueras de la ciudad. Los siguientes residuos, que están conformados por sangre, estiércol, y agua; pasan al proceso de la planta tratadora, el cual inicia dándole un tratamiento primario a las aguas haciéndolas pasar por unas rejillas separadoras de sólidos para evitar el paso de basuras que puedan obstruir los conductos hidráulicos o dañar las bombas. Inmediatamente después el agua pasa a un desarenador donde las partículas inorgánicas de tamaño considerable como las arenas, se sedimentan y son eliminadas antes de entrar al tratamiento secundario. Después de esto, las aguas son dirigidas a un cárcamo que es un lugar con nivel más bajo del suelo, donde se acumula hasta tener el nivel adecuado y es bombeada al tanque distribuidor. Éste tanque envía el agua a dos reactores en el que se les da el tratamiento secundario.

El agua que entra en los reactores va ascendiendo lentamente y entra en contacto con las bacterias que se encuentran dentro, y que se alimentan de materia orgánica presente en el agua, de este proceso se obtiene biogás y los biosólidos.

El efluente proveniente de los reactores es dirigido al postramiento, el cual se basa en una ciénaga artificial. Después de este procedimiento las aguas tratadas son dirigidas al arroyo más cercano. De los reactores las aguas se dirigen a la ciénaga artificial, los biosólidos que se obtienen actualmente de esta planta son destinados al relleno sanitario junto con el resto de los residuos previamente separados. Aquí se está desaprovechando este recurso valioso que puede contribuir a una agricultura sustentable, además de que se acumulan más restos en el relleno sanitario. En las figuras 2, 3, 4 y 5 se observan imágenes del proceso de la PTAR.

Figura 2. Primera etapa de separación de los restos que se destinan al vertedero.

Figura 3. Rector de tres niveles

Figura 4. Ciénega artificial

Figura 5. Biosólidos que son desechados a un costado de la PTAR

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se compone de dos fases que se desarrollaron simultáneamente. La fase de laboratorio que tuvo lugar al inicio del experimento y al final, los biosólidos y el suelo utilizado para el experimento de campo se analizaron física, química y biológicamente. La segunda fase corresponde al experimento de campo donde se observó la germinación y desarrollo de semillas de *Citrus aurantium* en diferentes concentraciones de biosólidos.

5.1 FASE DE LABORATORIO

Una primer muestra de biosólidos recolectada al inicio del experimento en la PTAR del rastro municipal de Tuxpan, Ver. fue enviada para su caracterización fisicoquímica al Laboratorio Central de la Universidad Autónoma de Chapingo en la ciudad de Texcoco, edo. de México y para su caracterización biológica al Laboratorio de Alta Tecnología de Xalapa. La primera muestra analizada de los biosólidos fue antes del inicio del experimento en diciembre del 2015 y la segunda muestra una vez iniciado en una fase avanzada del experimento (octubre 2016).

Para la recolección de las muestras de biosólidos se siguió los procedimientos establecidos en el anexo ll de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. De ésta misma se sigue el método para la clasificación de los biosólidos con los parámetros de contenido de metales pesados y agentes biológico infecciosos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Determinaciones analíticas y metodologías empleadas en la caracterización de suelo y biosólidos (NOM-021-SEMARNAT-2000 Y NOM-004-SEMARNAT-2002).

Determinación	Método	Biosólido	Suelo
pH	Potenciometría (Rel. 1:2)	X	X
CE	Puente de conductividad en suspensión (Rel. 1:2)	X	X
DA	Método de la Probeta	X	X
MO	Walkley y Black	X	X
N disponible	Volumetría (extracción KCl)	X	X
N total	Digestado con mezcla diádica y determinado por arrastre de vapor Kjeldhal	X	
CIC	Acetato de amonio 1.0 N pH 7.0 y determinado por arrastre de vapor	X	X
Ca, Mg disponible	Volumetría (acetato de NH_4^+)	X	X
Na, K disponible	Flamometría (acetato de NH_4^+)	X	X
P disponible	Fotocolorimetría	X	X
P total	Digestado con mezcla diácida y determinado por fotocolorimetria por reducción con Molibdo-vanadato	X	
Zn, Fe, Mn, Cu, Pb, Ni, Cd extractables	Absorción atómica (extracto con DTPA)	X	X
K, Na totales	Digestado en mezcla diácida y determinado por espectrofometria de emisión de flama	X	
Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn totales	Digestado con mezcla diácida y determinado por espectrofometría de absorción atómica	X	
Pb, Cr, Ni, Co, Mo total	Digestado con mezcla diácida y determinado por espectrofotometria de absorción atómica	X	
B total	Digestado con mezcla diácida y determinado por fotocolorimetría de Azometina-H	X	
B disponible	Fotocolorimetría de Azometina-H	X	X
Agentes biológico infecciosos (Coliformes fecales y *Salmonella spp*)	NOM-112-SSAT-1994, NOM-114-SSAT-1994	X	

Fuente: Propia,2017.

5.2 FASE DE CAMPO

ADECUACION DEL VIVERO

El experimento se estableció en 24 m^2 de superficie plana en condiciones semicontroladas para determinar el efecto de la utilización de biosólido en el desarrollo de las semillas de cítricos hasta que estuvieron listas para ser injertadas. Las dimensiones del vivero son 8 x 3 x 2.5 metros y estuvo cubierto con malla sombra. Los biosólidos de la PTAR fueron llevados al terreno antes de la temporada de lluvias (Marzo) y fueron extendidos para favorecer la pérdida de humedad antes de ser utilizados en los tratamientos.

PREPARACIÓN DE TRATAMIENTOS

Los biosólidos fueron llevados de la PTAR del rastro municipal de Tuxpan, Ver al área del vivero en contenedores plásticos de 200 L y se extendieron sobre una superficie en la que fueron expuestos al sol para favorecer su secado.

Tanto el suelo como los biosólidos fueron tamizados antes de mezclarse. Una vez hecho este procedimiento, se realizó la preparación correspondiente para cada tratamiento como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Relación Biosólidos/Suelo para cada tratamiento

Tratamientos	Biosólidos/Suelo
T0	0/100
T1	25/75
T2	50/50
T3	75/25
T4	100/0

Fuente: Propia,2017.

En las figuras 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13 se muestran las mezclas de sustratos usadas en el experimento de campo, y en la figura 14 el acomodo final de las bolsas llenas en el vivero.

Figura 6. Tratamiento T0 correspondiente a 100% suelo

Figura 7. Tratamiento T1 correspondiente a 75% suelo y 25 % biosólido

Figura 8. Tratamiento T1 mezclado

Figura 9. Tratamiento T2: 50% suelo y 50 % biosólido

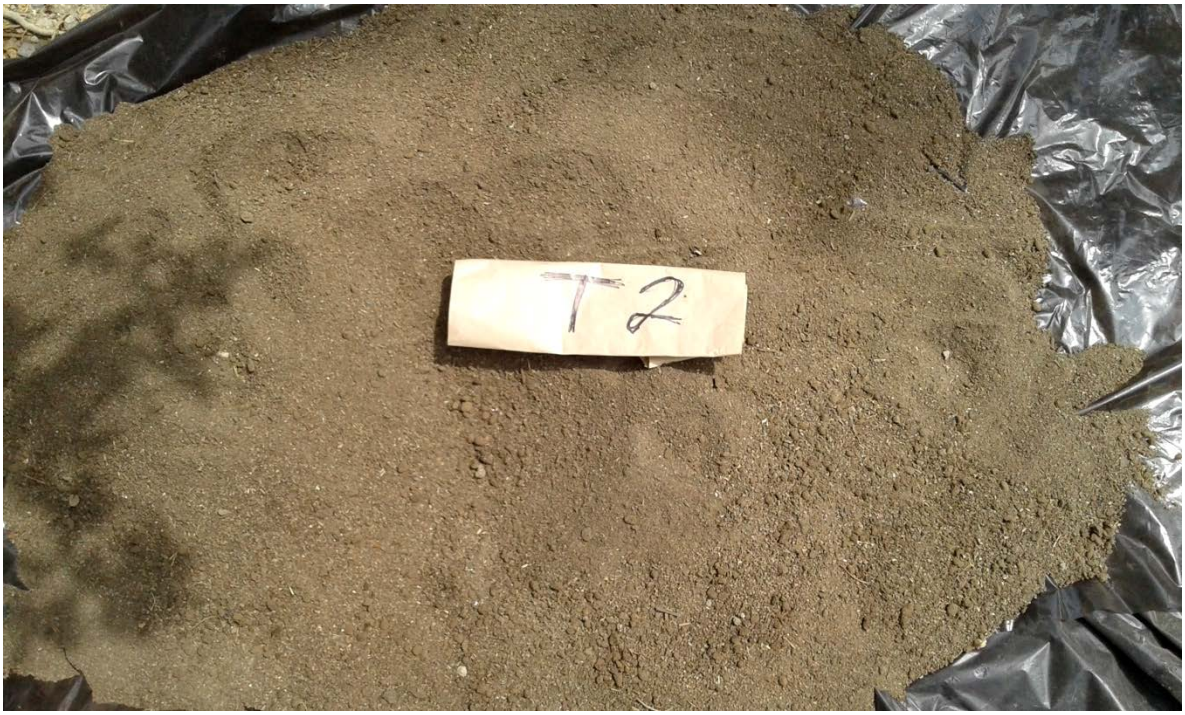

Figura 10. Tratamiento T2 mezclado

Figura 11. Tratamiento T3: 75% suelo y 25% biosólido

Figura 12. Tratamiento T3 mezclado

Figura 13. Tratamiento T4 correspondiente a 100% biosólido

Figura 14. Bolsas llenas y distribuidas por bloques al azar

PREPARACIÓN DE LAS SEMILLAS

Se seleccionaron los árboles de mejor producción y tamaño para la recolección de las naranjas, de las cuales se extrajeron las semillas que se mantuvieron en remojo en 1 litro de agua con 1 gramo de Benomyl como fungicida. Esta especie de cítrico, *Citrus aurantium*, es la que se utiliza como portainjerto regionalmente para producir la variedad de cítrico deseada.

LLENADO DE BOLSAS

Las bolsas que se utilizaron para la germinación y desarrollo de las semillas tenía una dimensión de 30 x 15 centímetros. Se les abrió dos pequeños agujeros en la parte inferior y se procedieron a llenar con los sustratos de cada tratamiento.

Dado que el biosólido es más ligero que el suelo que se usó como testigo, cada bolsa fue llenada con 1200 cm^3 de la mezcla correspondiente para cada tratamiento, lo que dio como resultado pesos distintos para cada uno. Para el T0 se tiene 1500 gramos, T1 con 1460 gramos, T2 con 1365 gramos, T3 con 1113 gramos y T4 con 863 gramos. Con el mismo volumen de biosólidos y suelo se tiene una diferencia de pesos de casi el 50%.

Identificación de los bloques. El experimento tuvo un acomodo de bloques completos al azar por lo que una vez llenadas las bolsas se les colocó la identificación correspondiente a un lado de cada bloque y tratamiento.

SIEMBRA

Antes de colocar las semillas se humedeció el sustrato de las bolsas ya dispuestas en la distribución correspondiente, se sembró una semilla en cada bolsa a una profundidad no mayor de un centímetro. La siembra tuvo lugar el 16 de marzo del 2016.

RIEGOS

Los riegos posteriores a la siembra estaban sujetos a las condiciones climatológicas de la zona y de acuerdo a las necesidades de las semillas y plantas. Aproximadamente riegos espaciados cada tercer día en el transcurso de la tarde.

MONITOREO DE VARIABLES.

Se registraron las variables correspondientes a las distintas fases del crecimiento de las plantas. Los periodos comprendidos para el registro son quincenales a partir de la fecha de siembra y hasta que la mayoría de las plantas alcanzó la altura y grosor de tallo para ser injertadas.

PLANTA TERMINADA

Es el término del experimento en el cual la planta ya tiene el diámetro (0.5 - 1 cm) y altura (30 - 35 cm) adecuada para ser injertada. El término del experimento se dio en el noveno mes.

5.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se consideró un diseño experimental de bloques completos al azar y se utilizaron cinco tratamientos en función de la concentración de sustrato. Para cada tratamiento se tienen 10 semillas y cuatro repeticiones, para un total de 200 semillas en todo el experimento. En cada bloque al azar se tuvieron cinco unidades experimentales con 50 semillas en total.

Cuadro 3 Distribución de bloques al azar para los tratamientos

BLOQUE 1	T2	T1	T4	T3	T0
BLOQUE 2	T0	T3	T1	T4	T2
BLOQUE 3	T1	T0	T4	T2	T3
BLOQUE 4	T1	T2	T4	T3	T0

Fuente: Propia,2017.

5.4 VARIABLES

Las variables que se consideraron en la fase de campo:

- Porcentaje de germinación. Se registraron los días que transcurrieron desde la siembra hasta que más del 80% de las semillas germinaron.
- Altura de planta. Para la determinación de este parámetro se tomó en cuenta desde el tallo al ras del suelo hasta la hoja más alta. Esta medición se registró quincenalmente hasta terminar el experimento.
- Diámetro del tallo. Se tomó la medición del diámetro de la parte media del tallo, debajo de las primeras hojas, quincenalmente hasta el final del experimento.
- Tamaño de raíz. Se medió la raíz de las plantas. Se consideraron dos plantas por bloque para un total de 8 plantas por cada tratamiento. Se obtuvieron las medidas de raíz cuando las plantas alcanzaron la talla recomendable para injerto.
- Florescencia. Se consideró una muestra del 20% para cada tratamiento que corresponde a 8 plantas, dos de cada bloque al finalizar el experimento de campo.
- Clorofila. Se consideró una muestra del 20% para cada tratamiento que corresponde a 8 plantas, dos de cada bloque al finalizar el experimento de campo.
- Área foliar (cm^2). Se consideró una muestra del 20% para cada tratamiento que corresponde a 8 plantas, dos de cada bloque al finalizar el experimento de campo.

- Producción de biomasa. Concluido el experimento de campo se colectaron ocho plantas de cada tratamiento como muestra; las cuales fueron divididas en su parte aérea y subterránea, se enjuagaron con agua corriente dos veces y se depositaron en bolsas de papel etiquetadas. En el laboratorio se pesaron sin bolsa para después ser introducidas al horno de secado en las bolsas de papel etiquetadas y perforadas. Permanecieron en el horno de secado durante 24 horas para registrar su peso seco después de este tiempo, una vez más fueron introducidas al horno de secado por otras 24 horas más para después volver a comprobar su peso seco y en este tiempo se encontró que el peso seco se había estabilizado. Las muestras se pesaron sin bolsa para determinar la biomasa total por lo que se consideró el peso de la planta completa secada al horno.

5.5 MÉTODO ESTADÍSTICO

Con los datos obtenidos en campo y laboratorio se realizó un ANOVA factorial ajustado a un modelo lineal general. Para diferencias significativas, se aplicó la prueba de separación de medias de Tukey ($\alpha \leq 0.05$). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica versión 7.0.

6. RESULTADOS

6.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS BIOSÓLIDOS

Las características fisicoquímicas de los biosólidos muestran un pH de valor moderadamente ácido en la primera prueba y para la segunda prueba (una vez iniciado el experimento) mostró un valor de pH neutro. Presentan un alto contenido de materia orgánica con respecto a otros abonos orgánicos, en general fueron muy ricos tanto en sus concentraciones totales de nutrimentos como en los extractables (disponibles inmediatamente para las plantas).

La conductividad eléctrica en la primera prueba dió como resultado un material salino y en la segunda prueba se considera como fuertemente salino. La densidad aparente que se obtiene en las pruebas clasifica a los biosólidos como suelos orgánicos y volcánicos.

El fósforo cumple funciones en la planta como la formación de compuestos orgánicos esenciales, tales como aminoácidos, proteínas, coenzimas, ácidos nucleicos y clorofila. El resultado de fósforo extractable o disponible es de 18.74 mg kg^{-1}.

Dentro de los micronutrientes, el boro es el único elemento no metálico. La concentración típica del boro en el suelo es de 7 a 80 ppm, y menos del 5% está disponible para las plantas. El boro contenido en forma extractable en los

biosólidos analizados es de 32.59 mg kg^{-1}. En el cuadro 4 se presenta la composición química de los biosólidos.

Cuadro 4. Composición química de los biosólidos procedentes de la PTAR del rastro municipal de Tuxpan, Ver.

	pH	MO	CE	N	P	K	Ca	Mg	Na	B	DA	CIC
		%	dSm^{-1}	---------- mg kg^{-1}						----------		$Cmol_{(+)}$ Kg^{-1}
E	6.6	6.38	10.06	1645	18.7	825	6800	215.66	46	32.59	0.76	-
T	6.22	32.27	6.55	39000	13000	2700	15600	3900	1600	107.17	0.72	58.4

E: extractables; T: totales. Fuente: Propia, 2017.

La concentración de metales pesados está dentro de los límites considerados como máximos permisibles en los lodos residuales para uso agrícola (NOM-004-SEMARNAT-2002). Relacionando la concentración total de metales pesados con los límites máximos permisibles en México, son considerados como excelentes según la NOM-004-SEMARNAT-2002. En el cuadro 5 se muestra la concentración de metales pesados en los biosólidos

Cuadro 5. Concentración de metales pesados en los biosólidos

		Biosólidos		MEX NOM-004-SEMARNAT-2002	
Característica		**Totales**	**Extractables**	**Excelentes**	**Buenos**
Cd	mg kg^{-1} en base seca	9	0.026	39	85
Cr		2	NR	1200	3000
Cu		328.5	31.24	1500	4300
Ni		22.5	1.03	420	420
Pb		61	0.582	300	840
Zn		15.60	98.4	2800	7500
Fe		8500	110.37	NR	NR

Fuente: Propia, 2017.

Los análisis microbiológicos (Cuadro 6) muestran que el contenido de coliformes fecales en los biosólidos está por debajo del límite máximo permisible por la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 y no existe presencia de salmonella. Este resultado permite clasificar a los biosólidos en el tipo Excelente (clase A) para aprovechamiento en lugares urbanos con contacto público directo durante su aplicación.

Cuadro 6. Resultados del análisis microbiológico de los biosólidos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales del rastro municipal de Tuxpan, Ver.

Resultados	Determinación	Método	Límite máximo permisible
2.78 NMP/g	**Organismos coliformes fecales** por g de muestra	NOM-112-SSA1-1994	1000 NMP/g para la clase A
AUSENCIA	***Salmonella ssp***., por 25 g de muestra	NOM-114-SSA1-1994	Menor de 3 NMP/g para la clase A

Fuente: Propia,2017. NMP= Número más probable g= Gramo

6.2 CARACTERISTICAS DEL SUELO

La materia orgánica presente en el suelo (3.1%) se encuentra dentro de la clasificación media con un pH de 7.4 clasificado como medio alcalino (NOM 021-SEMARNAT-2000) . El pH bajo puede afectar negativamente la absorción de Mg y en suelos muy alcalinos se ha da una competencia con el calcio que reduce la asimilación de magnesio.

El contenido de fósforo (18.9 mg kg^{-1}) en el suelo utilizado cae dentro de la clasificación moderado bajo. La disponibilidad del P en el suelo está directamente relacionada con el pH y la presencia de ciertos minerales junto con la temperatura del suelo. A bajas temperaturas la disponibilidad disminuye.

La función del calcio en las plantas es mantener la integridad de la membrana lo cual afecta en la absorción nutrimental, promoviendo o limitando el flujo de nutrimentos hacia el interior de la raíz. En los cuadros 7 y 8 se muestra la composición nutrimental del suelo y la concentración de metales pesados.

Cuadro 7. Características químicas del suelo

	pH	MO	CE	N*	P*	K*	Ca*	Mg*	Na*	B*	DA
		%	dSm^{-1}	---------- mg kg^{-1}----------							
Valor	7.4	3.1	0.469	112	18.9	250	7600	119.24	149	8.55	1.25
*Categoría	Medio Alcalino	Medio	No salino	Muy alto	Mod. Bajo	Medio	Muy alto	Medio	-	-	-

NOM-021-SEMARNAT-2000. *Concentración en forma extractable. Fuente: Propia,2017.

Cuadro 8. Concentración de metales en el suelo

	Cd*	Cr*	Cu*	Ni*	Pb*	Zn*	Fe*
	---------- mg kg^{-1}----------						
Valor	0.542	0.788	2.95	0.106	0.043	0.026	11.794
Clase	Normal	-	Alto	Normal	Normal	Bajo	Medio
LMPS	7.0	nr	100	100	200	300	nr

NOM-021-SEMARNAT-2000. *Concentración de metales extractables. LMPS= Límite máximo permisible para suelos agrícolas (Kabatas-Pendias y Pendias, 2000). nr= no reportado. Fuente: Propia,2017.

6.3 CARACTERÍSTICAS DE LAS PLANTAS

Se analizaron las variable dependiente porcentaje de germinación junto con las variables independientes días y tratamientos, se encontró que hay diferencias significativas entre tratamiento y días y a su vez son independiente, es decir que no interaccionan entre sí (cuadro 9).

Cuadro 9. Análisis estadístico: Porcentaje de Germinación

Factor	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Tratamiento	8926.7	4	2,231.7	3.3	0.01835
Días	40423.3	2	20,211.7	30.0	0.00000
Tratamiento*Días	2343.3	8	292.9	0.4	0.89366
Error	30300.0	45	673.3		

En la figura 15 se aprecian diferencias estádisticamente significativas entre germinación y tratamientos en el tratamiento T3 con T2 y T1.

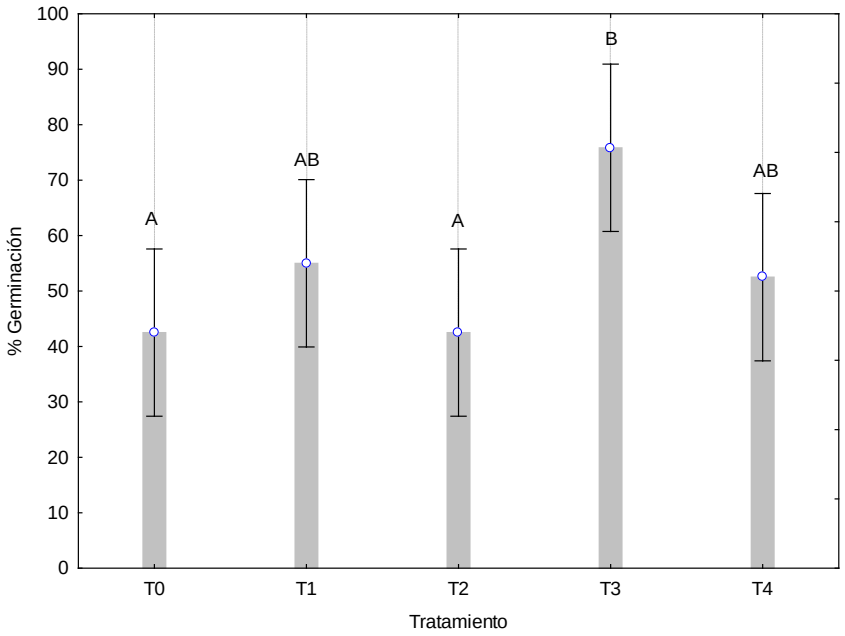

Figura 15. Porcentaje de germinación de los 90 días de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según prueba de Tukey.

El análisis del porcentaje de germinación de todo el experimento a los 30, 60 y 90 días muestra que la mayor germinación ocurre entre los 30 y 60 días (Figura 16).

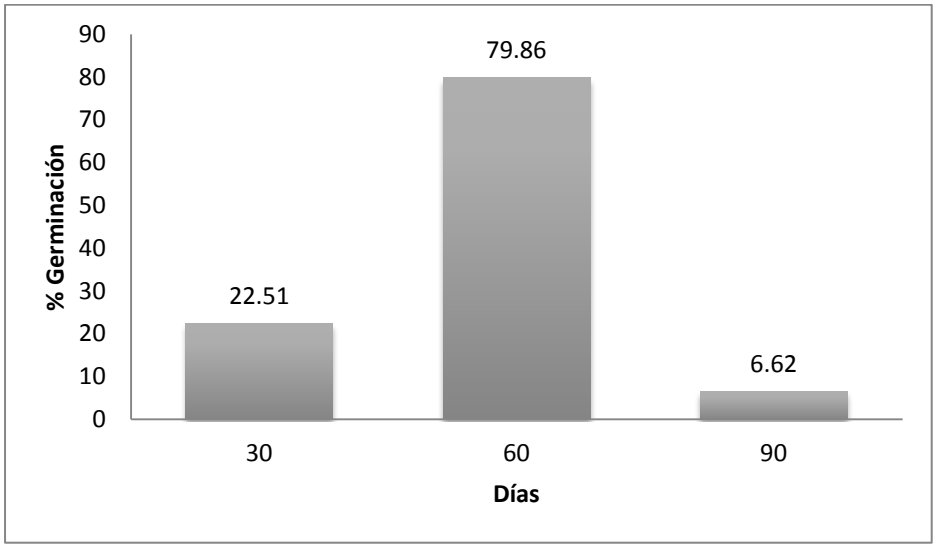

Figura 16. Porcentaje de germinación del experimento a los 30, 60 y 90 días

Se analizó la variable dependiente porcentaje de germinación junto con la variable independiente tratamientos a los 30 días, se encontró diferencias significativas entre tratamiento y germinación. Una prueba *a posteriori* de Tukey reveló las diferencia entre tratamiento T3 con T0, T1 y T2 (Cuadro 10 y figura 17).

Cuadro 10. Resultado del análisis de varianza de la germinación a los 30 días.

Factor	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Germinación	5780.000	1	5780.000	27.52381	0.000099
Tratamiento	6270.000	4	1567.500	7.46429	0.001620
Error	3150.000	15	210.000		

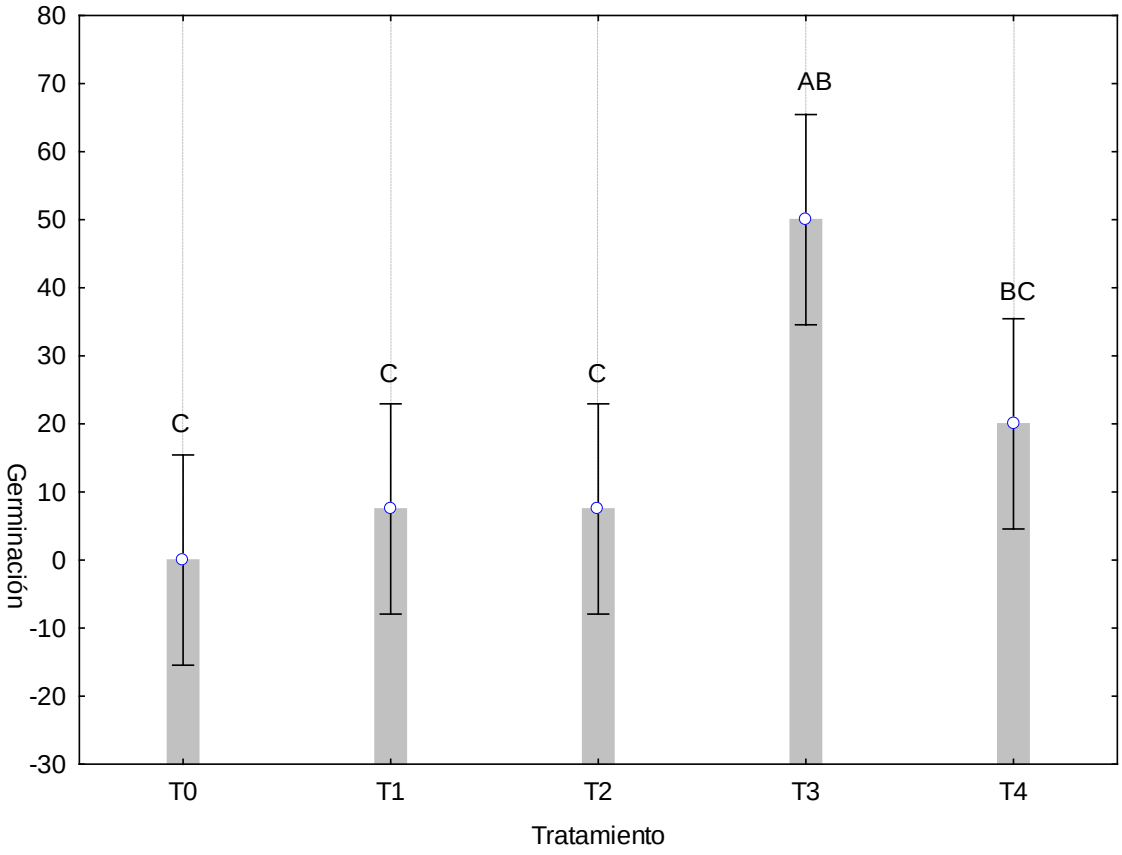

Figura 17. Porcentaje de germinación a los 30 días de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según prueba de Tukey.

Se analizó las variable dependiente porcentaje de germinación junto con la variable independiente tratamiento a los 60 días, no se encontró diferencias significativas entre tratamiento y germinación (Cuadro 11 y figura 18).

Cuadro 11. Resultado del análisis de varianza de la germinación a los 60 días.

Factor	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Germinación	99405.00	1	99405.00	114.4779	0.000000
Tratamiento	2670.00	4	667.50	0.7687	0.562048
Error	13025.00	15	868.33		

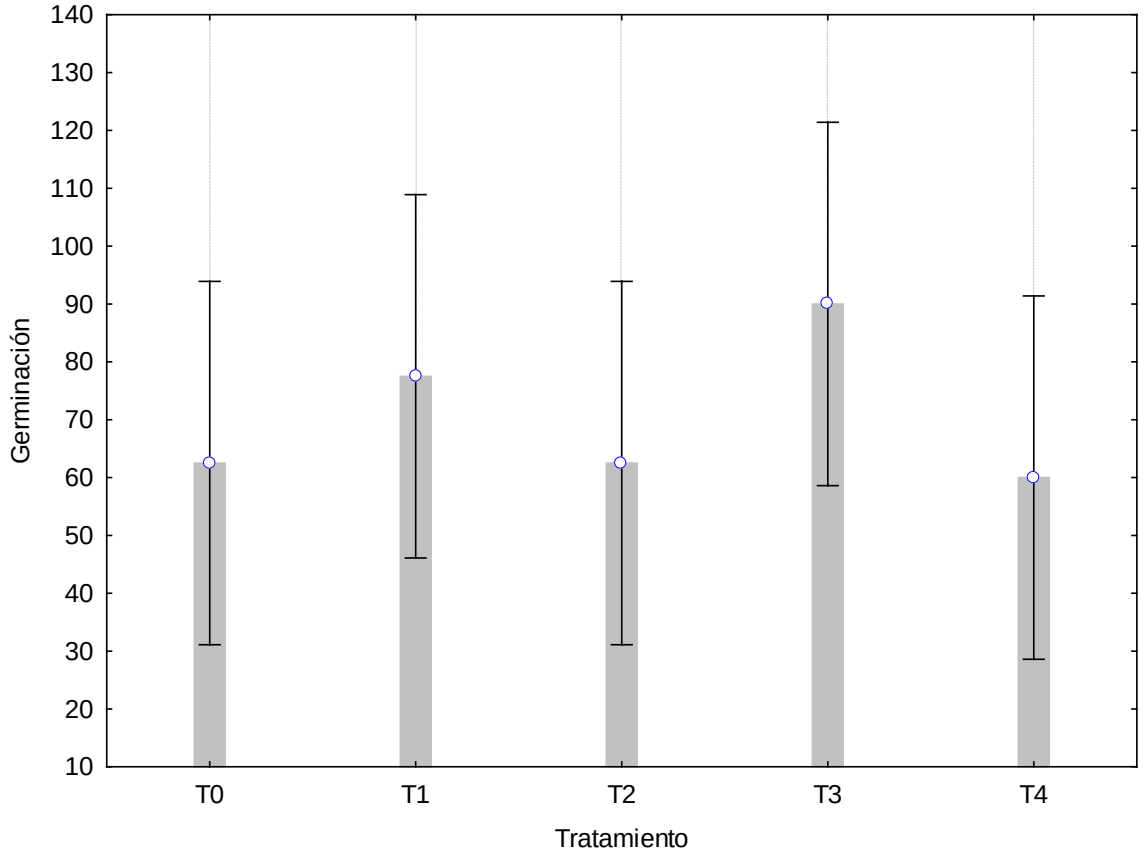

Figura 18. Porcentaje de germinación a los 60 días de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según prueba de Tukey.

Se analizó las variable dependiente porcentaje de germinación junto con la variable independiente tratamiento a los 90 días, no se encontró diferencias significativas entre tratamiento y germinación (Cuadro 12 y figura 19).

Cuadro 12. Resultado del análisis de varianza de la germinación entre tratamientos a los 90 días.

Factor	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Germinación	108045.0	1	108045.0	114.7381	0.000000
Tratamiento	2330.0	4	582.5	0.6186	0.656093
Error	14125.0	15	941.7		

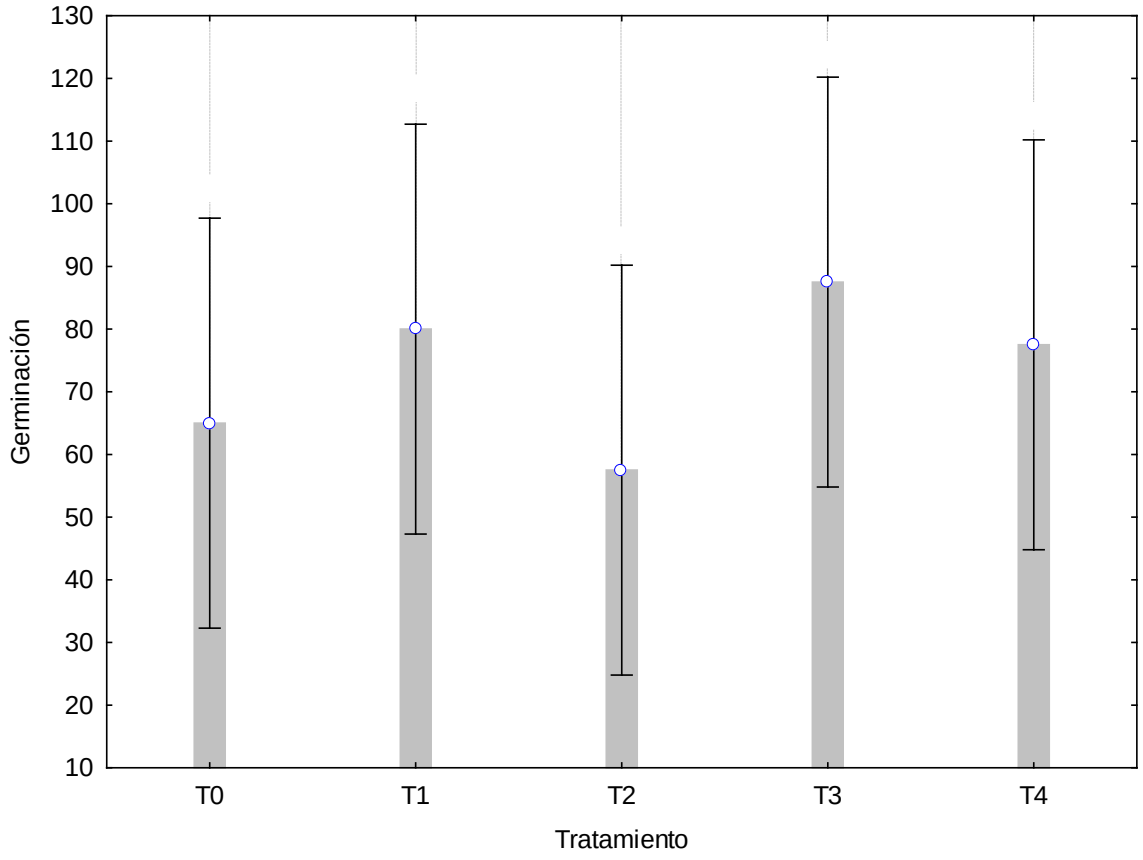

Figura 19. Porcentaje de germinación a los 90 días de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según prueba de Tukey.

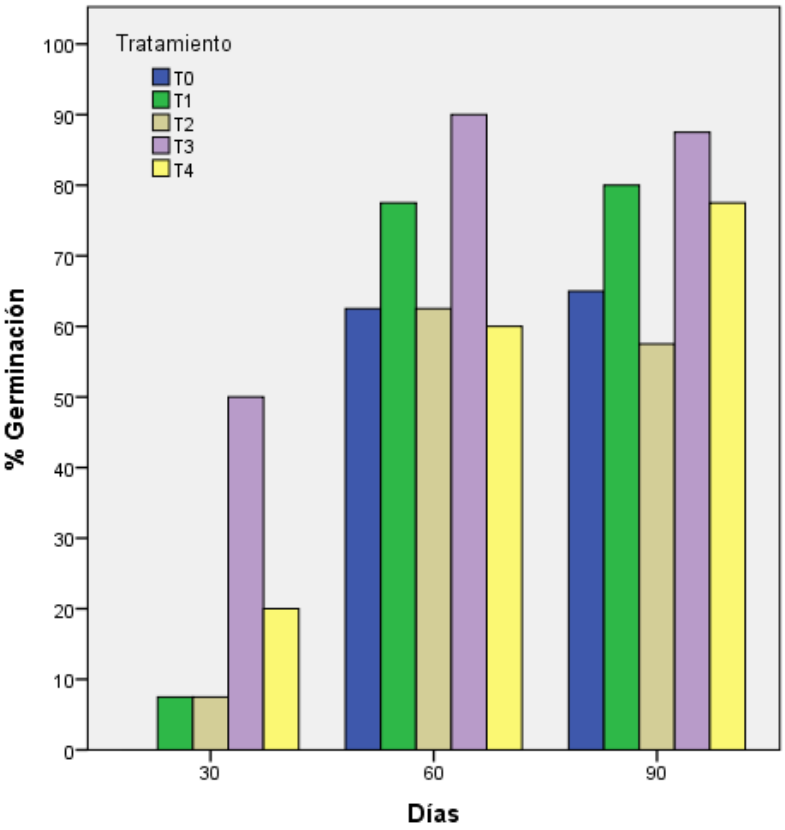

Figura 20. Porcentaje de Germinación a los 30, 60 y 90 días en cada tratamiento

En la figura 20 se puede comparar la germinación acumulada registrada a los 30, 60 y 90 días dentro de cada tratamiento. Se observa que dentro de los primeros 30 días el tratamiento T3 obtuvo el mayor porcentaje; a los 60 la germinación entre los tratamientos fue bastante cercana y los tratamientos T1, T0 y T2; presentaron su mayor germinación en el experimento. A los 90 días la mayoría de los tratamientos no presentó germinación exceptuando al tratamiento T4 y T1, la mayor parte de la germinación del tratamiento T4 ocurrió después de los 60 días.

El tratamiento con un promedio de altura mayor al final del experimento fue el T2 con 38.75 cm, sin embargo el T3 y T4 también presentó alturas similares en sus plantas al final del experimento, 37.7 cm y 36.62 cm respectivamente, con la diferencia de que alcanzaron una mayor altura que los otros tratamientos en menor tiempo y se mantuvieron con ese desarrollo constante (Fig. 21).

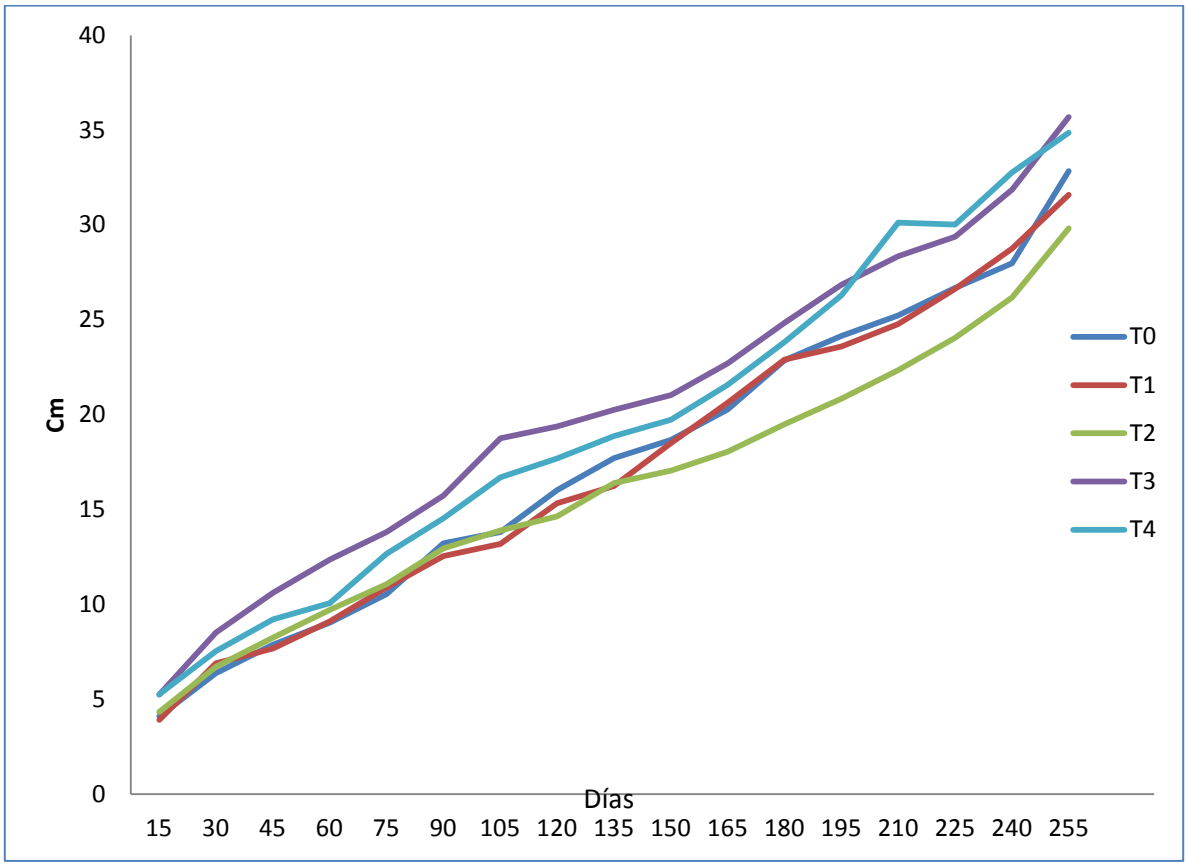

Figura 21. Valores promedio de la altura en las plantas de *Citrus aurantium*

Se analizó la variable dependiente altura y las variables independientes tratamiento y días. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre los tratamientos. Una prueba *a posteriori* de Tukey encontró que los tratamientos T3 y T4 son distintos al resto de los tratamientos (cuadro 13 y figura 22).

Cuadro 13. Resultado del Análisis de Varianza para la altura de las plantas entre tratamientos.

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Cuadrados medios	F	p
Tratamiento	4894.4	4	1223.6	34.530	0.000
Días	149913.8	17	8818.5	248.890	0.000
Error	82164.6	2319	35.4		

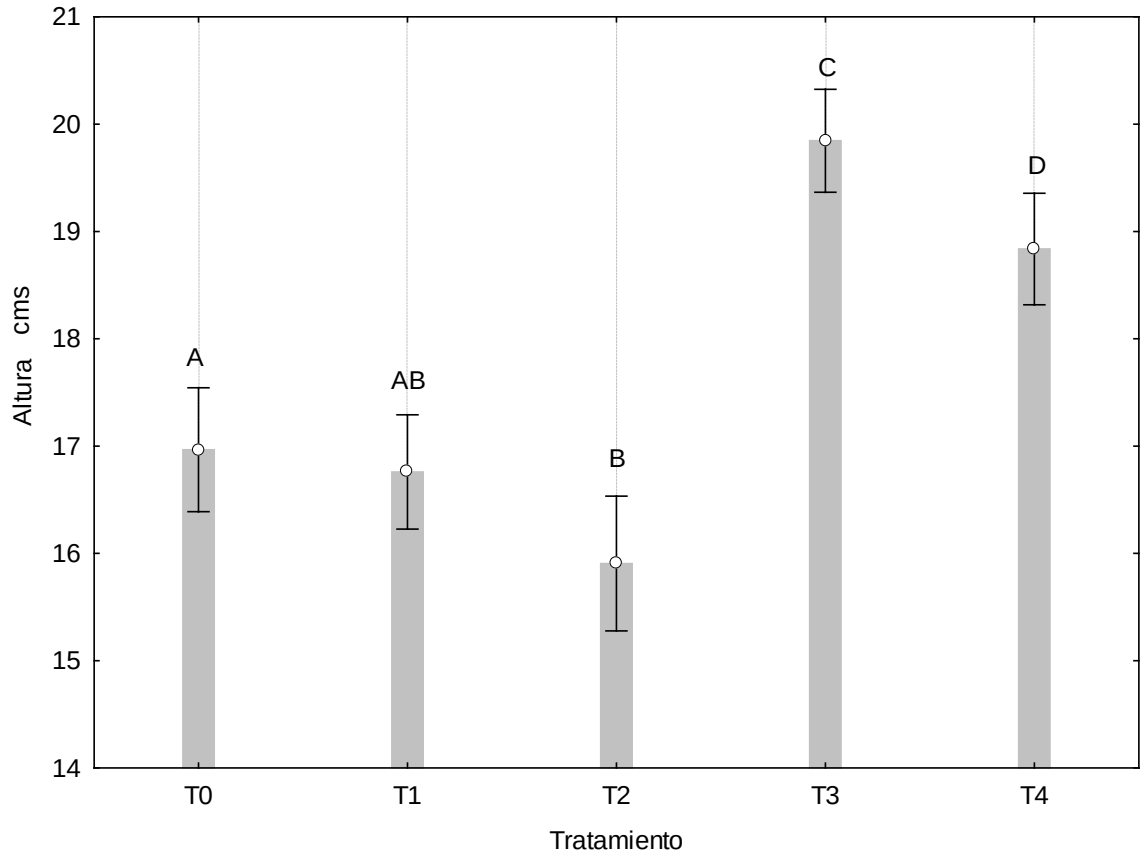

Figura 22. Altura promedio en centímetros de los distintos tratamientos. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey.

Se analizó la variable dependiente altura y la variable independiente tratamiento a los 30 días. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre los tratamientos. Una prueba *a posteriori* de Tukey encontró que el tratamiento T3 y es distintos al resto de los tratamientos pero similar al T4 (cuadro 14 y figura 23).

Cuadro 14 Resultado del análisis de varianza de la altura de las plantas entre tratamientos a los 30 días

Factor	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Altura	8926.7	4	2,231.70	3.3	0.01835
Tratamiento	2343.3	8	292.9	0.4	0.89366
Error	30300	45	673.3		

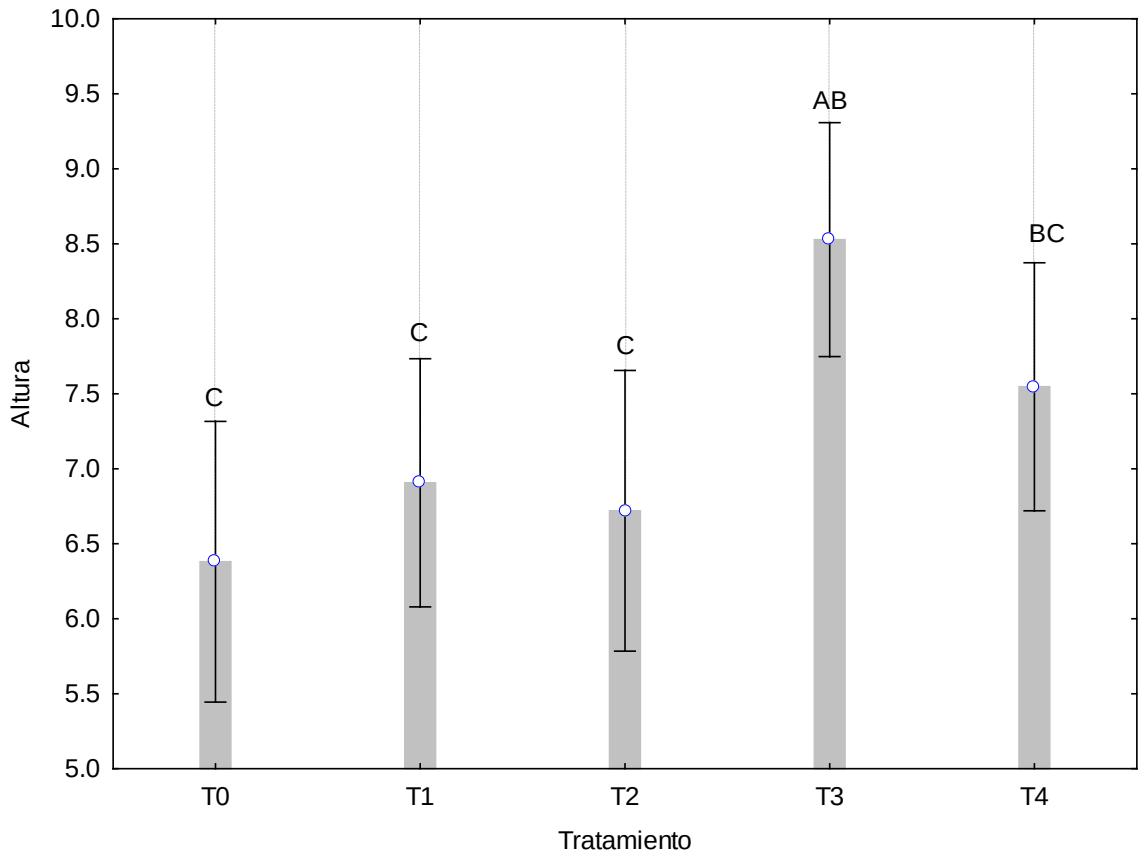

Figura 23 Altura promedio en centímetros de los distintos tratamientos a los 30 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey.

Se analizó la variable dependiente altura y la variable independiente tratamiento a los 135 días. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre los tratamientos. Una prueba *a posteriori* de Tukey encontró diferencias entre el tratamiento T3 y T1, pero no con T3 y el resto de los tratamientos (cuadro 15 y figura 24).

Cuadro 15 Resultado del análisis de varianza de la altura de las plantas a los 135 días.

Factor	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Altura	42656.53	1	42656.53	1424.583	0.000000
Tratamiento	336.20	4	84.05	2.807	0.028191
Error	3982.44	133	29.94		

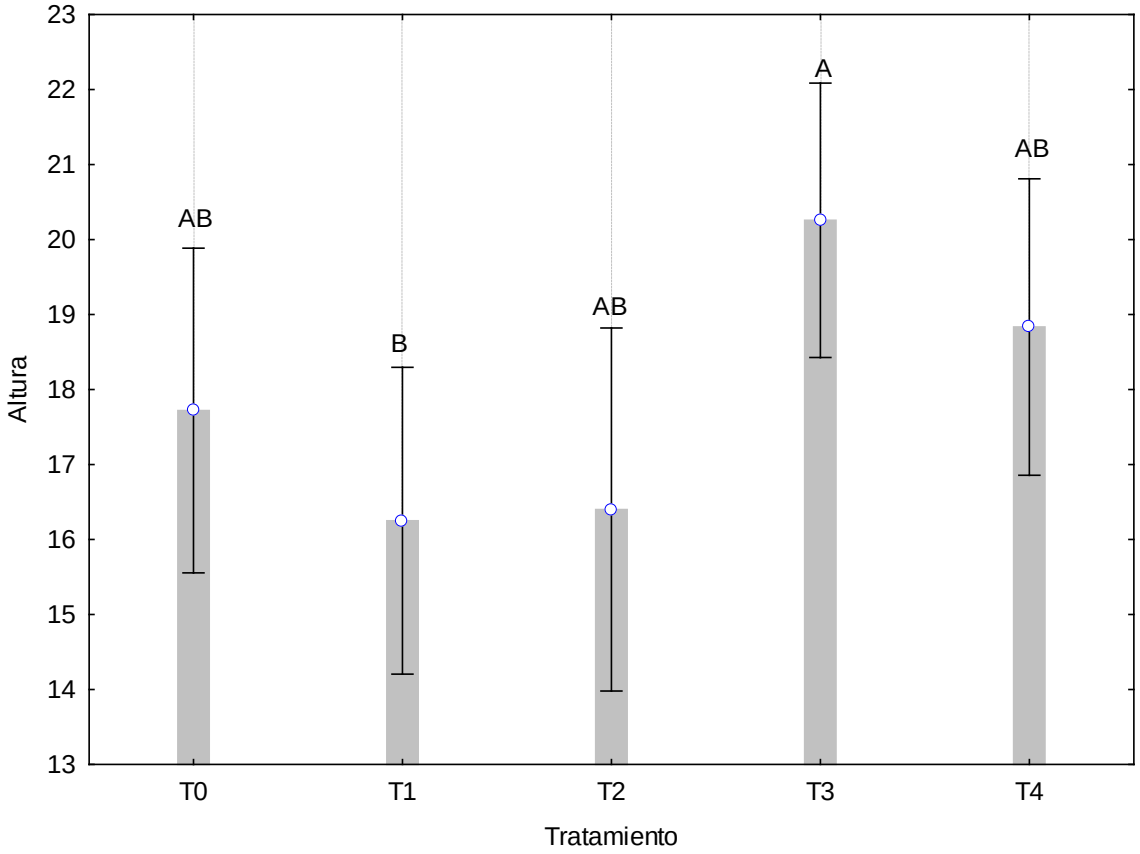

Figura 24 Altura promedio en centímetros de los distintos tratamientos a los 135 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey.

Se analizó la variable dependiente altura y la variable independiente tratamiento a los 255 días. El análisis de varianza no detectó diferencias significativas entre los tratamientos (cuadro 16 y figura 25).

Cuadro 16. Resultado del análisis de varianza de la altura de las plantas de los 255 días.

Factor	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Altura	77177.90	1	77177.90	754.3443	0.000000
Tratamiento	365.56	4	91.39	0.8933	0.472640
Error	7264.10	71	102.31		

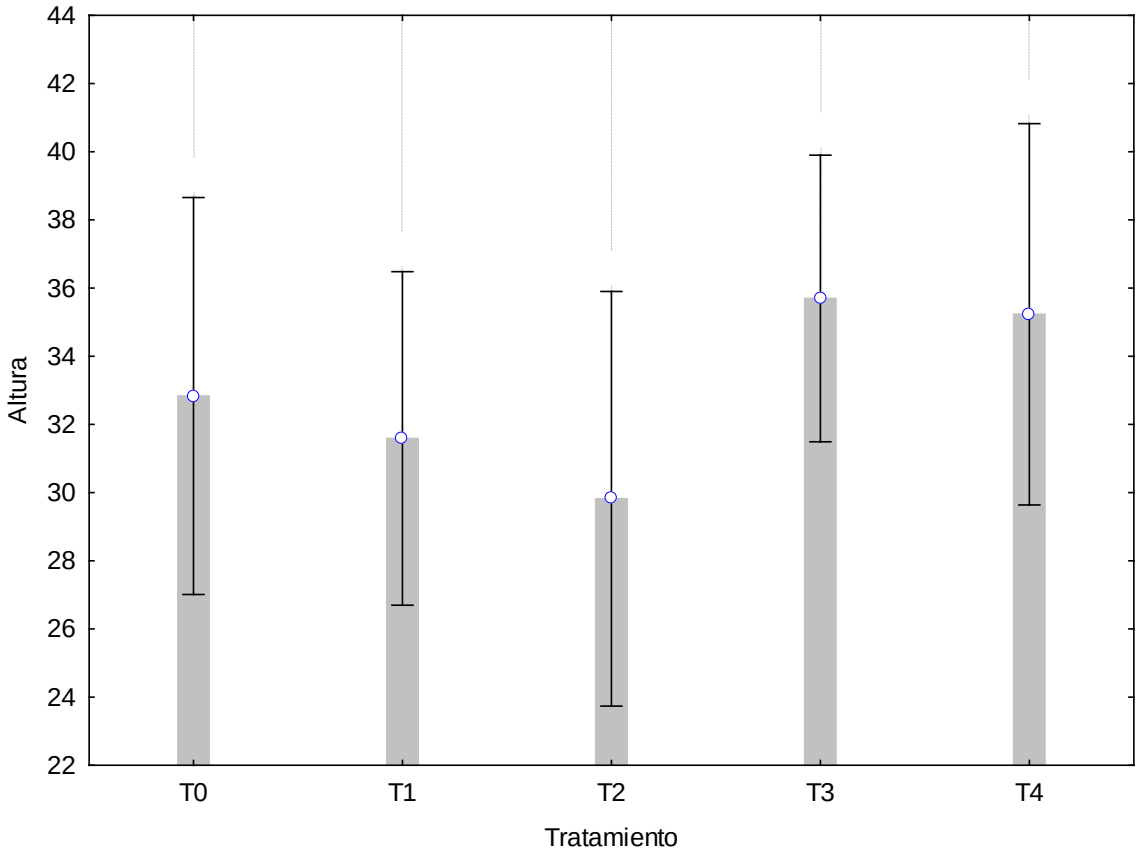

Figura 25 Altura promedio en centímetros de los distintos tratamientos a los 30 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey.

Los datos del diámetro de las plantas registrados durante el periodo de tiempo de experimento de campo reflejan un mayor desarrollo de tallo para los tratamiento T0, T2 y T3, un diámetro de 0.49 cm promedio, siento el tratamiento T3 el que muestra un mayor incremento en el diámetro del tallo de las plantas en un periodo de tiempo más corto. El tratamiento con menor grosor de tallo fue el T1 (0.45 cm). Los datos presentados en la siguiente figura son promedios de los registros obtenidos por tratamiento (Fig. 26).

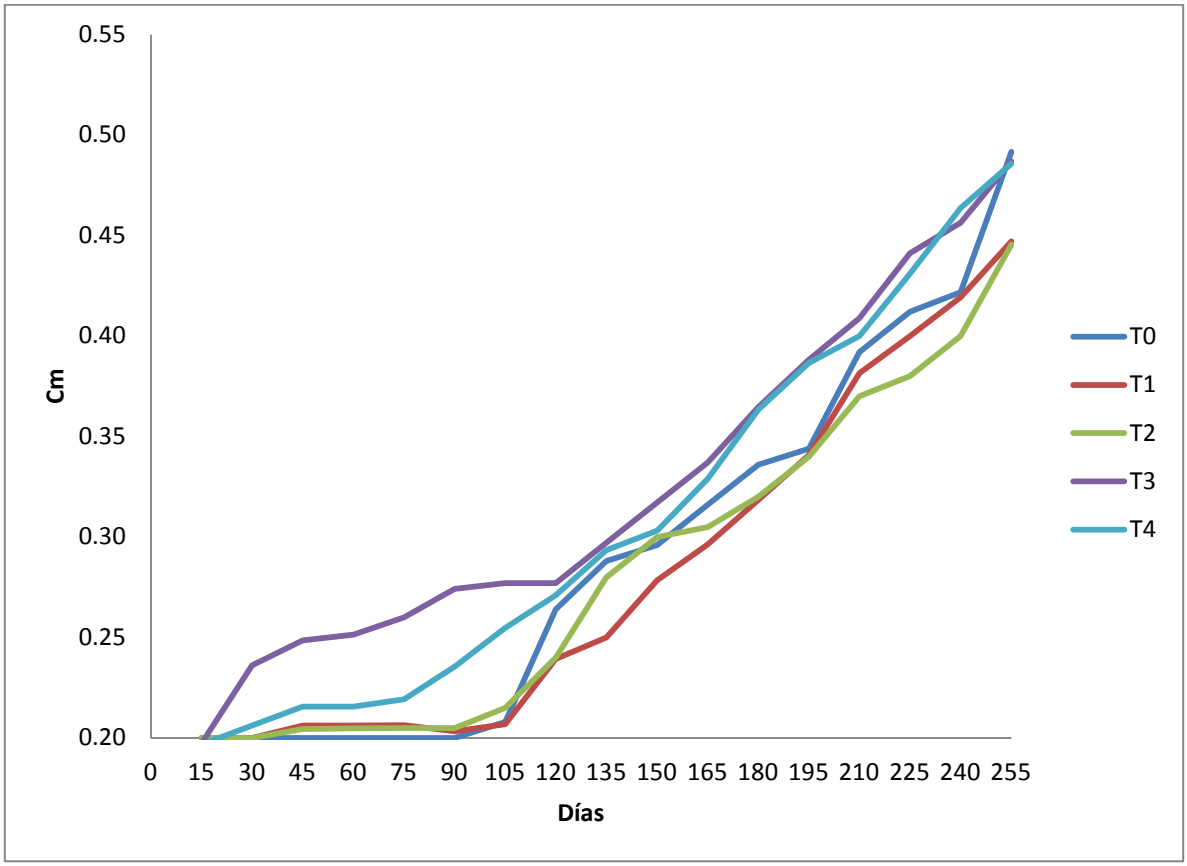

Figura 26. Diámetros (cm) promedio de los tallos de las plantas por tratamiento.

Se analizó los datos recabados durante todo el experimento de la variable dependiente diámetro y las variables independientes tratamiento y días. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Una prueba *a posteriori* de Tukey encontró que los tratamientos T3 y T4 son distintos al resto de los tratamientos (Cuadro 17 y Figura 27).

Cuadro 17. Resultado del Análisis de Varianza para el diámetro de los tallos entre tratamientos.

	Suma de cuadrados	G. l.	Cuadrados medios	F	p
Tratamiento	0.654	4	0.164	34.600	0.000000
Días	16.351	17	0.962	203.590	0.000000
Error	10.956	2319	0.005		

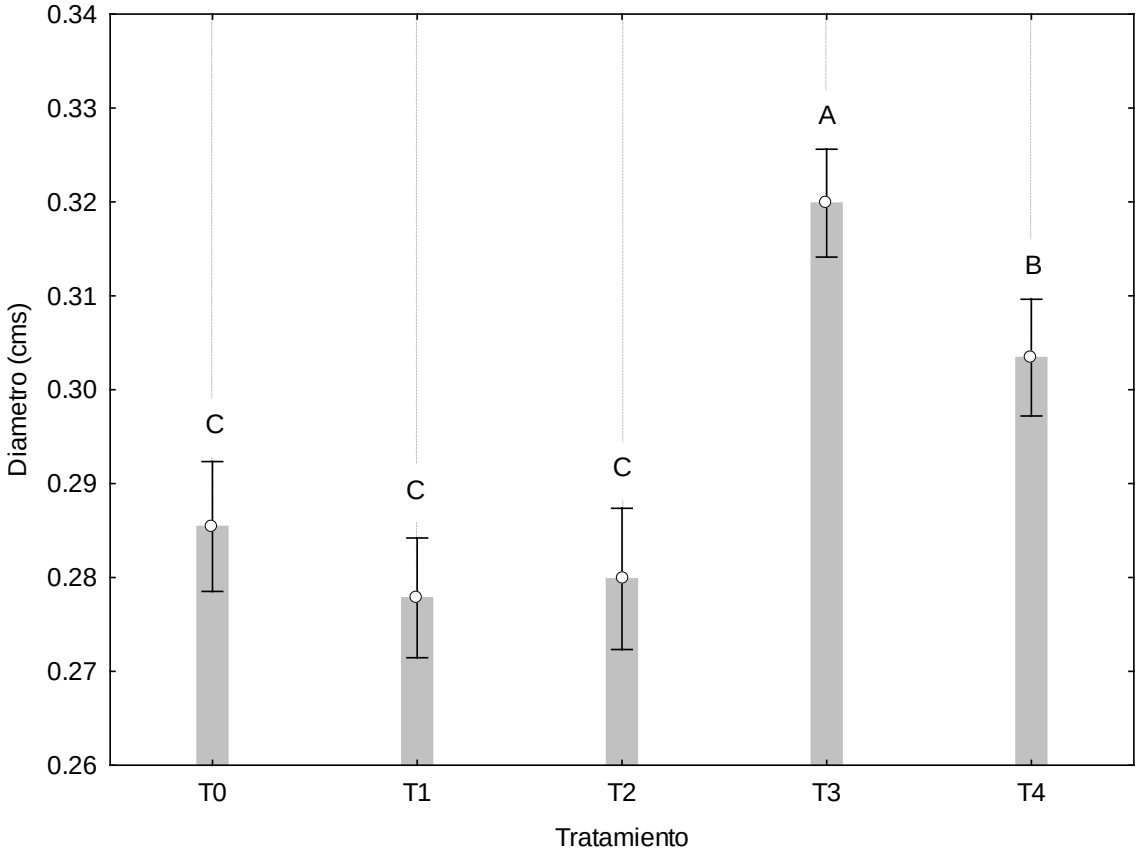

Figura 27. Diámetro promedio en centímetros de los tallos de las plantas entre los tratamientos. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey

Se analizó la variable dependiente diámetro a los 30 días y la variable independiente tratamiento. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Una prueba *a posteriori* de Tukey encontró que lo tratamiento T3 y el resto de los tratamientos son distintos (Cuadro 18 y Figura 28).

Cuadro 18. Resultado del análisis de varianza del diámetro del tallo entre tratamientos a los 30 días.

Factor	Suma de Cuadrados	G. L.	Cuadrados medios	F	p
Diámetro	6.380848	1	6.380848	7595.902	0.000000
Tratamiento	0.033194	4	0.008299	9.879	0.000000
Error	0.121806	145	0.000840		

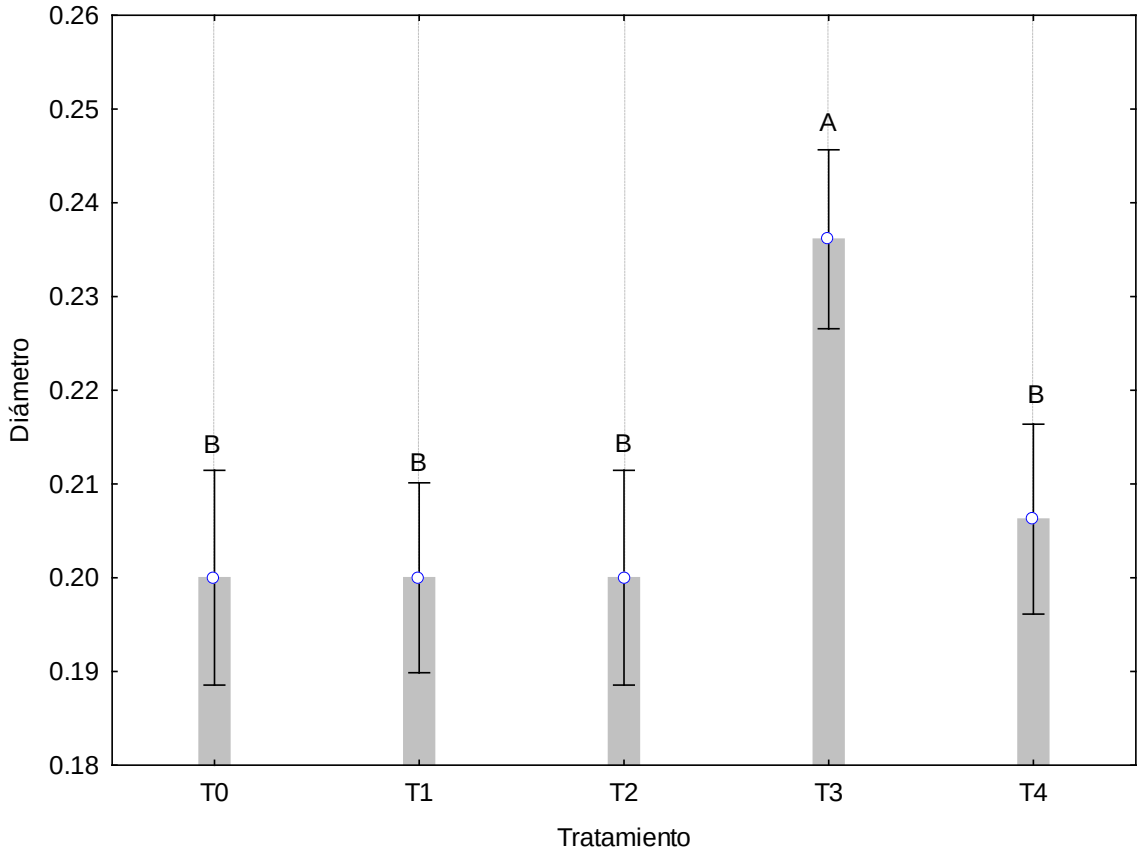

Figura 28. Diámetro promedio en centímetros de los tallos de las plantas entre los tratamientos a los 30 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey.

Se analizó la variable dependiente diámetro a los 135 días y la variable independiente tratamiento. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Una prueba *a posteriori* de Tukey encontró que los tratamiento T3 y el T1 son distintos entre sí pero no con T0, T2 y T4 (Cuadro 19 y Figura 29).

Cuadro 19. Resultado del análisis de varianza del diámetro del tallo a los 135 días.

Factor	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Diámetro	10.52359	1	10.52359	2567.604	0.000000
Tratamiento	0.03960	4	0.00990	2.415	0.051939
Error	0.54511	133	0.00410		

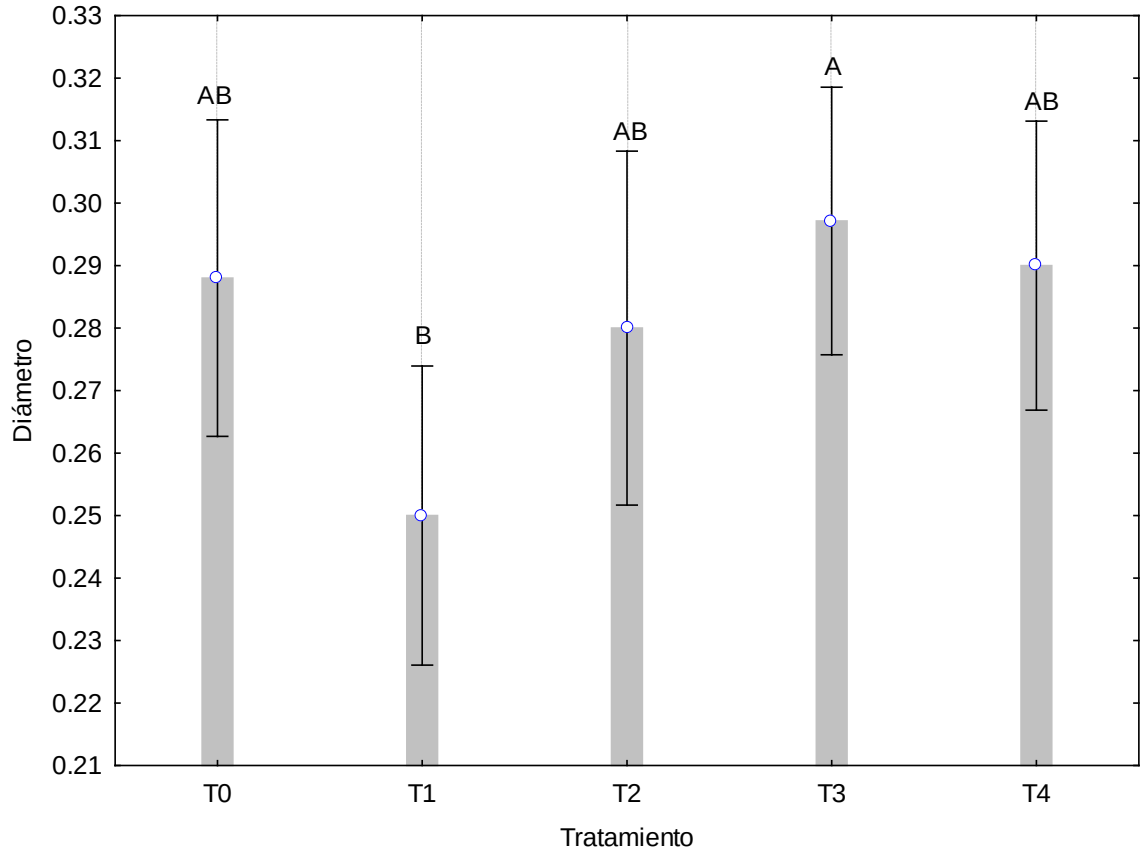

Figura 29. Diámetro promedio en centímetros de los tallos de las plantas entre los tratamientos a los 135 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey.

Se analizó la variable dependiente diámetro y la variable independiente tratamiento a los 255 días. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. (Cuadro 20 y Figura 30).

Cuadro 20. Resultado del análisis de varianza del diámetro de los tallos a los 255 días.

Factor	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Diámetro	15.70037	1	15.70037	943.2425	0.000000
Tratamiento	0.03017	4	0.00754	0.4532	0.769764
Error	1.18180	71	0.01665		

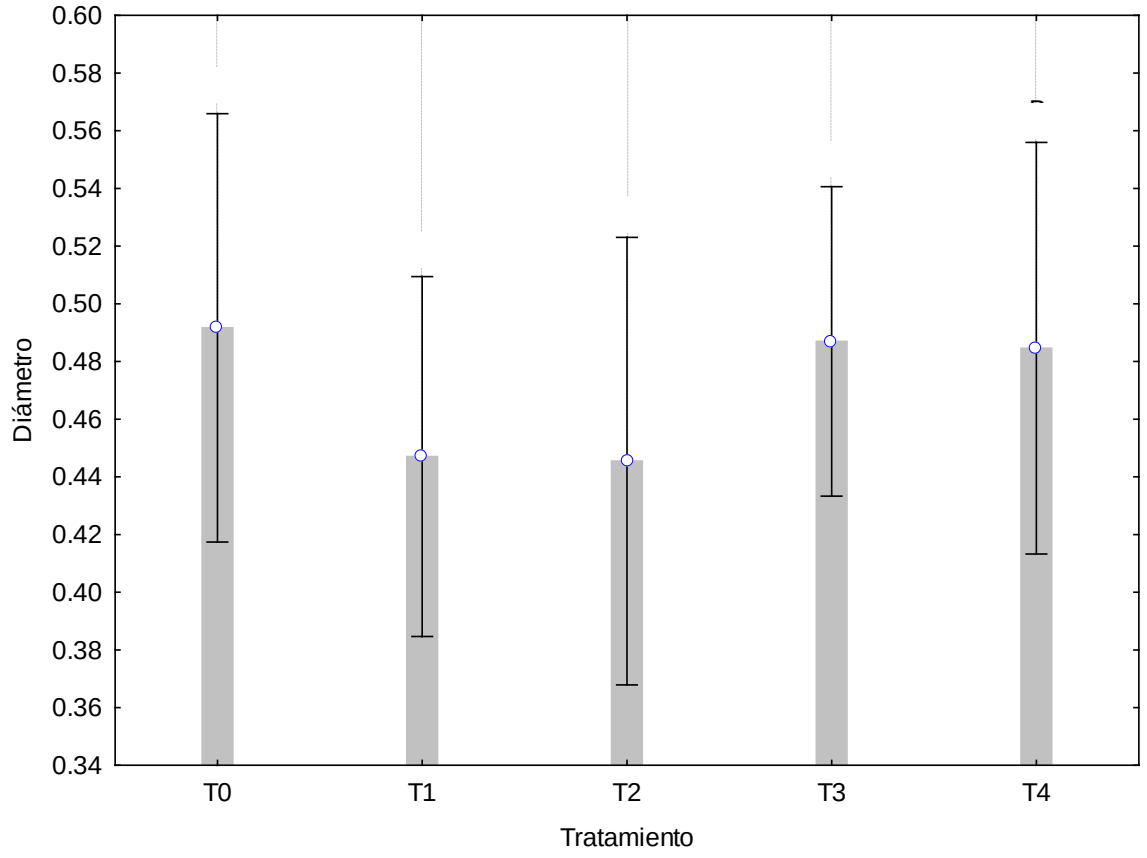

Figura 30. Diámetro promedio en centímetros de los tallos de las plantas entre los tratamientos a los 255 días. Columnas con letras distintas son significativamente distintas según prueba de Tukey.

Se seleccionó una muestra de ocho plantas de cada tratamiento para tomar las mediciones de fluorescencia y clorofila. El tratamiento que arrojó resultados más altos en estos dos parámetros fue el T4 con resultados promedios de 0.8020 Fv/m para fluorescencia y 49.19 SPAD para clorofila. El tratamiento con valores más bajos en florescencia fue el T2 (0.7481 Fv/M) y en clorofila el T0 (43.58 SPAD) (Fig. 31 y 32).

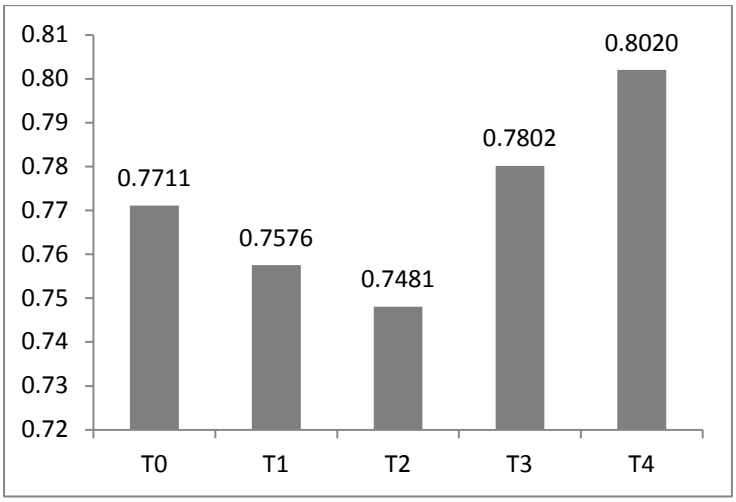

Figura 31. Valores de fluorescencia de acuerdo a los distintos tratamientos (Fv/m)

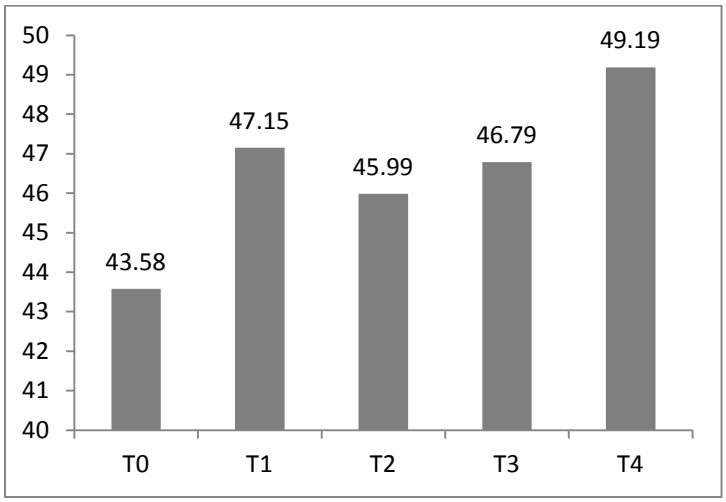

Figura 32. Valores promedio de clorofila de acuerdo a los distintos tratamientos (SPAD).

Se analizaron la variable dependiente clorofila junto con las variables dependientes tratamiento y bloques, se encontró que hay diferencias significativas entre los tratamientos(Cuadro 21).

Cuadro 21. Resultado del análisis de varianza para la clorofila de las hojas entre tratamientos.

Factor	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Tratamiento	661.6	4	165.4	3.127	0.016
Bloque	361.2	3	120.4	2.276	0.08
Tratamiento*Bloque	927.8	12	77.3	1.462	0.142
Error	9522.5	180	52.9		

No hay diferencias significativas entre los tratamientos T4, T1, T2 y T3, pero si hay entre el T4 y el T0. El tratamiento que mostró una mayor cantidad de clorofila en sus resultados es el tratamiento T4, seguido del tratamiento T1 y T3 (Fig. 33).

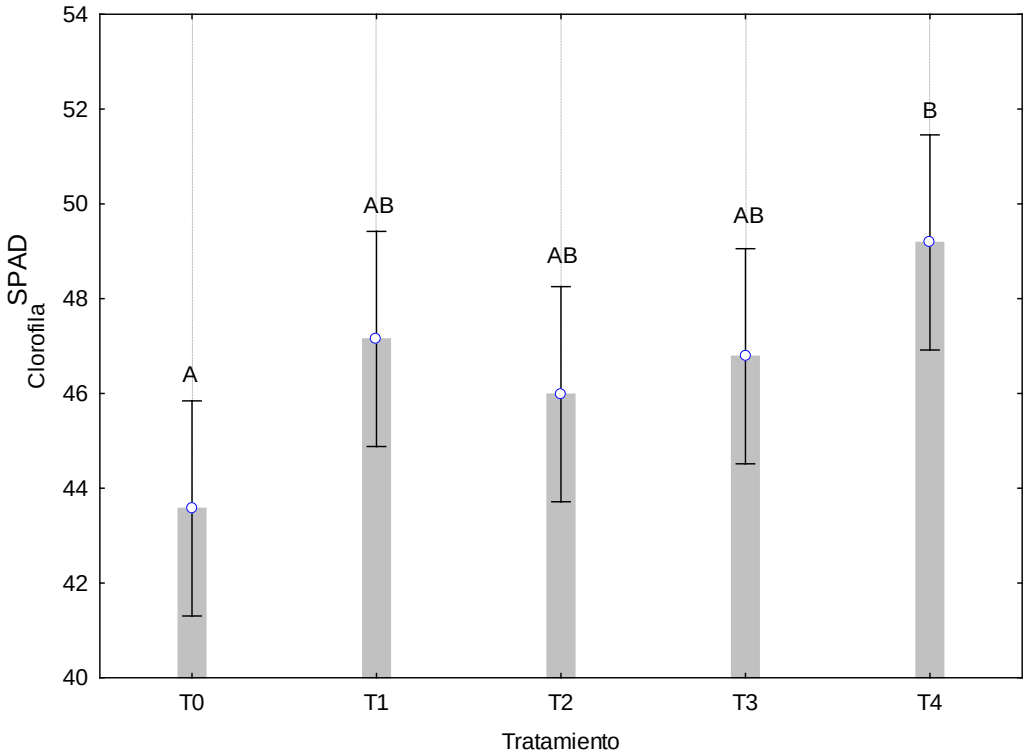

Figura 33. Producción de clorofila de los distintos tratamientos al finalizar el experimento. Columnas con letras distintas son significativamente diferentes según prueba de Tukey.

La comparación de clorofila producida por las plantas en cuanto a los bloques muestra que el bloque 1 del tratamiento T1 y T4 tienen una ligera ventaja sobre los otros bloques, sobre todo el bloque 3 (Fig. 34).

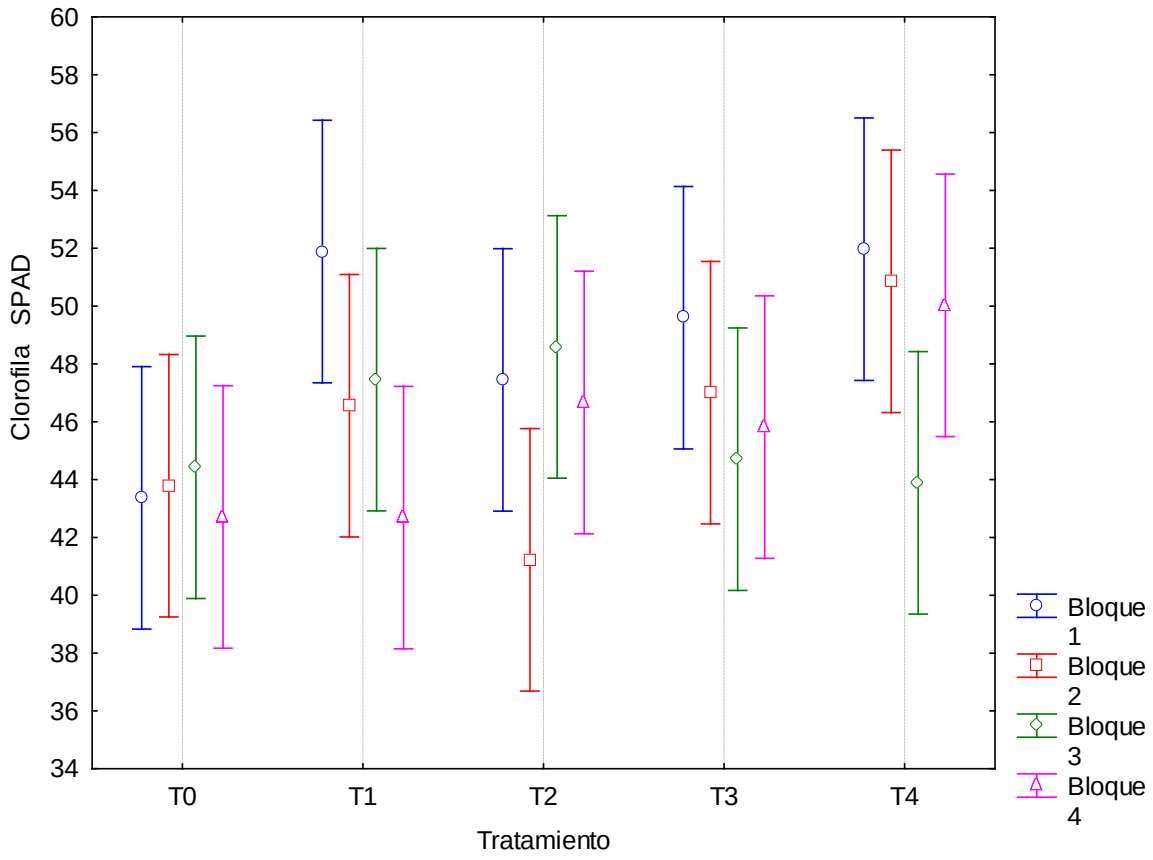

Figura 34. Producción de clorofila en los cuatro bloques dentro de los tratamientos al finalizar el experimento.

Para determinar la biomasa se consideró el peso seco de la planta completa al horno durante 48 horas. Se observa que el tratamiento T3 tiene un resultado promedio mayor (10.18 g) en cuanto al resto de los tratamientos (Fig. 35).

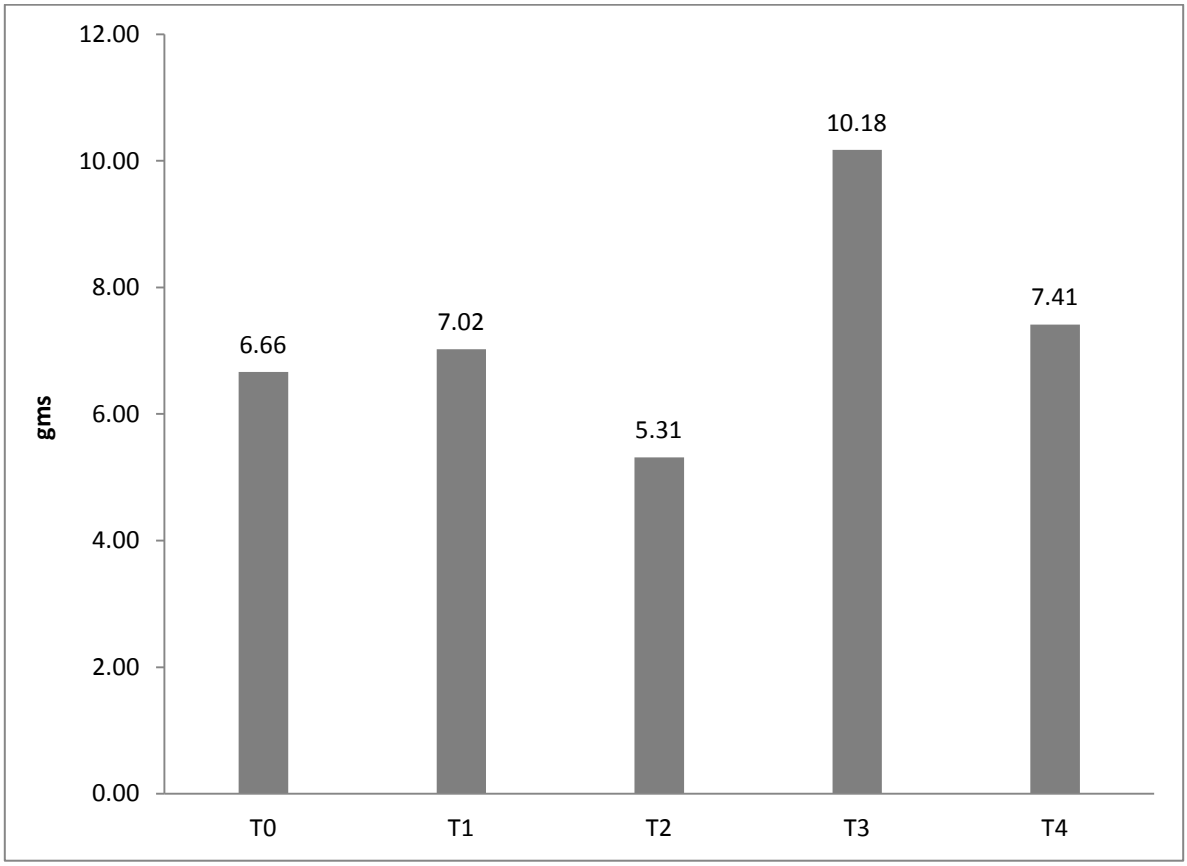

Figura 35. Peso seco promedio de la planta completa por tratamiento.

Se analizó la variable dependiente biomasa junto con las variables independientes tratamiento y bloques, y se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 22).

Cuadro 22. Resultado del análisis de varianza para la biomasa de las plantas entre tratamientos

Factor	Suma de cuadrados	Grados libertad	Cuadrados medios	F	p
Tratamiento	96.709	4	24.177	30.770	0.000
Bloque	9.260	3	3.087	3.928	0.023
Tratamiento*Bloque	315.061	12	26.255	33.414	0.000
Error	15.715	20	0.786		

El tratamiento con mayor producción de biomasa se observa en T3 (10.18 gms), seguido por el tratamiento T4 (7.41 gms). Los tratamientos T1 y T4 no presentan diferencias significativas entre ellos, así como el T0; pero si con el T2 que fue el que obtuvo el valor más bajo de 5.31 gms (Fig. 36).

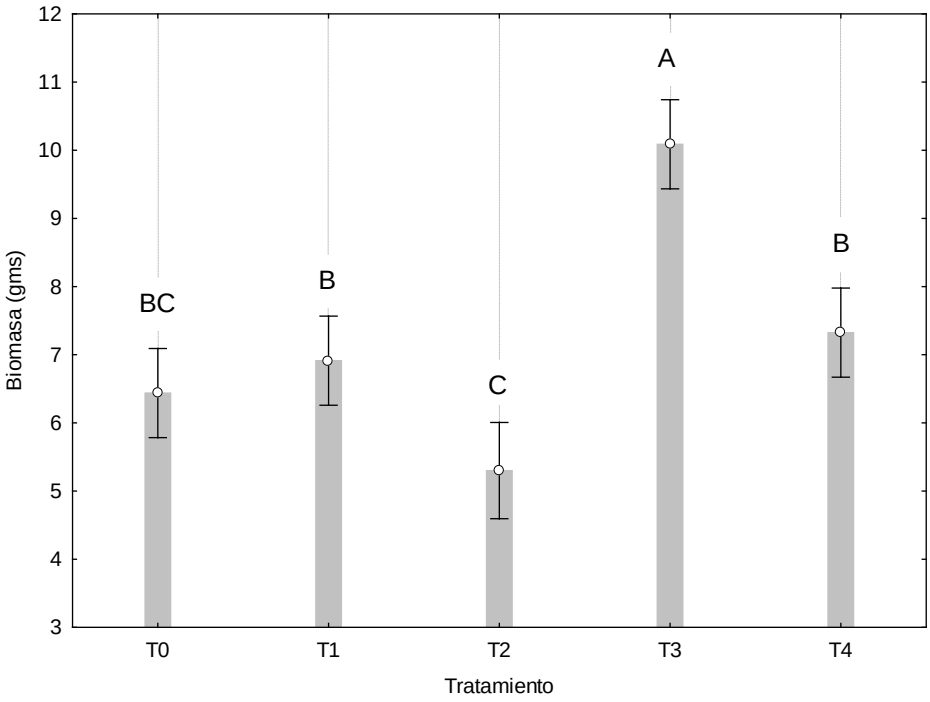

Figura 36. Producción de biomasa de los distintos tratamientos al finalizar el experimento. Columnas con letras distintas son significativamente diferentes según prueba de Tukey.

El promedio de la longitud de las raíces en las plantas de la muestra fueron muy cercanos. El tratamiento T1 y T3 se encuentran en un rango de 28 centímetros en promedio (Fig. 37).

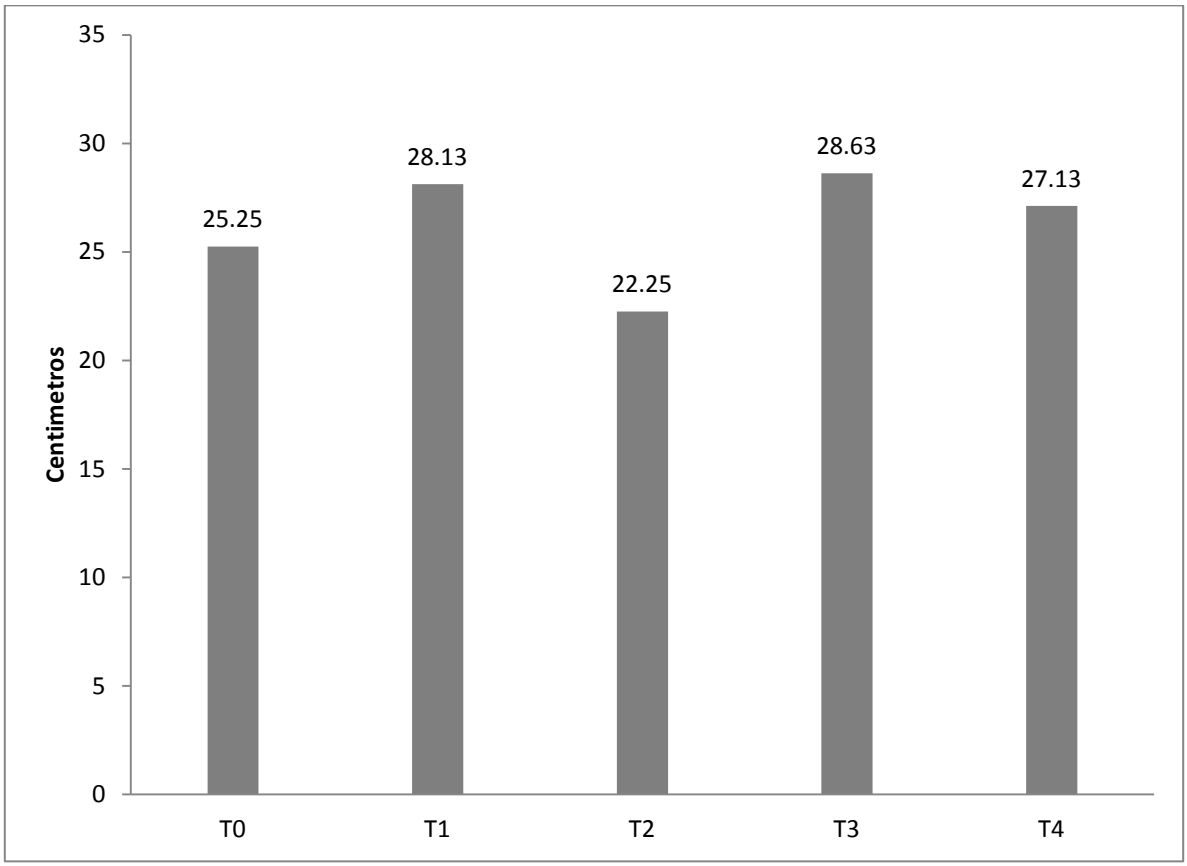

Figura 37. Largo de raíz promedio de los distintos tratamientos.

Se analizó la variable dependiente Largo Raíz y las variables independientes Tratamiento y Bloques. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos y bloques. Sin embargo, los tratamientos T3 y T1 obtuvieron los resultados más altos de 28.63 y 28.13 cm respectivamente, seguido del tratamiento T4 con 27.13 cm, el T0 con 25.25 y por último el T2 con 22.25 cm (Cuadro 23 y figura 38).

Cuadro 23. Resultado del análisis de varianza del largo de raíz entre tratamientos

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Cuadrados medios	F	p
Tratamiento	215.35	4	53.84	1.3269	0.294295
Bloque	126.08	3	42.03	1.0357	0.398128
Tratamiento*Bloque	1105.05	12	92.09	2.2696	0.050717
Error	811.50	20	40.58		

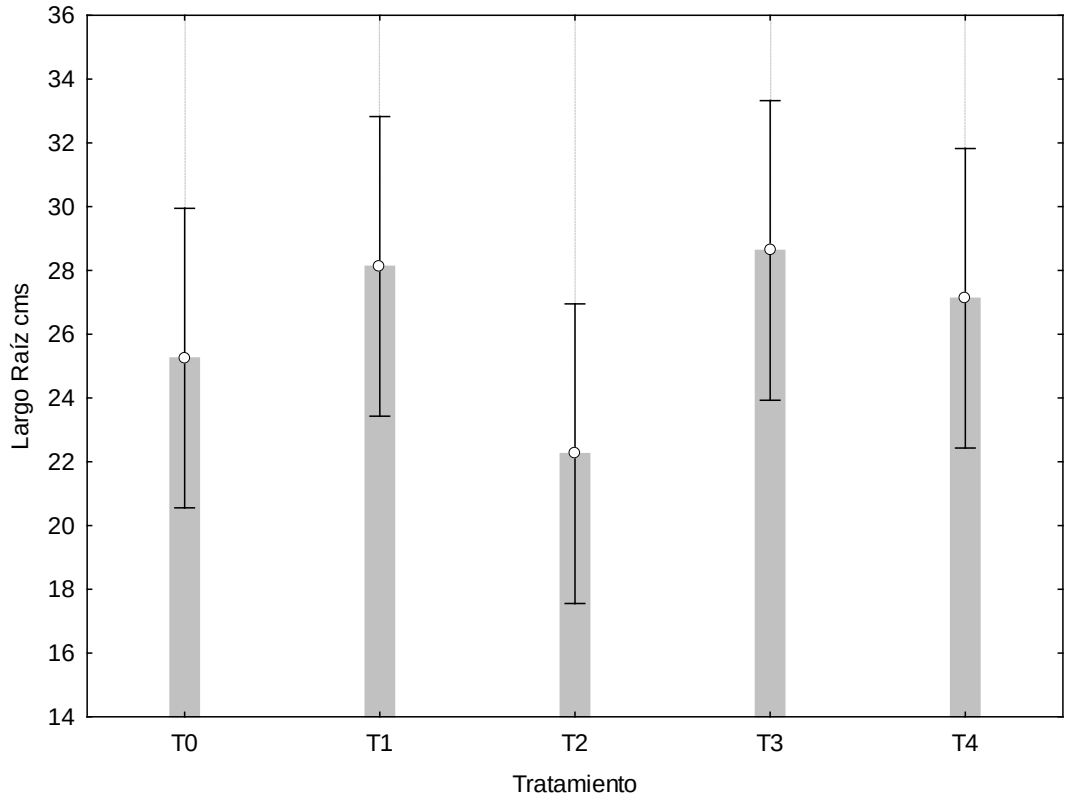

Figura 38. Largo promedio de raíz de los distintos tratamientos al finalizar el experimento. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

El largo promedio de raíz de los diferentes tratamientos muestran cantidades similares, el T4 tiene una ligera diferencia entre los bloques 4 y 3 (Fig. 39).

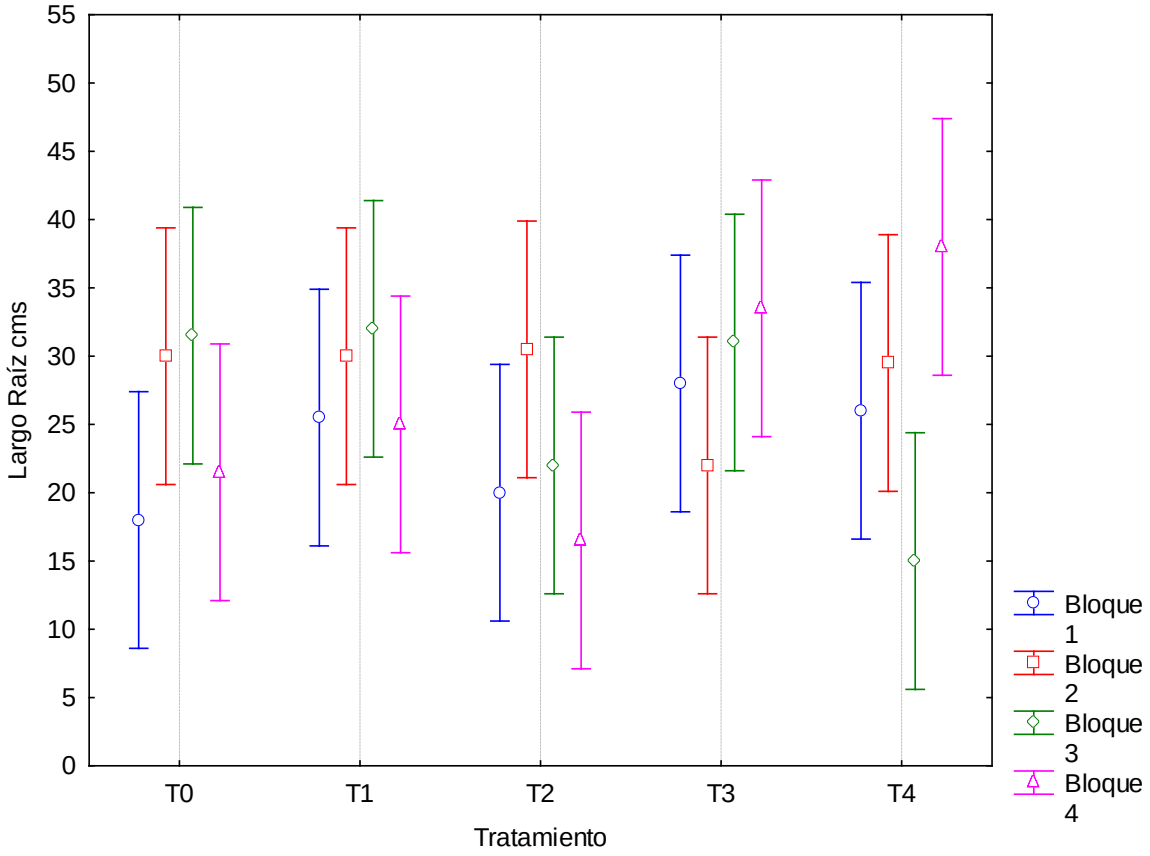

Figura 39. Efecto de los bloques en los distintos tratamientos en el largo promedio de raíz de las plantas al finalizar el experimento.

Se analizó la variable dependiente Área Foliar y las variables independientes Tratamiento y Bloques. Se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos. Una prueba *a posteriori* de Tukey mostró las diferencias en los tratamientos T3 con T0 y T2, no habiendo diferencias significativas del T1 con todos los demás tratamientos. Los valores registrados para el área foliar de los distintos tratamientos en orden decreciente es: T3 con 141.44 cm^2, T4 con 126.96 cm^2, T1 con 105.59 cm^2, T2 con 100. 23 cm^2 y T0 con 80.83 cm^2 (Cuadro 24 y fig. 40).

Cuadro 24. Resultado del análisis de varianza para área foliar de las plantas entre tratamientos

	Suma de cuadrados	Grados libertad	Cuadrados medios	F	p
Tratamiento	17896.5	4	4474.1	6.5126	0.001589
Bloque	3730.5	3	1243.5	1.8101	0.177796
Tratamiento*Bloque	18652.7	12	1554.4	2.2626	0.051348
Error	13739.9	20	687.0		

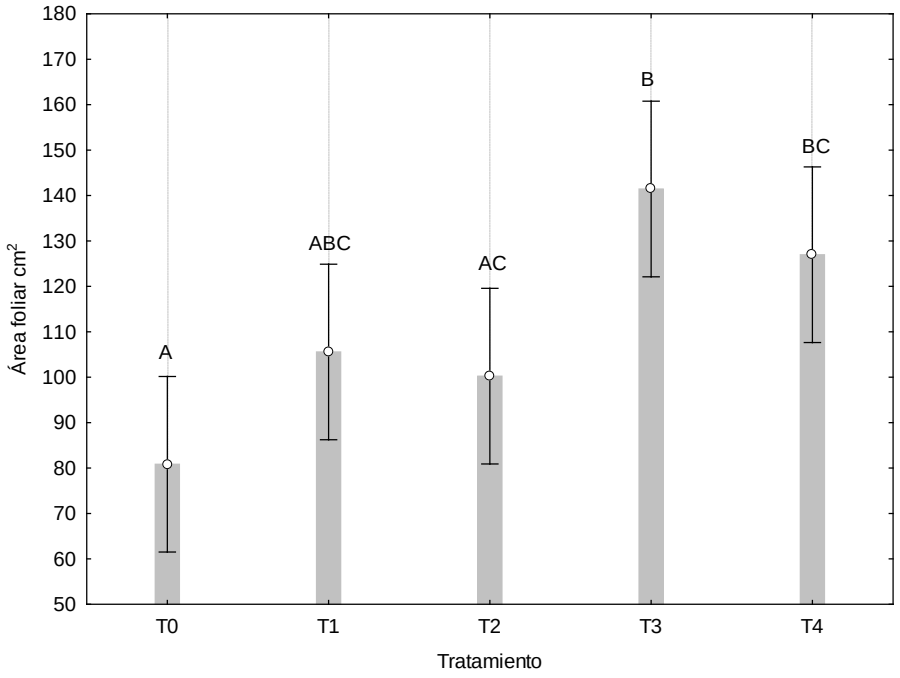

Figura 40. Área foliar de los distintos tratamientos al finalizar el experimento. Columnas con letras distintas son significativamente diferentes según prueba de Tukey.

Los resultados del análisis de metales pesados en las hojas de las plantas mostraron presencia de metales pesados indiferentemente del tratamiento aplicado (cuadro 25 y fig. 41).

Cuadro 25. Resultados del análisis de metales pesados en hojas de *Citrus aurantium.*

Tratamiento	Cd, ppm	Cr, ppm	Cu, ppm	Fe, ppm	Ni, ppm	Pb, ppm	Zn, ppm
T1	1.490	1.911	21.560	216.700	0.976	30.410	26.790
T1	0.000	2.247	16.900	172.200	0.498	28.700	45.500
T1	2.671	4.368	2.094	21.300	0.000	0.000	0.000
T2	0.740	0.000	8.836	406.800	0.776	36.620	57.250
T2	0.018	1.244	10.130	329.300	0.000	13.140	39.790
T2	0.804	2.003	12.720	150.200	1.934	0.000	46.240
T3	1.318	0.834	15.630	319.000	0.000	3.518	46.130
T3	0.087	0.000	8.312	284.400	4.696	17.960	30.790
T3	0.101	0.000	13.650	276.400	2.037	0.000	43.410
T4	1.667	0.000	7.474	262.600	1.318	8.579	51.770
T4	0.924	0.000	13.410	311.000	0.000	10.780	34.480
T4	0.919	2.145	23.240	268.000	2.756	1.668	39.990

Fuente: Propia,2017.

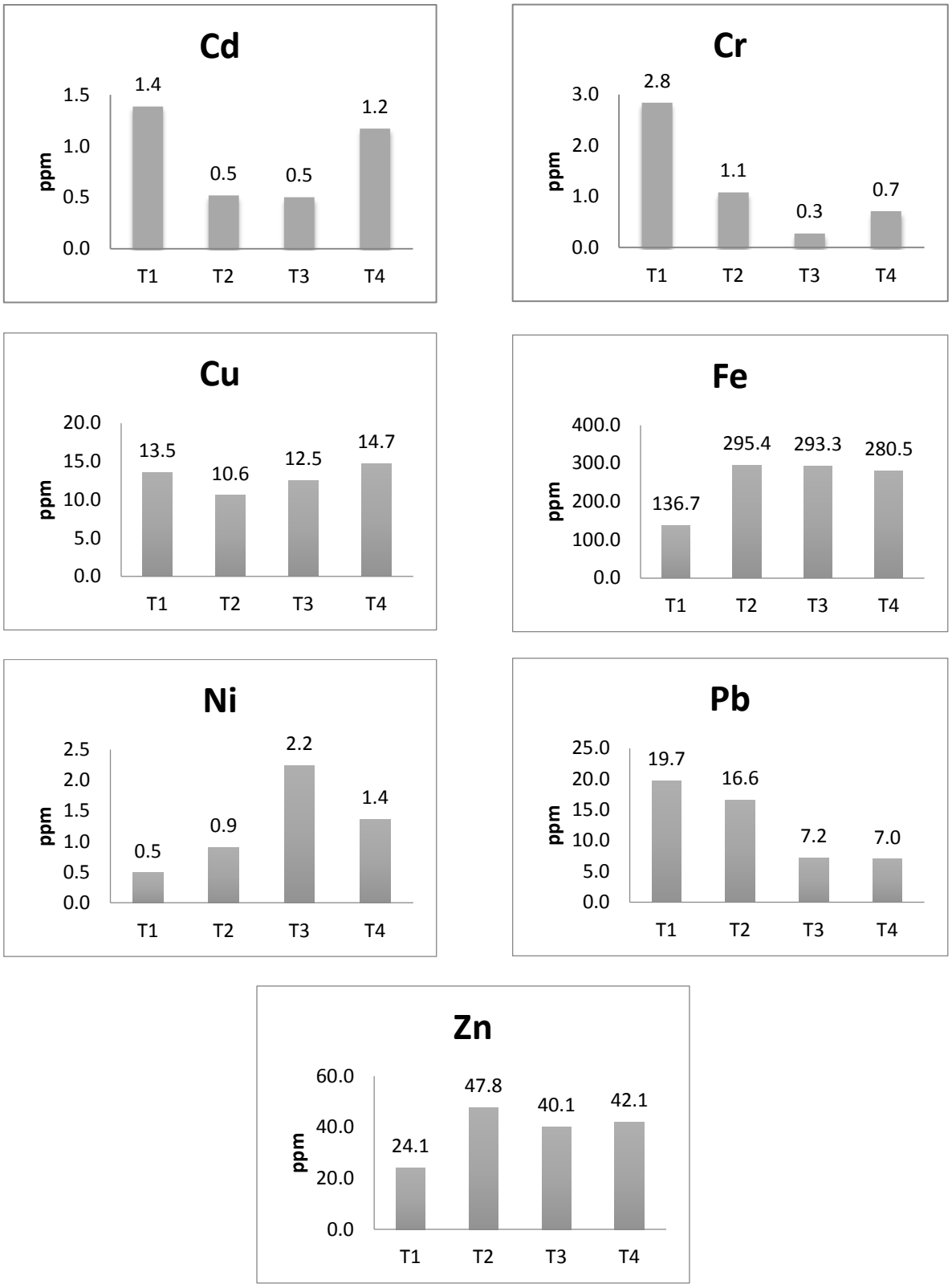

Figura 41. Metales pesados en plantas con tratamiento de biosólido

7. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se estudió la reutilización de los biosólidos generados por la PTAR del rastro municipal de la ciudad con el objetivo de promover el cultivo citrícola de la zona. Al impulsar la germinación de semillas de la variedad *Citrus aurantium*, variedad que es usada como portainjerto para otras variedades de cítricos, se busca favorecer el crecimiento de plantas saludables al crear condiciones físicas, químicas y biológicas benéficas y así, recurrir en menor medida a los fertilizantes químicos.

El pH encontrado en los biosólidos (6.6%) se encuentra en la categoría de neutro que concuerda con rango observado en lodos residuales y biosólidos por Singh y Agrawal (2008); así como con los resultados obtenidos por Potisek *et al.,* (2010) y Jurado *et al.,* (2007) al analizar biosólidos provenientes de PTARs de México de 6.6%.

La materia orgánica disponible fue de 6.38% y total de 32.27%, lo cual comparado con los porcentajes registrados por Singh y Agrawal (2008) es un contenido bajo, sin embargo Jurado *et al.* (2007) y Flores y Flores (2005) registro un valor similar de materia orgánica en los biosólidos nacionales con 35.2% total y 32.9% respectivamente.

El contenido de materia orgánica total en los biosólidos los vuelve una opción deseable como enmienda orgánica de suelos lo cual coincide con lo mencionado

por Stehouwer (2000) y Potisek (2010) que la aplicación de biosólidos en suelos incrementa la concentración de materia orgánica en el estrato superficial del suelo De acuerdo con Obreza (2008) los cítricos plantados en suelos con un alto contenido de materia orgánica requieren menos fertilizante que los árboles de cítricos plantados en suelos con bajo porcentaje de materia orgánica.

Los niveles de nitrógeno y fósforo encontrados en los biosólidos (3.9% y 1.3% respectivamente) se encuentran dentro de un valor normal para éste tipo de material, estos resultados concuerdan con lo obtenido por Singh y Agrawal (2008) y con lo presentados por Flores y Flores (2005) de 5.03% N y 0.58% P en los biosólidos nacionales.

Por el contrario, los niveles de nitrógeno disponible (1645 $mgKg^{-1}$) son más altos que lo presentado por Flores y Flores (2005), quienes muestran un intervalo de 827 a 1363 $mgKg^{-1}$, otro elemento que se encuentran en mayor cantidad que lo reportado por éste autor es cobre (328.5 $mgKg^{-1}$), para el cual Flores y Flores (2005) reportan 21.6 $mgKg^{-1}$. En cuanto al potasio (825 $mgKg^{-1}$), magnesio (215.66 $mgKg^{-1}$), sodio (46 $mgKg^{-1}$), hierro (110.37 $mgKg^{-1}$) y zinc (98.4 $mgKg^{-1}$) , los resultados de este trabajo se encuentran debajo del promedio obtenido por Flores con 1426, 952, 98, 285.9 y 181 $mgKg^{-1}$ respectivamente. Los resultados obtenidos para calcio (6800 $mgKg^{-1}$) y boro (32.5 $mgKg^{-1}$) disponibles se encontraron en concentraciones similares (6020 $mgKg^{-1}$ y 53.1 $mgKg^{-1}$) con éste autor.

De acuerdo a la norma NOM-004-SEMARNAT-2002 los biosólidos analizados cumplen con las especificaciones para sustratos y mejoradores de suelos y ser aprovechados en actividades agrícolas. Los resultados en el análisis biológico sobre el contenido de patógenos y parásitos clasifican a los biosólidos en la clase A (Cuadro 6) ; y los resultados del análisis químico en función a su contenido de metales pesados los posiciona en el tipo excelente (Cuadro 5), con lo cual se encuentran dentro de los límites máximos permisibles y se dice que su aplicación no representa un riesgo para la salud.

Cabe señalar que la procedencia de los biosólidos juega un papel importante en el contenido de metales. Los biosólidos utilizados provienen de una PTAR del rastro municipal en la que las aguas que son tratadas son derivadas de las actividades propias como el sacrificio de animales para consumo local. Es por ello que las aguas residuales desde su origen son poco susceptibles a contener cantidades altas de metales pesados. Cuevas y Walter (2004) al analizar los lodos provenientes de una PTAR municipal, donde se lleva a cabo el tratamiento de las aguas residuales municipales encontró una mayor concentración de plomo (385 $mgKg^{-1}$), cromo (468 $mgKg^{-1}$), cobre (460 $mgKg^{-1}$) y níquel (79.6 $mgKg^{-1}$).

En el análisis físico y químico del suelo utilizado como testigo y para los tratamientos (Cuadros 7 y 8) se puede deducir que los suelos presentaron un contenido normal de materia orgánica (3.1 %) de acuerdo con la clasificación para suelos no volcánicos de la NOM-021-SEMARNAT-2000. Según Kabata-Pendias y Pendias (2001) dicha característica es de importancia relevante en la observación

de los suelos ya que se asocia con la liberación de nitrógeno, fósforo y azufre. Así mismo influye en la disponibilidad de Fierro, Manganeso, Cobre, y Zinc.

La densidad aparente que se registró en el suelo (1.25 g/cm^3) sugiere que es de tipo arcilloso, esto de acuerdo con la norma NOM-021-SEMARNAT-2000. Los suelos de tipo arcilloso indican un alto grado de compactación de suelo lo que puede dificultar el desarrollo radicular. En los diferentes tratamientos aplicados en el experimento con concentraciones crecientes de biosólido en el suelo, se observó un una tendencia a mejorar la porosidad del suelo. Dichos hallazgos guardan relación con lo obtenido por Peñarete *et al.,* (2013) quienes aplicaron biosólidos lo que favoreció a la disminución de la densidad aparente y la microporosidad.

El contenido de metales pesados en el suelo (Cd 0.542 mgKg^{-1}, Cr 0.788 mgKg^{-1}, Ni 0.106 mgKg^{-1}, Pb 0.043 mgKg^{-1}, Zn 0.026 mgKg^{-1} y Fe 11.794 mgKg^{-1}) en su mayoría se encuentran en cantidades normales, a excepción del cobre (2.95 mgKg^{-1}) que de acuerdo a la clasificación para suelos en México (NOM-021-SEMARNAT-2000) se encuentra en un nivel alto. Sin embargo, incluso con la dosis más alta de suelo la concentración de cobre quedó muy lejos del límite máximo permisible para considerarse como tóxicos en la agricultura (Kabatas-Pendias y Pendias, 2001).

Con un total de 151 semillas con germinación exitosa de las 200 semillas tomadas para el experimento se tiene un porcentaje de germinación del 75.5% . El periodo

de mayor germinación registrado ocurrió entre los 30 y 60 días posteriores la siembra con casi el 80%. Estos resultados difieren de lo reportado por Orbovic *et al*., (2013) en su estudio de potencial de germinación de semillas de cítricos en diferentes etapas de desarrollo del fruto, los resultados que reporta para las variedades de cítricos Duncan, Flame y Sweet Hamlin están en un intervalo de 85 al 100% de germinación exitosa; pero concuerdan con lo establecido Fucik (1978) en que se observa que las semillas de naranja agria tienen un porcentaje de germinación más bajo que las semillas de pomelo o naranja dulce.

A lo largo del experimento se presentó poliembrionía (embriones múltiples en una semilla) dado que *Citrus aurantium* es de las especies con mayor poliembrionía dentro de los cítricos, alrededor del 85% de las semillas lo presenta (Kepiro y Roose, 2007). Se mantuvo la plántula originaria de las células somáticas del núcleo de la planta madre la cual se distingue de las plántulas originadas por embriones sexuales por su vigor y uniformidad.

Se encontraron diferencias significativas para la variable porcentaje de germinación dentro del tratamiento T3 con T0 y T2. El tratamiento con un mayor índice de germinación exitosa fue el tratamiento T3 (90% de las semillas en el tratamiento y un 24.26% del total del experimento) que corresponde a la mezcla de 75% biosólido y 25% de suelo. Estos resultados difieren de lo encontrado por Quinchía (2004), en el que obtuvo la mayor germinación en tratamientos con dosis de biosólido de 40, 30 y 20%.

Se observó que el tratamiento T4 tuvo una germinación de 77.5%, pero más tardada a comparación de los otros tratamientos ya que el brote de la radícula para la mayoría de las semillas ocurrió entre los 60 y 90 días (figura 20). Quinchía (2004) observó resultados similares en sus tratamientos con 100% biosólido y atribuye esto a la formación de una costra superficial en el sustrato.

La altura registrada entre los tratamientos al finalizar el experimento no muestra una marcada diferencia, sin embargo se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos T4 y T3 con el resto de los tratamientos (Figura 22). La altura promedio final de los tratamientos fue de 38.75, 37.7, 36.62, 32.83 y 31.59 cm para T2, T3, T4, T1 y T0 respectivamente. Estos se relacionan con lo reportado por Utria *et al*., (2008) en donde observó un mayor crecimiento de las plantas germinadas en un sustrato tratado con biosólidos, aun que existió poca diferencia entre las alturas alcanzadas en sus tres diferentes tratamientos (Suelo, suelo con biosólido y suelo con fertilizante mineral).

El crecimiento de las plantas dentro del tratamiento T3 y T4 fue progresivo y se mantuvo por encima de los demás tratamientos hasta el último mes de observaciones donde el tratamiento T2 registró un promedio de crecimiento de 38.875. Entre los tratamientos T0 y T1 no se encontraron diferencias significativas y el crecimiento de las plantas es bastante similar. Tsakou *et al*., (2002) encontró hallazgos similares sobre la velocidad de crecimiento de semillas de linaza *(Linum usitatissimum)* en sustratos concentraciones de 2:1 de suelo con biosólido.

En cuanto al diámetro medido a lo largo del experimento se encontraron diferencias significativas de nuevo en los tratamientos T3 y T4 con respecto al resto de los tratamientos (Figura 27) con un promedio de 0.49 cms al finalizar el experimento. Aun que los cinco tratamientos finalizaron con un diámetro muy similar, el desarrollo del tallo de las plantas en los tratamiento T3 y T4 fue mucho más temprano dado que desde el primer mes éstas plantas ya tenían diámetros superiores al resto.

Cabe señalar que el tratamiento T3 obtuvo el mayor diámetro promedio desde las primeras mediciones. González *et al*., (2000) compararon distintos sustratos para la germinación de dos tipos de portainjertos de cítricos, en los cuales el mejor sustrato obtuvo un diámetro de 0.27 cm a los 75 días de la siembra utilizando una relación de suelo:germinaza al 1:2; en comparación, el tratamiento T3 a los 75 días tiene un diámetro promedio de 0.26 cm. De esta información se puede deducir que el tratamiento T3 tiene un desempeño similar a sustratos con germinaza.

En el análisis de clorofila y florescencia el tratamiento T4 favoreció más a estas dos variables. Para el caso de la clorofila se encontraron diferencias significativas en el tratamiento T4, con un rango de 0.74 a 0.80 SPADS en los tratamientos. Rodríguez (1998) en un trabajo realizado para estimar la relación entre nitrógeno y clorofila en tomate con uso de un SPAD, comenta que la concentración de clorofila mostró valores mayores conforme aumentó la concentración de nitrógeno. De

estos resultados se puede sumir que el contenido de nitrógeno en los biosólidos favoreció al aumento de clorofila en las plantas.

La biomasa determinada por el peso seco de todos los órganos de la planta al final del experimento, muestra diferencias significativas en el tratamiento T3 el cual obtuvo el mayor peso promedio (10.18 g) . Las características del tratamiento T3 (75% biosólido y 25% suelo) fueron más favorecedoras para el crecimiento y desarrollo de la planta. Estos resultados difieren con lo encontrado por Ramírez (2006) quien reporta un mayor rendimiento del cultivo de rábano rojo (*Raphanus sativus L*.), con concentraciones de biosólido de 25 y 50 %. Otros resultados similares fueron encontrados por Miralles *et al*., (2002) en plantas de trigo y por Martínez *et al*., (2003) en zanahoria, quienes concluyeron que la aplicación de biosólido incrementa significativamente el peso seco de las plantas como respuesta al incremento del contenido de elementos esenciales del suelo.

En la variable largo de raíz no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y los resultados de las mediciones fueron muy similares entre los tratamientos con un rango entre los 22 y 29 cms. El tratamiento T3 obtuvo la longitud más alta en las mediciones. Los resultados obtenidos concuerdan con Utria (2008) donde no se reportan diferencias significativas entre sustratos de suelo, suelo con biosólido y suelo con fertilizante mineral.

Los resultados del análisis de metales pesados en las hojas de las plantas *Citrus aurantium* se mostraron indiferentes al tratamiento aplicado. El tratamiento T1 tuvo los resultados más elevados de cadmio (1.39 ppm) , cromo (2.84 ppm) y plomo (19.7 ppm). De acuerdo con Kabata (2001) los niveles de estos tres elementos se encuentran por debajo de lo que se considera tóxico para la planta pero por encima de lo tolerable para cultivos en la agricultura.

Los niveles de cobre encontrado en las hojas dieron resultados muy similares para los cuatro tratamientos con biosólido, con un rango de 13 a 15 ppm el tratamiento T4 contiene la mayor acumulación. Estos valores se encuentran dentro de los valores normales y toreables para la agricultura (Kabata, 2001).

Fierro y Zinc mostraron niveles similares entre los tratamientos T2, T3 y T4 (rango de 40 a 48 ppm), de acuerdo a Kabata (2001) los niveles Zinc dentro de estos tratamientos se encuentran en un nivel normal (25-150 ppm) al contrario del T1 (24 ppm) que cae en la categoría de deficiente (10-20 ppm).

Los niveles de Níquel encontrados en todos los tratamientos se muestran en un nivel normal o suficiente.

8. CONCLUSIONES

Los biosólidos provenientes de la PTAR del rastro municipal de Tuxpan, Ver. se encuentran por debajo de los límites máximos permisibles para agentes contaminantes y patógenos de acuerdo a lo establecido por la legislación mexicana no representan un riesgo para la salud y son susceptibles de utilizarse en la agricultura.

Los tratamientos respondieron bien a la aplicación de biosólido y en la mayoría de ellos se encontraron diferencias estadísticamente significativas. En las variables germinación, altura, diámetro, peso seco y área foliar, el tratamiento T3 (75% biosólido y 25% suelo) tuvo mejor respuesta. En lo que respecta a las variable largo de raíz, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas pero en las mediciones tomadas se registro una ligera ventaja en el tratamiento T3.

Los análisis de metales pesados en las hojas de los tratamientos con biosólido no mostraron acumulación tóxica y la mayoría de ellos se encontraban en el rango de normal o esperado.

Con estos resultados se puede asumir que, los biosólidos cuentan con las características adecuadas para usarse como mejorador de suelo que servirá como sustrato para la germinación de semillas de naranja agria (*Citrus aurantium*) y durante el crecimiento de esta planta hasta antes de ser injertada favorecerá a su crecimiento.

8.1. APLICACIÓN PRÁCTICA

México es el quinto productor a nivel mundial de naranja, con un volumen promedio de 4.2 millones de toneladas anuales. El principal estado productor de cítricos es Veracruz con el 44.5% del volumen nacional en cultivo de naranja (SAGARPA, 2017) y también sobresale por ser la cuna del viverismo citrícola.

La zona de Tuxpan en el estado de Veracruz es una de las principales productoras de cítricos, que da soporte a productores, agroindustriales, comercializadores, transportistas, cortadores, jornaleros, técnicos especialistas y viveristas. Algunos de los desafíos que se enfrenta la región es la limitada transferencia tecnológica, adecuada fertilización y aspectos fitosanitarios.

Al reutilizar el material de desecho de las PTARs que cumplan con las regulaciones toxicológicas y sanitarias y que se justifique con un aporte nutrimental adecuado para el desarrollo de los cultivos se cumplen dos metas principalmente, la de reducir los residuos sólidos urbanos y la de impulsar la producción agrícola con material orgánico que puede suplir a los fertilizantes sintéticos a un menor costo.

Por lo anterior, el presente trabajo sirve como referencia de que es seguro y provechoso el uso de los biosólidos de la PTAR del rastro municipal de Tuxpan,

Veracruz para los viveristas de la región, ya que los biosólidos estudiados poseen los requerimientos necesarios para su uso como mejorador de suelos y sustrato en la germinación de semillas de naranja agria (*Citrus aurantium*), mismos que favorecen el desarrollo de la planta hasta el momento de ser injertada.

9. BIBLIOGRAFIA

Aller M., Otero F., Garzón R. y Morán A. 1999. Utilización de biosólidos en la agricultura. http://www.mapfre.com/documentacion/publico/i18n/catalogo_imagenes/grupo.cmd?path=1020235

Arellano J. y Guzmán J. 2011. Ingeniería Ambiental. México. Ed. Alfaomega. México.184 pp.

Bedoya K., Acevedo J., Peláez C. y Agudelo S. 2013. The characterization of biosolids produced by the San Fernando wastewater treatment plant in Itagui, Antioquia, Colombia. Revista de Salud Pública 15 (5): 778-779.

Borges U., Reynaldo I., Cabrera J., Ramos E. y Miranda A. 2007. Aplicación de biosólidos en el cultivo de plántulas de tomate. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias 16 (1): 65-69.

Camozzi, M.E. 2005. Importancia y manejo del fósforo en cultivos hortícolas. INTA. México, D.F. Pág. 2

Campos E., García N., Velásquez A. y García M. 2009. Análisis básico del reúso de lodos residuales de una planta de tratamiento de aguas residuales en suelos de pradera del parque nacional Nevado de Toluca. Quivera 11 (2): 33-55.

Castellanos, J.Z., Uvalle, J.X y Aguilar, A. 2000. Manual de interpretación de análisis de suelos y aguas. Colección INCAPA. México. 226 pp.

Cuevas, G. y Walter, I. (2004). Metales pesados en maíz (Zea mays l.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 20 (2): 59-68.

Enger E. y Smith B. 2006 Ciencia Ambiental, un estudio de interrelaciones. McGraw-Hill. México. 476 pp.

Esperschuetz, J., Anderson C., Bulman, S., Lense, O., Horswell, J., Dickinson, N., Hofmann, R. y Robinson, B. H. 2016. Production of Biomass Crops Using Biowastes on Low-Fertility Soil: 1. Influence of Biowastes on Plant and Soil Quality. J. Environ. 45 (6):1960-1969.

Flores, F. y Flores, L. 2005. Los biosólidos de la planta tratadora de aguas residuales de la Ciudad de Aguascalientes: Características y usos. Investigación y Ciencia de La Universidad Autónoma de Aguascalientes 13 (33): 4 -11.

Fucik, J.E. 1978. Sources of variability in sour orange seed germination and seedling growth. Proc. Intl. Soc. Citricult. 1:141–143.

García, M. 2011. Rehabilitación de un suelo con bajo perfil de nutrientes aplicando biosólido como fertilizante. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional, México, D.F.

González, M., Ferrera Cerrato, R., Villegas, A. y Oropeza, J. 2000. Selección de sustratos de crecimiento en microplántulas de cítricos inoculadas con *Glomus* sp. Zac-19. Terra Latinoamericana 18 (14).

Henry J. y Gary W. 1999. Ingeniería Ambiental. Ed. Prentice Hall. México. 800 pp.

INEGI. 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos.
http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/30/30175.pdf

INEGI. 2010. Número de habitantes en Veracruz.
http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/ver/poblacion/

INEGI. 2012. Anuario estadístico de Veracruz de Ignacio de la Llave.
http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/pais/anuario_multi/2012/ver/702825045258.pdf

INEGI. 2015. "Estadísticas apropósito del día mundial del agua" Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 22 de Marzo del 2015. México, Ciudad de México.

Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 2011. Paquete tecnológico de cítricos, producción de planta certificada en vivero. SAGARPA. Veracruz. 16 pp.

Jurado, P., Arredondo, T., Flores, E., Olalde, V. y Frías, J. 2007. Efecto de los biosólidos sobre la humedad y los nutrimentos del suelo y la producción de forraje en pastizales semiáridos. Terra Latinoamericana 25(2): 211-218.

Kabata-Pendias, A. y Pendias, H. 2001. Trace Elements in Soils and Plants. Tercera edición. CRC Press. Florida. 331 pp.

Kepiro, J. y Roose, M. 2007. Citrus: Genetics, breeding and biotechnology. Editado por Khan, I. CAB International. UK. 365 pp.

López R. 2012. Los biosólidos, una oportunidad para la agricultura. http://www.ceajalisco.gob.mx/notas/documentos/biosolidos_raul_lopez_cea.pdf

Marambio, C. y Ortega, R. 2003. Uso potencial de lodos derivados del tratamiento de aguas servidas en la producción de cultivos en Chile. Revista Agronomía y Forestal UC. Chile. 20-23.

Martínez, F., Cuevas, G., Calvo, R. y Walter, I. 2003. Biowaste effects on soil and native plants in a semiarid ecosystem. J. Environ. Qual. 32(2): 472–479.

Metcalf y Eddy, Inc.1995. Ingeniería de Aguas Residuales. Tratamiento, vertido y reutilización, 3ª ed. McGraw-Hill. NuevaYork. 1485 pp.

Miliarium A. Ingeniería Civil y Medio Ambiente (2004). Tratamientos de fangos. http://www.miliarium.com/Proyectos/Depuradoras/Fangos/Tratamientos.asp#Estabilizacion

Miralles, R., Beltrán, E., Porcel, M., Delgado, M., Beringola, M., Valero, J., Calvo, R. y Walter I. 2002. Emergencia de seis cultivos tratados con lodo, fresco y compostado, de estaciones depuradoras. Rev. Int. Contam. Ambient. 18(3): 139–146.

Morales M. 2005. Digestión Anaerobia de Lodos de Plantas de Tratamiento de Aguas y su aprovechamiento. Tesis de Licenciatura. Ingeniería Química con área en Ingeniería Ambiental. Universidad de las Américas Puebla.

NOM-004-SEMARNAT-2002 (Norma Oficial Mexicana). 2003. Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.-Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Diario Oficial de la Federación.

NOM-021-SEMARNAT-2000 (Norma Oficial Mexicana). 2002. Establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación.

NOM-052-SEMARNAT-2005 (Norma Oficial Mexicana). 2006. Establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. Diario Oficial de la Federación.

Obreza T. y Morgan T. 2008. Nutrition of Florida Citrus Trees. Segunda edición. Soil and Water Science Department. University of Florida. Gainesville, Florida. SL 253. 90 pp.

Obreza T. y O'Connor G. 2009. The basics of biosolids land application to land in Florida. Soil and Water Science Department. University of Florida. Gainsville, Florida, Estados Unidos. SL 205.

Orbovic V., Manjul D. y Grosser J. 2013. Evaluation of the germination potencial of *Citrus* seeds during the harvesting season. HortScience 48(9): 1197-1199.

Peñarete W., Silvia J., Urrutia N., Daza M. y Torres P. 2013. Efecto de aplicación de biosólidos sobre las propiedades físicas de un suelo cultivado con caña de azúcar. Acta Agronómica 62(3): 251-260.

Potisek, M. Figueroa, U., González, G., Jasso, R. y Orona, I. 2010. Aplicación de biosólidos al suelo y su efecto sobre contenido de materia orgánica y nutrimentos. Terra Latinoamericana *28*(4): 327-333.

Quinchía, A. y Carmona, Dora M. 2004. Factibilidad de disposición de los biosólidos generados en una planta de tratamiento de aguas residuales combinada. EIA. 2: 89-108.

Ramírez, R. y Pérez, M. 2006. Evaluación del potencial de los biosólidos procedentes del tratamiento de aguas residuales para uso agrícola y su efecto sobre el cultivo de rábano rojo (*Raphanus sativus* L.). Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellín 59(2): 3543-3556.

Robledo E. 2012. Manejo y uso de biosólidos en suelos agrícolas. Tesis de doctorado. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

Robledo, E., Espinosa, V., Maldonado, R., Rubiños, J., Hernández, E., Ojeda, E. y Corlay, L. 2010. Sales solubles y metales pesados en suelos tratados con biosólidos. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. Julio-Diciembre: 241-251.

Rodríguez, M., Muñiz, O., Calero, B., Martínez, F., Montero, A., Limeres, T., Orphee, M. y Aguilar, A. 2012. Contenido de metales pesados en abonos orgánicos, sustratos y plantas cultivadas en organopónicos. Cultivos Tropicales 33(2): 5-12.

Rodríguez, M., Alcántar, G., Aguilar, A., Etchevers, J. y Santizó, J. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. Terra Latinoamericana abril-junio: 135-141.

Singh, R. y Agrawal, M., 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. Waste Management 28:347-358.

Stehouwer, R., Wolf, A. y Doty, W. 2000. Chemical Monitoring of Sewage Sludge in Pennsylvania: Variability and Application Uncertainty. J. Environ. Qual. 29:1686-1695.

Trinidad S. A. 2002. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Subsecretaría de Desarrollo Rural. Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. Sistema de Agronegocios. Abonos orgánicos. Instituto de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo.

Tsakou, A., Roulia, M. y Christodoulakis, N.S. 2002. Growth of flax plants *(Linum usitatissimum)* as affected by water and sludge from a sewage treatment plant. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 68: 56–63.

Uribe H., Orozco G., Chávez N. y Espino M. 1993. Uso de biosólidos para incrementar la productividad en alfalfa. Campo Experimental Delicias. INIFAP. México.

US EPA (U. S. Environmental Protection Agency). 2000. Folleto informativo de tecnología de biosólidos aplicación de biosólidos al terreno. U. S. Environmental Protection Agency. Washington, DC.

Utria E., Cabrera J., Reynaldo, I., Morales, D., Fernández, A. y Toledo, E. 2008.Utilización agraria de los biosólidos y su influencia en el crecimiento de plántulas de tomate (Lycopersicon esculentum Mill). Revista Chapingo. Serie horticultura 14 (1): 33-39.

Vélez J. 2007. Los biosólidos: ¿Una solución o un problema?. Medellín, Colombia. 70 pp.

Volke T. y Velasco J. 2002. Tecnologías de remediación para suelos contaminados, INE- SEMARNAT. México. 64 pp.

10. ANEXO

10.1 APROVECHAMIENTO DE LOS BIOSÓLIDOS

El aprovechamiento, es el uso de los biosólidos como mejoradores o acondicionadores de suelos por su contenido de materia orgánica y nutrientes, o en cualquier actividad que represente un beneficio (NOM-004-SEMARNAT-2002).

El uso de los biosólidos residuales está supeditado a los niveles de concentración de los parámetros de patógenos, parásitos y metales pesados, según la NOM-004-SEMARNAT-2002. Esta Norma Oficial Mexicana establece las especificaciones y los límites máximos permisibles de contaminantes en los lodos y biosólidos provenientes del tratamiento de aguas residuales con el fin de posibilitar su aprovechamiento o disposición final y proteger al medioambiente y la salud humana.

La Norma Oficial Mexicana clasifica a los biosólidos en tipo excelente y bueno en función de los metales pesados y en clase A, B, y C en función de su contenido de patógenos y parásitos. El uso al que se le pueden destinar los biosólidos está supeditado a esta clasificación, con un contenido de humedad de hasta un 85%.

Cuadro 26.Clasificación de los biosólidos en función de su aprovechamiento

TIPO	CLASE	APROVECHAMIENTO
Excelente	A	• Usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación • Los establecidos para clase B y C
Excelente o Bueno	B	• Usos urbanos sin contacto público directo durante su aplicación • Los establecidos para la clase C
Excelente o Bueno	C	• Usos forestales • Mejoramiento de suelos • Usos agrícolas

Fuente: Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002

Los biosólidos además de los nutrientes y materia orgánica, pueden tener una gran cantidad de micronutrientes como el arsénico, cadmio, plomo, mercurio y níquel que pueden afectar a la salud humana si la dosis es muy alta. El cadmio es un elemento contaminante que se presenta frecuentemente en los lodos residuales el cual está entre los más perjudiciales, por lo que en lugares donde se apliquen regularmente dosis de biosólidos es importante que se realicen análisis fisicoquímicos continuamente (García, 2011).

Los límites máximos permisibles de metales pesados que establece la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 se muestran en la tabla 2.

Cuadro 27. Límites máximos permisibles de metales pesados en biosólidos

CONTAMINANTE (Determinados en forma total)	EXCELENTES mg/kg en base seca	BUENOS mg/kg en base seca
Arsénico	41	75
Cadmio	39	85
Cromo	1200	3000
Cobre	1500	4300
Plomo	300	840
Mercurio	17	57
Níquel	420	420
Zinc	2800	7500

Fuente: Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002

En general los lodos que han sido tratados adecuadamente poseen una baja cantidad de organismos patógenos. Cuando se lleva a cabo el tratamiento por digestión anaerobia y posterior a ésta, los biosólidos son almacenados durante cierto tiempo antes de su aplicación la posibilidad de generar enfermedades por agentes biológicos disminuye aún más (García, 2011).

Para los organismos patógenos y parásitos se establecen los siguientes límites de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 (tabla 3):

Cuadro 28. Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos de lodos y biosólidos

CLASE	INDICADOR BACTEREOLÓGICO DE CONTAMINACION	PATÓGENOS	PARÁSITOS
	Coliformes fecales NMP/g en base seca	Salmonella spp. NMP/g en base seca	Huevos de helmintos/g en base seca
A	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 1(a)
B	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menor de 2 000 000	Menor de 300	Menor de 35

Fuente: Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002

(a) Huevos de helmintos viables

El uso de biosólidos en la agricultura, dentro de ciertos criterios seguros, es el de menor impacto ambiental y menor costo de operación. Contribuye además a portar nutrientes al suelo y propicia la agricultura sustentable (Campos *et al.*, 2009).