



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN  
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

**POSGRADO EN CIENCIAS APLICADAS**

**Biosólidos y su efecto en la competencia entre  
*Bouteloua curtipendula* y *Bouteloua gracilis* con  
*Prosopis laevigata***

Tesis que presenta

**BQ Sasi Elibeth Martini Morales**

Para obtener el grado de  
**Maestra en Ciencias Aplicadas**

En la opción de  
**Ciencias Ambientales**


Director de Tesis:

Dr. Joel David Flores Rivas



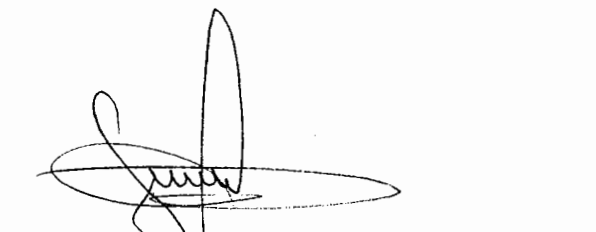
## Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Biosólidos y su efecto en la competencia entre *Bouteloua curtipendula* y *Bouteloua gracilis* con *Prosopis laevigata***” presentada para obtener el grado de Maestra en Ciencias Aplicadas en la opción de Ciencias Ambientales fue elaborada por la BQ Sasi Elibeth Martini Morales y aprobada el 10 de Enero de 2008 por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.



---

Dr. Joel David Flores Rivas  
Director de la tesis



---

Dr. José Luis Flores Flores  
Asesor de la tesis



---

Dr. Felipe Alatraste Mondragón  
Asesor de la tesis



## **Créditos Institucionales**

Esta tesis fue elaborada en el Invernadero y el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Joel David Flores Rivas.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-No. de registro 189621) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

El Posgrado en Ciencias Aplicadas con especialidad en Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica se encuentra inscrito dentro del Programa Institucional de Fomento al Posgrado del CONACYT.

Este trabajo fue realizado con apoyo del proyecto CONACYT Fondos Sectoriales FOSERMARNAT-2004-01-406.



**IPICYT**

# Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

## Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 018 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Aplicadas en la opción de Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 10 días del mes de enero del año 2008, se reunió a las 09:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

<b>Dr. José Luis Flores Flores</b>	<b>Presidente</b>	<b>UASLP</b>
<b>Dr. Felipe Alatríste Mondragón</b>	<b>Secretario</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dr. Joel David Flores Rivas</b>	<b>Sinodal</b>	<b>IPICYT</b>

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS APLICADAS  
EN LA OPCIÓN DE CIENCIAS AMBIENTALES**

sustentó la C.

**Sasi Elibeth Martini Morales**

sobre la Tesis intitulada:

*Biosólidos y su Efecto en la Competencia entre Bouteloua curtipendula y Bouteloua gracilis con Prosopis laevigata*

que se desarrolló bajo la dirección de

**Dr. Joel David Flores Rivas**

El Jurado, después de deliberar, determinó

**APROBARLA**

Dándose por terminado el acto a las 10:45 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fé el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 10 días del mes de enero de 2008.

**L.C.C. Ivonne Lizette Cuevas Velez**  
Jefa del Departamento de Asuntos Escolares

**Dr. Marcial Bonilla Marín**  
Secretario Académico



## **Dedicatoria**

Dedico esta Tesis a mi hijo Angel y a toda mi familia que me ha apoyado incondicionalmente.

## **Agradecimientos**

Agradezco primeramente a Dios por la oportunidad que me ha dado de terminar esta Tesis.

A mi esposo, a mis padres y a mis hermanos que han estado conmigo en todo momento.

Gracias al IPICyT por haberme dado la oportunidad de superarme profesionalmente al realizar mi maestría en esta institución.

Al Dr. Joel Flores Rivas por todo su apoyo, interés y tiempo prestado en la realización de esta Tesis, así como al Dr. José Luis Flores Flores y al Dr. Felipe Alatraste Mondragón por su aporte de conocimiento a este trabajo.

Finalmente a la M. en C. Dulce I. Partida Gutiérrez por todo su apoyo en el laboratorio.

# Índice

	Página
Índice de Tablas.....	iii
Índice de Figuras .....	iv
Resumen.....	vi
Abstract .....	vii

## Capítulo 1. Introducción

1.1 Introducción.....	1
-----------------------	---

## Capítulo 2. Materiales y Métodos

2.1 Especies de estudio.....	7
2.2 Suelos utilizados y sus características e importancia en el altiplano potosino.....	10
2.3 Biosólidos.....	11
2.4 Métodos analíticos.....	14
2.4.1 Análisis de metales pesados en partes aéreas y subterráneas de plantas.....	14
2.5 Experimentos de germinación y de crecimiento de plántulas.....	16
2.5.1 Experimentos de germinación.....	16
2.5.2 Experimentos de crecimiento de plántulas en invernadero.....	18
2.5.2.1 Efecto de mezclas biosólido - suelo en el crecimiento de <i>B. gracilis</i> y <i>B. curtipendula</i> asociadas con <i>P. laevigata</i> Competencia entre pastos y leñosas.....	18
2.5.2.2 Efecto de los biosólidos y del tipo de suelo en el crecimiento y la toma de metales pesados en distintas densidades de plantas de <i>B. curtipendula</i> y <i>P. laevigata</i> .....	23

## Capítulo 3. Resultados

3.1 Resultados de germinación .....	27
3.1.1 Pruebas preliminares de germinación de gramíneas.....	27
3.1.2 Pruebas preliminares de germinación de especies leñosas .....	28
3.1.3 Pruebas de germinación de <i>P. laevigata</i> en distintos sustratos .....	30
3.1.4 Pruebas de germinación de <i>Bouteloua gracilis</i> y <i>Bouteloua curtipendula</i> .....	31
3.2 Resultados de los experimentos de crecimiento de plántulas .....	33
3.2.1 Efecto de mezclas biosólido - suelo en el crecimiento de <i>B. gracilis</i> y <i>B. curtipendula</i> asociadas con <i>P. laevigata</i> : Competencia entre pastos y arbustos.....	33
3.2.2 Efecto de los biosólidos y del tipo de suelo en el crecimiento y la toma de metales pesados en distintas densidades de plantas de <i>B. curtipendula</i> y <i>P. laevigata</i> .....	38
3.3 Análisis fisicoquímicos para suelo y biosólidos .....	51
3.4 Análisis de metales pesados en plantas .....	52

## Capítulo 4. Discusión de resultados

4.1 Efecto de los biosólidos en la germinación .....	63
4.2 Crecimiento de plántulas .....	64
4.2.1 Efecto de mezclas biosólido - suelo en el crecimiento de <i>B. gracilis</i> y <i>B. curtipendula</i> asociadas a <i>P. laevigata</i> : Competencia entre pastos y arbustos .....	64
4.2.2 Efecto de los biosólidos y del tipo de suelo en el	

crecimiento y la toma de metales pesados en distintas densidades de plantas de <i>B. curtispindula</i> y <i>P. laevigata</i> .....	66
4.3 Metales pesados en plántulas, suelo y biosólido .....	67
<b>Conclusiones</b> .....	68
<b>Referencia bibliográfica</b> .....	70
Anexo 1 .....	78
Anexo 2 .....	92

## Índice de Tablas

	Página
1. Límites máximos permisibles para metales pesados en biosólidos.....	13
2. Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos.....	13
3. Aprovechamiento de biosólidos.....	14
4. Cálculo de cantidad de biosólido utilizado por maceta en cada tratamiento.....	20
5. Diseño Box-Behnken de experimento de crecimiento.....	23
6. Densidades de plántulas de <i>Prosopis laevigata</i> y <i>Bouteloua curtipendula</i> (diseño inicial).....	24
7. Densidades de plántulas de <i>Prosopis laevigata</i> y <i>Bouteloua curtipendula</i> (diseño final).....	25
8. Análisis estadístico de varianza del área foliar específica en la interacción de <i>Prosopis laevigata</i> con las especies <i>Bouteloua gracilis</i> y <i>Bouteloua curtipendula</i> .....	35
9. Análisis estadístico de varianza del peso seco en la interacción de <i>Prosopis laevigata</i> con las especies <i>Bouteloua gracilis</i> y <i>Bouteloua curtipendula</i> .....	36
10. Promedio de biomasa de plántulas de <i>P. laevigata</i> en suelos ígneo y calcáreo con distintas concentraciones de biosólido.....	37
11. Análisis estadístico de varianza del Cociente Raíz/Vástago para <i>P. laevigata</i> .....	38
12. Análisis de Varianza de área foliar de <i>Prosopis laevigata</i> .....	40
13. Análisis de Varianza del Área foliar de <i>Bouteloua curtipendula</i> .....	41
14. Análisis de Varianza del Peso seco de <i>Bouteloua curtipendula</i> .....	43
15. Análisis de Varianza de Biomasa de <i>Prosopis laevigata</i> .....	44
16. Análisis de Varianza del Cociente Raíz/Vástago de <i>Bouteloua curtipendula</i> .....	48
17. Análisis de varianza coeficiente Raíz/Vástago de <i>Prosopis laevigata</i> .....	51
18. Análisis físico-químico de los dos tipos de suelo utilizados y del biosólido.....	53



## Índice de Figuras

	Página
1. Secuencia seguida para los experimentos de germinación y crecimiento de plántulas.....	17
2. Porcentaje de germinación de <i>Bouteloua curtipendula</i> en dos tipos de sustrato.....	27
3. Porcentaje de germinación de <i>Bouteloua gracilis</i> en dos tipos de sustrato.....	28
4. Porcentaje de germinación de <i>Prosopis laevigata</i> con tratamientos de escarificación en dos tipos de sustratos.....	29
5. Porcentaje de germinación de <i>Acacia schaffneri</i> con tratamientos de escarificación en dos tipos de sustratos.....	30
6. Porcentaje de germinación de <i>Prosopis laevigata</i> en tres tipos de sustratos.....	30
7. Porcentaje de germinación de semillas sanas (s) de <i>Bouteloua curtipendula</i> , en tres tipos de sustratos.....	31
8. Porcentaje de germinación de semillas no sanas (ns) de <i>Bouteloua curtipendula</i> , en tres tipos de sustratos.....	32
9. Germinación de semillas sanas (s) de <i>B. gracilis</i> en tres tipos de sustratos.....	32
10. Germinación de semillas de <i>B. gracilis</i> con apariencia no sana (ns), en tres tipos de sustratos.....	33
11. Promedio $\pm$ E.E. por especie del Coeficiente Raíz/Vástago.....	38
12. Promedio de área foliar de <i>B. curtipendula</i> bajo distintas densidades de <i>P. laevigata</i> .....	40
13. Promedios de área foliar para <i>B. curtipendula</i> en la interacción Suelo calcáreo X biosólido X densidad. ....	41
14. Promedios de área foliar para <i>B. curtipendula</i> en la interacción Suelo ígneo X biosólido X densidad.....	41
15. Promedios de biomasa (g) de <i>P. laevigata</i> para los tratamientos de densidad. ....	44
16. Promedios de biomasa de <i>P. laevigata</i> para la interacción Suelo X Biosólido.....	45
17. Promedios de biomasa para <i>P. laevigata</i> en la interacción biosólido X densidad.....	46
18. Promedios $\pm$ error estándar del cociente R/V de <i>B. curtipendula</i> en la interacción Biosólido X Densidad.....	48
19. Promedios $\pm$ error estándar del cociente R/V de <i>B. curtipendula</i> en la interacción Suelo X Densidad.....	49
20. Promedios de cociente raíz/vástago de <i>P. laevigata</i> en distintos tratamientos de densidad de plántulas.....	51
21. Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de <i>B. curtipendula</i> sembrada en macetas con suelo calcáreo sin agregar biosólido.....	53
22. Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de <i>P. laevigata</i> sembrada	

en macetas con suelo calcáreo sin agregar biosólido.....	54
23. Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de <i>B. curtipendula</i> sembrada en macetas con suelo calcáreo con biosólido.....	55
24. Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de <i>P. laevigata</i> sembrada en macetas con suelo calcáreo con biosólido.....	56
25. Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de <i>B. curtipendula</i> sembrada en macetas con suelo ígneo sin biosólido.....	57
26. Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de <i>P. laevigata</i> sembrada en macetas con suelo ígneo sin biosólido.....	58
27. Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de <i>B. curtipendula</i> sembrada en macetas con suelo ígneo y biosólido.....	59
28. Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de <i>P. laevigata</i> sembrada en macetas con suelo ígneo con biosólido.....	60
29. Análisis de metales en suelo ígneo y calcáreo con biosólido y sin biosólido.....	61
30. Análisis de metales en biosólido.....	62

Martini Morales Sasi Elibeth. 2008. Biosólidos y su efecto en la competencia entre pastos y especies leñosas nativos del sur del desierto Chihuahuense. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. México.

## Resumen

El establecimiento de especies leñosas en pastizales semiáridos se facilita por las condiciones de disturbio, como el sobrepastoreo y la pérdida de nutrientes en el suelo. Por lo tanto, existe competencia entre grupos funcionales (leñosas vs. pastos), siendo las especies leñosas son los que ganan la competencia, pues tienen mayor capacidad que los pastos para establecerse en áreas perturbadas. Una manera de contrarrestar la invasión de leñosas en pastizales nativos es fertilizando el suelo, con lo que se espera que los pastos tengan un crecimiento mayor y se inhiba así el crecimiento de plántulas de especies leñosas. La aplicación de biosólidos, que son materiales ricos en nutrientes que provienen de las plantas de tratamiento de aguas residuales, puede ser una alternativa para mejorar la fertilidad de los suelos y, posiblemente, el establecimiento de plántulas de gramíneas de pastizales semiáridos. Así, en esta investigación se evaluó si la aplicación de biosólidos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales Tangamanga ayuda al mejor establecimiento de los pastos *Bouteloua curtipendula* y *Bouteloua gracilis* cuando estas interactúan con la especie leñosa *Prosopis laevigata*, y si el efecto depende del tipo de suelo de la región (ígneo y calcáreo). Una evaluación preliminar del contenido de metales pesados en los biosólidos mostró que estos se encuentran dentro de los límites permitidos por la Norma Oficial Mexicana. Se encontró que *B. curtipendula* fue más competitiva que *B. gracilis*, ya que la primera cuando estuvo asociada con *P. laevigata* presentó mayor área foliar que *B. gracilis*. Además, *B. curtipendula* afectó el desarrollo del área foliar de *P. laevigata*, ya que esta última mostró mayor área foliar cuando creció junto con *B. gracilis* que cuando lo hizo con *B. curtipendula*. También se encontró que el crecimiento de *P. laevigata* fue sensible a la densidad de *B. curtipendula*, ya que la biomasa de *P. laevigata* disminuyó y la proporción Raíz/Vástago (R/V) aumentó con el incremento de la densidad de la gramínea *B. curtipendula*. Finalmente, el efecto de la aplicación de los biosólidos dependió del tipo de suelo y de la especie, ya que *B. curtipendula* y

*P. laevigata* se beneficiaron más cuando se agregó biosólido al suelo calcáreo, el suelo menos fértil.

## **Abstract**

In semiarid grasslands the soil perturbation favors the establishment of woody species. Thus, there is a competition between functional groups (woody vs. grasses), and woody shrubs and trees wins this competition, since they have higher ability than grasses for establishing in disturbed areas. Soil fertilization is a way to avoid the woody species invasion in semiarid grasslands, since grasses could have higher growth and therefore inhibit seedling growth of woody species. Biosolid application could be an alternative to improve the fertility in soils, and thus also improve the seedling establishment of semiarid grasses. In this research, it was evaluated if biosolid (belonging to Tangamanga municipal wastewater treatment plant) application improves the seedling establishment of the grasses *Bouteloua curtipendula* and *Bouteloua gracilis*, when they interact with the woody species *Prosopis laevigata*, and if the effect depends on the soil type (igneous and calcareous). Before experiments, the content of heavy metals on biosolids was evaluated. All of them comply with the concentration limits defined by the Mexican Official Regulations. It was found that *B. curtipendula* was more competitive than *B. gracilis*, since *B. curtipendula* showed higher foliar area when was associated with *P. laevigata*. Moreover, *B. curtipendula* affected the foliar area development of *P. laevigata*, since this woody species had higher foliar area when growing joined to *B. gracilis* than with *B. curtipendula*. In addition, the *P. laevigata* growth was sensitive to the *B. curtipendula* density, since their biomass diminished and the root/shoot ratio increased with the increase of *B. curtipendula* density. Finally, the effect of biosolid application depended of the soil type and of the species, since both the grass *B. curtipendula* and the woody species *P. laevigata* showed higher growth when biosolid was applied to the less fertile soil, the calcareous.

## 1. INTRODUCCIÓN

Con una superficie total de 630,000 Km<sup>2</sup>, el desierto chihuahuense se extiende a lo largo de Arizona, Nuevo México y Texas, en Estados Unidos de América; así como en Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Zacatecas, Durango y San Luis Potosí, en México (González y Sosa, 2003). En este desierto, existen varios tipos de vegetación: pastizal natural, matorral desértico rosetófilo, matorral crasicaule, matorral desértico micrófilo, matorral submontano, chaparral y pastizal natural, los cuales son afectados por los disturbios realizados por el ser humano (Hubber-Sannwald, 2002; entre otros).

El pastizal natural es uno de los más afectados por el disturbio, ya que es invadido por especies de árboles y arbustos leñosos de los géneros *Prosopis* y *Acacia*, principalmente (Buffington y Herbel, 1965; Bush y Van Auken, 1987; 1989a; Gibbens *et al.*, 1998; Van Auken, 2000; Bestelmeyer *et al.*, 2007). El establecimiento de especies leñosas en pastizales semiáridos se facilita por las condiciones de disturbio, como el sobrepastoreo, y factores como el estrés hídrico y la pérdida de nutrientes en el suelo (Bush y Van Auken, 1987; 1988; 1989a; 1989b; Gibbens *et al.*, 1998; Bestelmeyer *et al.*, 2007). Así, existe competencia entre grupos funcionales (especies leñosas vs. pastos), siendo las especies leñosas las que ganan la competencia, pues tienen mayor capacidad que los pastos para establecerse en áreas con disturbio. Además, cuando la especie leñosa está ya establecida, funciona como núcleo para el establecimiento de otras especies leñosas, por lo que se van formando parches de vegetación leñosa y, por

lo tanto, disminuyen las áreas con pastizal (Archer *et al.*, 1988; Bush y Van Auken, 1989a; Scholes y Archer, 1997).

Se han realizado estudios en los que se evalúa la competencia entre especies leñosas y pastos. Por ejemplo, Van Auken y Bush (1987) encontraron que el pasto *Buchloe dactyloides* es un mejor competidor por recursos del suelo que las plántulas de *Prosopis glandulosa* var. *glandulosa*, especialmente en alta densidad de pastos. Sugieren que es probable que *P. glandulosa* no sea un invasor en pastizales altamente productivos con altas densidades de plantas, siendo más bien un colonizador de áreas abiertas con baja densidad de plantas. Por otra parte, Bush y Van Auken (1989a) encontraron que cuando se adicionan nutrientes al suelo, las especies de pastos tienen mayor agresividad y ganan la competencia a las plántulas de especies leñosas. Esto permite especular que una manera de contrarrestar la invasión de árboles y arbustos leñosos en pastizales nativos es fertilizando el suelo, con lo que se espera los pastos tengan un crecimiento mayor en biomasa seca y mas asignación de recursos al tallo, lo cual inhibiría el crecimiento de plántulas de especies leñosas.

La aplicación de biosólidos (BS) puede ser una alternativa para mejorar la fertilidad de los suelos, así como sus propiedades físicas, químicas y biológicas y, posiblemente, el establecimiento de plántulas de pastos de pastizales semiáridos. Estos materiales que provienen de las plantas de tratamiento de aguas residuales, son ricos en nutrientes (Benton y Wester, 1998; Walton *et al.*, 2001; Mata-González *et al.*, 2002a; 2002b; 2004; Martínez *et al.*, 2003). La aplicación de BS es considerada benéfica, debido a que permite la utilización de sus constituyentes

minerales y orgánicos por el suelo y las plantas. Al ser aplicados en pastizales semiáridos se aumenta la fertilidad del suelo (Fresquez *et al.*, 1990). Además, los pastizales semiáridos ofrecen oportunidades ideales para reciclar biosólidos debido a que están limitados por recursos como el agua y nutrientes (Mata-González *et al.*, 2002b).

La aplicación superficial de biosólidos puede incrementar la producción de biomasa de los pastos en este tipo de ecosistemas (Jurado *et al.*, 2004; Mata-González *et al.*, 2002b). Por lo tanto, es importante conocer si al adicionar recursos al suelo en este ecosistema, los pastos tendrán una mejor capacidad de establecimiento de forma que la entrada de especies leñosas sea más difícil. De igual manera, es importante evaluar el efecto de los biosólidos en diferentes tipos de suelo de pastizales semiáridos, ya que la aplicación superficial de biosólidos afecta propiedades físicas del suelo, tales como materia orgánica, infiltración, densidad, dispersión de arcilla y escurrimiento, y que el efecto depende del tipo de suelo (Rostagno y Sosebee, 2001; Moffet *et al.*, 2005; Paschke *et al.*, 2005).

Específicamente, en el estado de San Luis Potosí, la vegetación de pastizal natural disminuyó 60% entre 1961 y 2001 (Hubber-Sanwaldd, 2002), desplazada principalmente por especies de árboles y arbustos leñosos; por lo tanto, se considera prioritario conservar los pastizales que persisten. Así, es importante investigar cómo la aplicación de biosólidos afecta a la interacción entre pastos nativos (*Bouteloua curtipendula* y *Bouteloua gracilis*) y plántulas de especies leñosas (*Prosopis laevigata*) en diferentes tipos de suelo (ígneo y calcáreo) característicos de la región. La predicción es que al aplicarse una concentración

de biosólidos con un nivel de nutrientes óptimo para el crecimiento de los pastos, estas tengan mayor agresividad para competir con las especies leñosas, y que esto dependa del tipo de suelo, ya que los suelos calcáreos son en general más limitados en nutrientes (sobre todo en fósforo) que los suelos ígneos (Lagunes-Espinoza, 1985), lo que a su vez restringe la capacidad competitiva de los pastos contra la invasión de especies leñosas. Además, se esperaría que la germinación de los pastos se beneficie con los biosólidos, debido a que los nutrientes que tiene pueden ayudar a la germinación de semillas (Baskin y Baskin, 1998). Sin embargo, el posible efecto benéfico de los BS va a depender de que las concentraciones de metales pesados presentes en los biosólidos sean bajas; es decir, que estén dentro de los límites establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, y así evitar que se presenten posibles consecuencias en la disponibilidad de elementos tóxicos, manifestados en efectos negativos en la germinación y en el crecimiento de las plántulas por efecto de los metales pesados.

#### Objetivo General

- Determinar si la adición de biosólidos en dos tipos de suelo promueve el mejor crecimiento de los pastos y modifica la competencia con plántulas de árboles.



### Objetivos específicos

- Determinar el efecto de los biosólidos y de los sustratos ígneo y calcáreo, en la germinación de semillas de *B. curtipendula*, *B. gracilis* y *P. laevigata*.
- Determinar el efecto de mezclas suelo-biosólido en el crecimiento (biomasa, área foliar, proporción raíz/vástago, altura y número de vástagos) de plántulas bajo distintas densidades de los pastos *B. curtipendula* y *B. gracilis* asociadas con el árbol *P. laevigata*.
- Evaluar el efecto de mezclas suelo-biosólido en el contenido de metales pesados de raíces y hojas de plántulas bajo distintas densidades de los pastos *B. curtipendula* y *B. gracilis* asociadas con el árbol *P. laevigata*.

### Hipótesis

- La aplicación de biosólidos ayudará al mejor establecimiento (germinación de semillas y crecimiento de plántulas) de los pastos que interactúan con especies leñosas, y el efecto será mayor en el suelo calcáreo que en el suelo ígneo.

### Experimentos realizados

Se realizaron experimentos preliminares de germinación de semillas de pastos y de leñosas en distintos sustratos (suelo ígneo, suelo calcáreo, turba y biosólido).

En el caso de las leñosas, se evaluó el efecto de la escarificación y en el caso de

los pastos, el efecto de la apariencia de las semillas (sanas vs. no sanas). Para corroborar la hipótesis planteada se realizaron dos experimentos de crecimiento de plántulas; en el primero de ellos se evaluó de manera preliminar el efecto de dos tipos de suelo (ígneo y calcáreo) y tres niveles de biosólidos (0, 1.7 y 3.4 Kg. m<sup>-2</sup>), en el crecimiento bajo distintas densidades de dos especies de pastos (*B. gracilis* y *B. curtipendula*) y una especie leñosa (*P. laevigata*). Los resultados de este primer experimento sirvieron de base para escoger las concentraciones de biosólido, las densidades de plantas y las especies utilizadas en el segundo experimento. En este experimento se evaluó la densidad de las especies, el efecto del tipo de suelo (ígneo y calcáreo) y de dos concentraciones de biosólido (0 y 3.4 Kg/m<sup>2</sup>), en el crecimiento del pasto *Bouteloua curtipendula* y de la especie leñosa *Prosopis laevigata*.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Especies de estudio

Especie leñosa

*Prosopis laevigata* (Mezquite, abreviatura Prla)

El mezquite es un árbol que tiene una amplia distribución en México y se le puede localizar desde cerca del nivel del mar hasta altitudes superiores a los 2000 m. Aunque prefiere lugares moderadamente secos, prospera desde climas BW (desierto-árido) hasta CW (Templado con invierno seco), según la clasificación de Köppen (Chávez, 2002). Por lo que respecta a suelos se distribuye tanto en suelos calizo como ígneo. En San Luis Potosí se localiza en algunos municipios del Altiplano y de la zona media del estado, y es utilizado como combustible, ya sea en forma de leña y carbón o como madera para construir muebles (Villanueva, 1993).

Tiene una altura entre 3 y 13 m. Tronco de hasta 1 m de diámetro, por lo general de 30 a 60 cm. Corteza gruesa de color café negruzco, algo fisurada. Copa más ancha que alta, ramas glabras o pilosas, armadas de espinas estipulares de 1 a 4 cm de largo. Hojas pecioladas con uno o tres pares de pinnas, cada una con 10 a 20 foliolos sésiles, oblongos de 5 a 15 mm de largo por 1 a 2

7

mm de ancho, ápice obtuso, margen entero, base obtusa, glabras o ligeramente pubescentes. Flores hermafroditas, dispuestas en espigas densas de 5 a 10 cm de largo, son blanco amarillentas, sésiles o casi sésiles, cáliz de 1 mm, glabro o puberulento, corola de 2.5 a 3 mm de largo, pétalos agudos, estambres de 4 a 5 mm de largo. Fruto linear de 7 a 20 cm de largo, de color café amarillento, a veces rojizo, algo constreñido entre las semillas, estas son oblongas, de 8 a 10 mm de largo y color blanco amarillento (Villanueva, 1993).

## Especies de pastos

### *Bouteloua curtipendula* (Zacate banderita, abreviatura Bocu)

Forma culmos solitarios o en pequeños macollos, con rizomas rastreros delgados o gruesos; láminas glabras o puberulentas, planas, variable en ancho y color, generalmente con escasos cilios sobre papilas en los márgenes hacia la base.

Inflorescencia típicamente larga, con 40 a 70 o más ramificaciones reflexas en un eje fuerte: cada rama con 3 ó 4 espiguillas en promedio; glumas y lemas típicamente púrpuras o con manchas púrpura; anteras de color rojo o rojo-naranja o raramente de color naranja amarillo o púrpura.

Se distribuye desde el suroeste de Canadá hacia las praderas del centro de Estados Unidos, Colorado, sur de Utah, Texas, Nuevo México y Arizona hasta el

norte y centro de México; es un excelente pasto forrajero (Ackerman y Smith, 1987).

*Bouteloua gracilis* (Zacate navajita, abreviatura Bogr)

Presenta culmos de 15 a 50 cm de alto, con 2 a 3 nudos, amacollados o formando césped bajo presión de pastoreo, erectos, simples, lisos o glabros; vainas glabras, híspidas en el collar; laminas de 2 a 10 cm de largo por 2 mm de ancho, involutas cuando menos cerca de la punta larga y delgada, los márgenes lisos o escabrosos o algunas veces dispersamente pilosos.

Inflorescencia con 1 a 3 espigas, de 2.5 a 5 cm de largo, generalmente curvadas; caquis terminado en un punto; espiguillas casi de 6 mm de largo; raquilla con un mechón de vellos largos bajo la espiguilla rudimentaria; primera gluma angosta, acuminada, de 4 mm de largo, barbada en la base con pelos largos en ambas caras de la nervadura media, los márgenes con cilios cortos y el ápice ligeramente lobulado, con un arista central como de 1 mm de largo, las laterales ligeramente mas largas; rudimento de 2 mm de largo, densamente barbado en la base, con lóbulos anchos en forma de capucha, aristas de casi 3 mm de largo, algunas veces se desarrolla un flósculo rudimentario sin arista.

Está presente en praderas y lugares abiertos, desde Manitoba y Alberta, en Canadá, hacia el sur de Texas, sur de California y norte y centro de México; excelente pasto forrajero (Ackerman y Smith, 1987).

## 2.2 Suelos utilizados y sus características e importancia en el altiplano potosino

En general, los suelos de las regiones áridas presentan propiedades particulares que las distinguen de suelos de regiones húmedas, tales como: bajo contenido de materia orgánica, pH en la superficie del suelo ligeramente ácido o alcalino y de moderadamente a fuertemente alcalino en el subsuelo, acumulación de  $\text{CaCO}_3$  en uno o más horizontes, baja actividad biológica y débil o moderado desarrollo del perfil (Lagunes-Espinoza, 1985). Sin embargo, de manera particular, las características químicas de suelos de zonas áridas varían de acuerdo al tipo de suelo. Por ejemplo, los suelos ígneos (derivados de rocas ígneas) del altiplano potosino presentan reacción ácida a neutra o ligeramente alcalina (pH 5.0-7.5), porcentajes de materia orgánica de bajos a medianos, contenidos de  $\text{CaCO}_3$  escaso o nulo (0-1.0 %), alto contenido de sílice y baja conductividad eléctrica, además de que son ricos en magnesio intercambiable y en fósforo. En cambio los suelos calcáreos presentan reacción ligeramente alcalina (pH 7.0-8.5) y alto contenido de  $\text{CaCO}_3$ . Además, cuando existen sales del tipo de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , el pH tiende a ser elevado (>9.1) (Lagunes-Espinoza, 1985).

### 2.3. Biosólidos

Los biosólidos son lodos semisólidos oscuros con alto contenido de materia orgánica y de nutrientes, los cuales son generados como subproducto del tratamiento de aguas residuales. Los biosólidos pueden ser de tipo doméstico o industrial, dependiendo de las aguas residuales, donde los primeros contienen menos contaminantes. Este material contiene un alto porcentaje de humedad, materia orgánica (MO) y nutrimentos para las plantas como N y P (Jurado *et al.*, 2004).

Se ha considerado que debido a las características que poseen después de un proceso de estabilización, estos biosólidos pueden ser aprovechados siempre y cuando cumplan con los límites máximos permisibles de contaminantes establecidos en la Norma Oficial Mexicana (SEMARNAT, 2002). Esta norma también hace una clasificación de los mismos como de tipo excelente y bueno, en función de su contenido de metales pesados. Por su contenido de patógenos y parásitos los clasifica como A, B y C, especificándose los límites máximos permisibles en las Tablas 1 y 2, respectivamente. En la misma norma se especifica el uso que se puede dar a los biosólidos dependiendo de su tipo y clase, como se muestra en la Tabla 3.

**Tabla 1.** Límites máximos permisibles para metales pesados en biosólidos

Contaminante (determinados en forma total)	EXCELENTE	BUENO
	mg/ kg en base seca	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

**Tabla 2.** Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos

Indicador bacteriológico de contaminación	Patógenos	Parásitos
	CLASE	Salmonella spp. NMP/g en base seca
A	Menor de 1000	Menor de 3
B	Menor de 1000	Menor de 10
C	Menor de 2000000	Menor de 35



En esta investigación, se utilizaron biosólidos domésticos tipo excelente, clase C provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales del Parque Tangamanga, de la Cd. de San Luis Potosí, S.L.P. De acuerdo a la Tabla 3 los biosólidos empleados se pueden emplear en usos agrícolas, forestales o de mejoramiento de suelos.

**Tabla 3.** Aprovechamiento de biosólidos

TIPO	CLASE	APROVECHAMIENTO
EXCELENTE	A	Usos urbanos con contacto publico directo durante su aplicación.
EXCELENTE O BUENO	B	Los establecidos para las clases B y C. Usos urbanos sin contacto publico directo durante su aplicación. Los establecidos para la clase C.
EXCELENTE O BUENO	C	Usos forestales Mejoramiento de suelo Usos agrícolas

## 2.4 Métodos analíticos

Los análisis realizados en las muestras de suelos fueron pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica (MO), amonio y fósforo. Los métodos utilizados para la determinación de estas variables en los suelos ígneo y calcáreo, así como en los biosólidos utilizados en los experimentos, se presentan en el Anexo 1.

Los metales pesados se analizaron siguiendo el método descrito en el anexo de la NOM-004-SEMARNAT-2002 Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Para el tratamiento previo que se les da a los biosólidos se empleó la digestión por parrilla, realizando una modificación para la digestión de algunas muestras, ya que en lugar de añadir 10 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado (señalados en la norma), se cambió este ácido por el empleo de agua regia inversa, según lo recomendado por Cook *et al.* (1997).

### 2.4.1. Análisis de metales pesados en partes aéreas y subterráneas de plantas

Se realizó el análisis de metales en biosólidos con el fin de saber si cumplían con los límites máximos permisibles especificados en 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. Dicha norma establece la técnica para la determinación de arsénico, cadmio, cobre, plomo, cromo, mercurio, níquel y zinc,

en muestras de biosólido, por espectrofotometría de absorción atómica, donde el análisis de los elementos se efectúa individualmente.

El principio sobre el cual se basa este método analítico es el de la atomización de la muestra para liberar los átomos, a los que se les aplica una energía de una longitud de onda específica que es absorbida e induce al electrón a pasar a un estado excitado. Esta energía absorbida es proporcional a la concentración del elemento en la muestra analizada.

Para lograr la extracción de los metales se empleó agua regia, según lo recomendado por Radojevic y Bashkin (1999). Como primer paso se pesó un gramo de la muestra y se le agregó el agua regia ya mencionada, se mezcló bien y se dejó reposando durante toda la noche. Al siguiente día se calentó la muestra a 50 °C durante 30 minutos, para posteriormente incrementar la temperatura a 120 °C durante dos horas.

Se dejó enfriar la muestra y se agregaron 10 ml de HNO<sub>3</sub> 0.25 M. Después de esto se filtró la mezcla con papel Whatman y se aforó la muestra hasta 50 ml con el ácido nítrico 0.25 M.

Para preparar el agua regia, se agregaron 130 ml de HCl concentrado a 120 ml de agua y se mezcló. Posteriormente, se añadieron 50 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado y se hizo una mezcla.

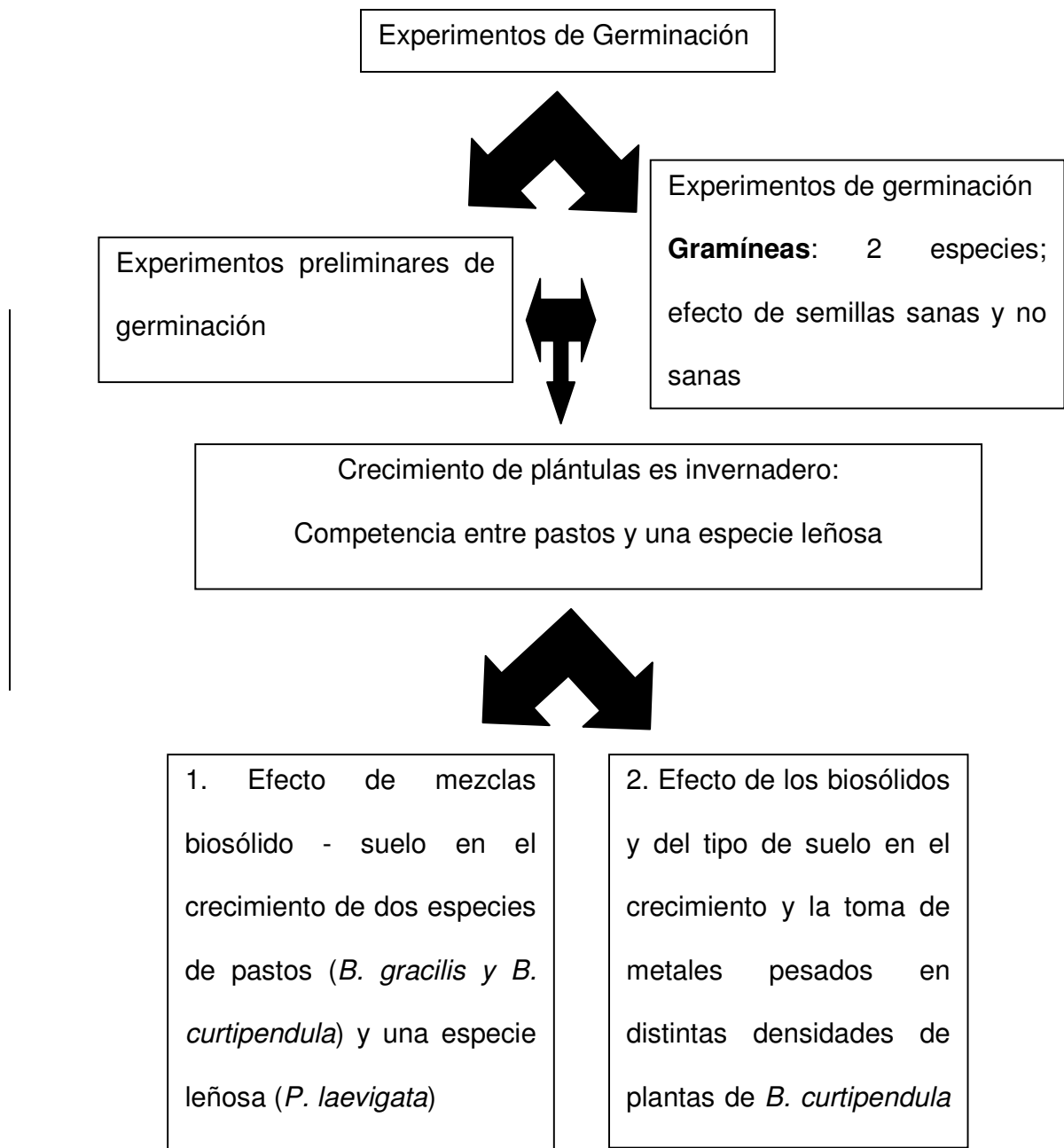
## 2.5 Experimentos de germinación y de crecimiento de plántulas

### 2.5.1 Experimentos de germinación

Se realizaron pruebas de germinación con el fin de evaluar el efecto de la escarificación de semillas y el efecto del sustrato (turba y biosólidos) en la germinación de especies leñosas (*Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata*).

En el caso de las especies de pastos (*Bouteloua gracilis* y *B. curtipendula*) el objetivo fue conocer su capacidad de germinación para de esa manera poder efectuar el trabajo con plántulas en el invernadero. Así mismo se evaluó si su condición morfológica afecta su germinación (semillas sanas y no sanas). El diseño experimental de estas pruebas se encuentra en el Anexo 2.

Con los datos obtenidos a partir de los experimentos de germinación se procedió a realizar experimentos de crecimiento con plántulas en invernadero. La secuencia de los experimentos realizados se muestra en la Figura 1.



**Figura 1.** Secuencia seguida para los experimentos de germinación y crecimiento de plántulas.

## 2.5.2. Experimentos de crecimiento de plántulas en invernadero

2.5.2.1 Efecto de mezclas biosólido - suelo en el crecimiento de dos especies de pastos (*B. gracilis* y *B. curtipendula*) y una especie leñosa (*P. laevigata*): Competencia entre pastos y leñosas.

En este experimento se evaluó el efecto de dos tipos de suelo (ígneo y calcáreo) y tres niveles de biosólidos (0, 1.7 y 3.4 Kg. m<sup>-2</sup>), en el crecimiento de dos especies de pastos (*B. gracilis* y *B. curtipendula*) y una especie leñosa (*P. laevigata*) a distintas densidades de interacción.

Se utilizaron macetas de plástico de 10.5 x 23.5 cm, que se llenaron con una de las mezclas de tipo de suelo - concentraciones de biosólido. Las macetas de suelo ígneo contenían en promedio 1.220 Kg y las de suelo calcáreo 1.16 Kg. Se utilizaron tres concentraciones de biosólido: 0, 1.7 y 3.4 Kg/m<sup>2</sup>. Estas dosis se seleccionaron con base en lo encontrado en la literatura (Rostagno y Sosebee, 2000; Moffet *et al.*, 2005; Hahm y Wester, 2004; Mata-Gonzalez *et al.*, 2002a; 2002b; 2004; Benton y Wester, 1998; Yan *et al.*, 2000; Jurado y Wester, 2001). La cantidad de biosólido en gramos se determinó tomando en cuenta la densidad, la profundidad de los diferentes suelos, así como el peso de las macetas (cantidad de suelo). De acuerdo al tipo de suelo, las concentraciones en g/kg por maceta se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Cálculo de cantidad de biosólido utilizado por maceta en cada tratamiento.

Peso de la maceta (Kg)	Densidad del suelo(Kg/m <sup>3</sup> )	Profundidad (m)	Cantidad de biosólido (Kg/ m <sup>2</sup> )	Cantidad por maceta (Kg)
<b>Suelo ígneo</b>				
1.2	1520	0.193	3.4	0.0139078
			1.7	0.0069539
<b>Suelo calcáreo</b>				
1.16	1170	0.136	3.4	0.0247863
			1.7	0.0123931

Para realizar la siembra en el invernadero, se utilizaron plántulas de dos semanas de edad provenientes de semillas germinadas en el laboratorio. La germinación se realizó en una cámara de germinación a 25 °C, con fotoperíodo de 12 h luz/12 h oscuridad y 60% de humedad relativa. Se colocaron aproximadamente 200 semillas por especie en charolas con una mezcla de tierra y arena. Se hicieron cuatro repeticiones por lo que se tuvieron 800 semillas por especie. Con el fin de favorecer la germinación, las semillas de la especie de mezquite (*P. laevigata*) fueron escarificadas y las de los pastos (*B. gracilis* y *B.*

*curtipendula*) fueron desprovistas de sus cubiertas (aristas, lemas y glumas). Una vez trasplantadas, las plántulas fueron mantenidas durante tres meses con riegos y deshierbes, al final del cual se realizaron mediciones de altura, peso seco (biomasa), área foliar específica (área foliar/biomasa foliar) y cociente raíz/vástago. Para el diseño experimental se utilizó el modelo Box-Behnken, con 27 combinaciones de dosis de biosólido-densidad de plántulas (ver Tabla 5). Este modelo es un método de superficie de respuesta, el cual es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas utilizadas para modelar y analizar problemas en los que una variable de interés es influenciada por otras. El objetivo es optimizar la variable de interés, lo cual se logra al determinar las condiciones óptimas de operación del sistema (Draper y John, 1998). En el modelo Box-Behnken, los puntos se generan seleccionando dos factores y perturbando en forma completa sus niveles; esta estrategia se repite para todos los pares de valores posibles (Draper y John, 1998). Desafortunadamente, la supervivencia de plántulas de las tres especies fue baja en la mayoría de los tratamientos debido probablemente a la intolerancia de las plántulas al trasplante. Así, para realizar los análisis estadísticos se decidió evaluar el efecto de la interacción entre *P. laevigata* y cada una de las especies de pasto.



## Análisis Estadísticos

Se realizaron ANOVAS multifactoriales, con el fin de determinar si la aplicación de biosólidos en cada tipo de suelo afectó el crecimiento (distintas variables) de las especies por efecto de la interacción entre especies; los factores fueron:

La dosis de biosólidos (tres niveles: 0, 1.7 y 3.4 Kg/m<sup>2</sup>)

El tipo de suelo (dos niveles: ígneo y calcáreo)

La interacción entre especies (cinco niveles):

Bocu x Prla (respuesta de Bocu cuando está con Prla)

Bogr x Prla (respuesta de Bogr cuando está con Prla)

Prla x Bocu (respuesta de Prla cuando está con Bocu)

Prla x Bogr (respuesta de Prla cuando está con Bogr)

Prla sin interacción

Las variables de respuesta fueron peso seco (biomasa), área foliar y cociente raíz/vástago.

**Tabla 5.** Diseño Box-Behnken de experimento de crecimiento de plántulas

	Biosólido (Kg/m <sup>2</sup> )	Leñosa (densidad)	Pasto (densidad)
1	0	1	2
2	1.7	3	2
3	3.4	2	3
4	0	3	1
5	3.4	1	1
6	1.7	3	1
7	0	2	1
8	3.4	1	3
9	1.7	1	2
10	1.7	2	1
11	0	2	3
12	3.4	3	1
13	1.7	3	3
14	0	3	3
15	3.4	2	1
16	0	2	2
17	1.7	1	3
18	0	3	2
19	3.4	3	2
20	1.7	2	3
21	0	1	3
22	3.4	2	2
23	0	1	1
24	3.4	1	2
25	1.7	2	2
26	1.7	1	1
27	3.4	3	3

Nota: La tabla presenta las densidades para cada pasto interactuando con el mezquite.

2.5.2.2. Competencia entre pastos y leñosas: Efecto de los biosólidos y del tipo de suelo en el crecimiento y la toma de metales pesados en distintas densidades de plantas de *B. curtipendula* y *P. laevigata*.

Este experimento se realizó con base en los resultados del experimento anterior. *B. gracilis* presentó baja germinación y baja supervivencia de plántulas, así que se decidió no incluirla en el experimento descrito en esta sección. El diseño experimental consistió de 15 combinaciones de densidades de *Prosopis laevigata* - *Bouteloua curtipendula* (Ver Tabla 6) X 2 tipos de suelo (ígneo y calcáreo) X 2 dosis de biosólido (0 y 3.4 Kg/m<sup>2</sup>) X 4 repeticiones, utilizando un total de 240 macetas.

**Tabla 6.-** Densidades de plántulas de *Prosopis laevigata* y *Bouteloua curtipendula*

<i>P. laevigata</i>	<i>B. curtipendula</i>
0	1
0	3
0	5
1	0
1	1
1	3
1	5
3	0
3	1
3	3
3	5
5	0
5	1
5	3
5	5

Al igual que en el experimento anterior hubo mortalidad de plántulas, aunque en menor cantidad, así que las densidades de plántulas que se analizaron al final del experimento se presentan en la Tabla 7.

**Tabla 7.-** Densidades de plántulas de *Prosopis laevigata* y *Bouteloua curtipendula*

Tratamiento	<i>P. laevigata</i>	<i>B. curtipendula</i>
A	1	0
B	1	1
C	1	2
D	1	3
E	2	0
F	2	1
G	2	2
H	0	3

Para este experimento se utilizaron aproximadamente 576 semillas de cada especie para tener las densidades requeridas en el total de macetas, según el diseño experimental planteado. Se utilizaron macetas del mismo tamaño que las usadas en el primer experimento. Se realizó siembra directa de semillas en las macetas, debido a que en el experimento anterior se observó alta mortalidad debido a problemas en el trasplante. Después de germinadas, las plántulas de las

24

distintas combinaciones de tratamientos se mantuvieron por un período de tres meses, al final del cual se realizaron mediciones de peso seco (biomasa), área foliar y cociente raíz/vástago.

El cociente raíz/vástago se obtuvo de acuerdo a Evans (1972). Este valor nos dice a qué estructura de la planta se asignan los recursos, ya sea a la raíz o a los vástagos. Se ha documentado ampliamente que las plantas son capaces de ajustar el tamaño relativo y distribución de su sistema de órganos (sistema de tallo y raíces) en respuesta a los cambios en el suministro externo de recursos, y que este ajuste puede determinar la proporción del crecimiento de la planta. Además, se ha demostrado que la plasticidad en la asignación de recursos es el resultado de diferentes respuestas morfológicas. Por ejemplo, las plantas que distribuyen proporciones relativamente altas de biomasa a las hojas son las que se encuentran en ambientes ricos en nutrientes. Por otro lado, las plantas que se encuentran en ambientes pobres distribuyen altas proporciones de biomasa a su sistema de raíces, ya que en estos lugares la competencia por recursos es mayor (Gedroc *et al.*, 1996). Esto se atribuye a que, cuando no hay limitación de nutrientes y agua, las especies invierten más en hojas para lograr un establecimiento exitoso, capturando energía y produciendo glucosa para gastarla en la síntesis de sus constituyentes bioquímicos (Bazzaz y Grace, 1997). Sin embargo, en suelos con baja humedad y pobres en nutrientes, la asignación de recursos al crecimiento de hojas es menor, debido a la necesidad de desarrollar más raíces para adquirir recursos del suelo.

## Análisis Estadísticos

Para determinar el efecto en pastos se realizaron ANOVAS multifactoriales, con el fin de determinar si la aplicación de biosólidos en cada tipo de suelo afectó el crecimiento (distintas variables) de los pastos por efecto de la densidad; los factores considerados fueron:

La aplicación de biosólidos (dos niveles)

Tratamientos de densidad (ocho niveles)

El tipo de suelo (dos niveles)

Para evaluar la competencia intraespecífica, el nivel de BS en los dos tipos de suelo en *P. laevigata* se realizaron ANOVAS multifactoriales. Los factores fueron:

La aplicación de biosólidos (dos niveles)

Tratamientos de densidad (ocho niveles)

El tipo de suelo (dos niveles)

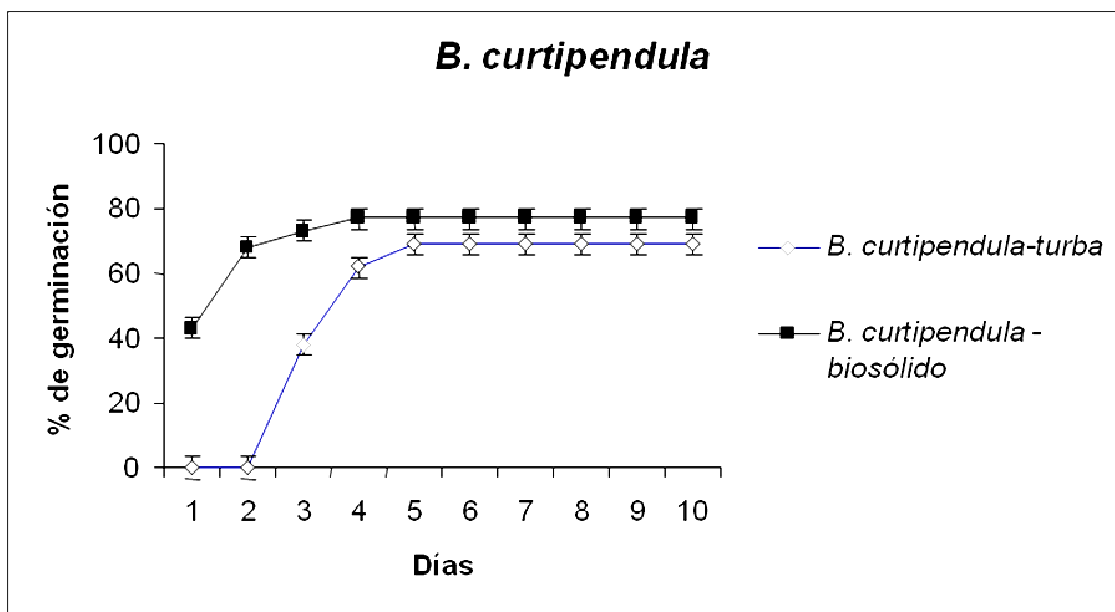
Las variables de respuesta registradas fueron: peso seco (biomasa), área foliar y cociente raíz/vástago.

### 3. RESULTADOS

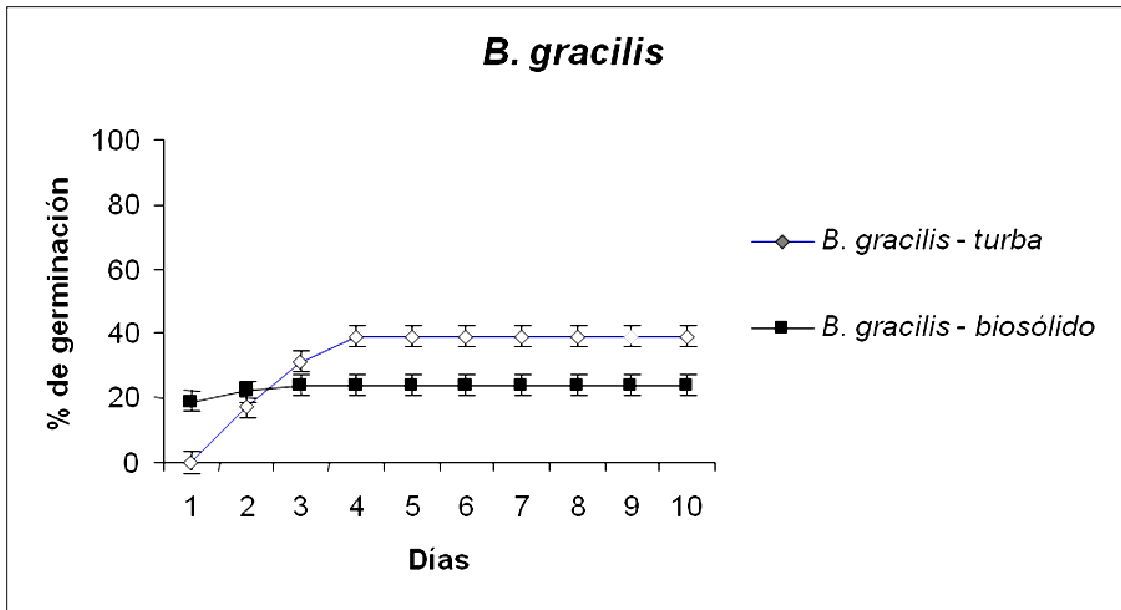
#### 3.1. Resultados de germinación

##### 3.1.1 Pruebas preliminares de germinación de pastos

La germinación de *B. curtipendula* fue mayor que la de *B. gracilis*. La primera especie mostró un porcentaje final de germinación alto tanto en turba como en biosólido, no habiendo diferencias significativas entre ambos tratamientos ( $F = 3.11$ ,  $P > 0.5$ ; Figura 2). En el caso de *B. gracilis*, el porcentaje final de germinación fue mayor en turba que en biosólido ( $F = 13.24$ ,  $P = 0.006$ ; Figura 3).



**Figura 2.** Porcentaje de germinación de *Bouteloua curtipendula* en dos tipos de sustrato.

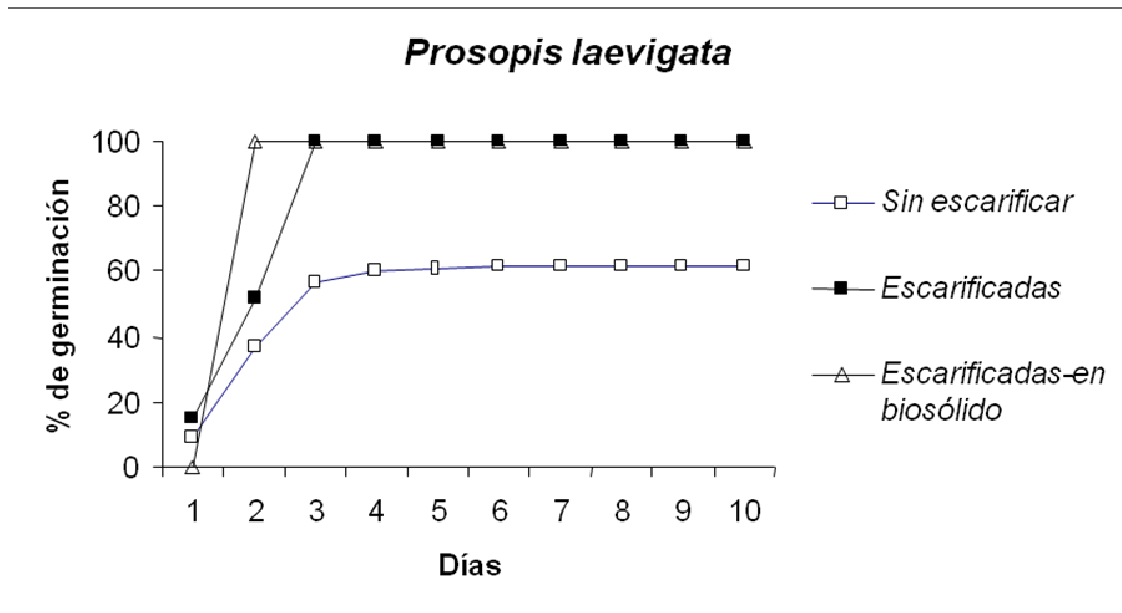


**Figura 3.** Porcentaje de germinación de *Bouteloua gracilis* en dos tipos de sustrato

### 3.1.2. Pruebas preliminares de germinación de leñosas

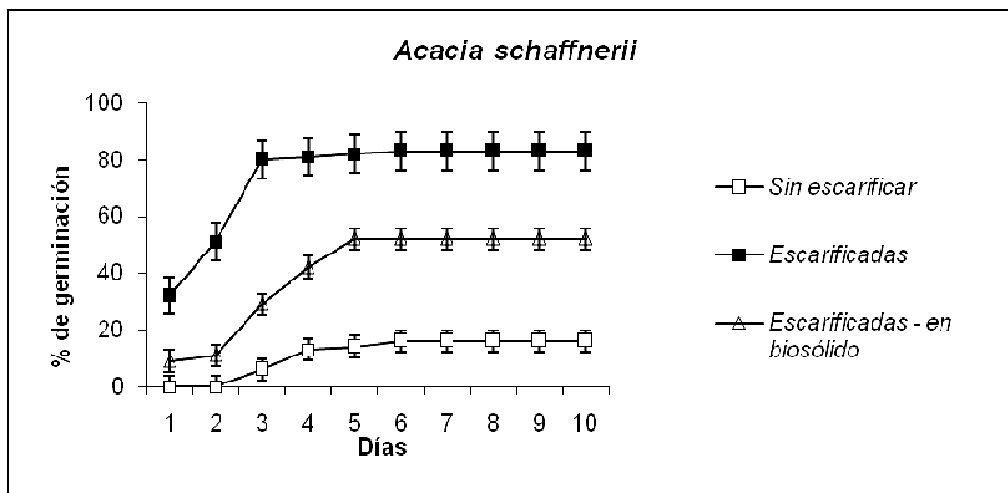
En el caso de *P. laevigata*, se encontró mayor porcentaje final de germinación de semillas en el tratamiento de escarificación, tanto en biosólido como en turba, en comparación con el tratamiento sin escarificación en turba ( $F = 19.187$ ,  $P = 0.0001$ ; Figura 4).





**Figura 4.** Porcentaje de germinación de *Prosopis laevigata* con tratamientos de escarificación en dos tipos de sustratos (turba o suelo comercial y biosólido)

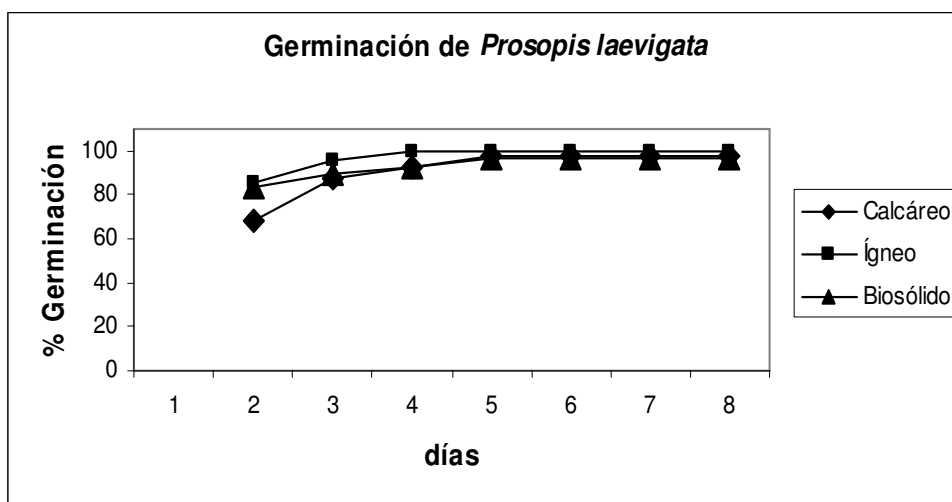
En *Acacia schaffneri*, se encontró alto porcentaje final de germinación de semillas en turba y de semillas en biosólido como sustrato, ambas escarificadas; no habiendo diferencias significativas entre ambos tratamientos ( $F = 0, P > 0.05$ ). Las semillas sin escarificar presentaron germinación baja ( $F = 25.66, P < 0.0001$ ; Figura 5).



**Figura 5.** Porcentaje de germinación de *Acacia schaffnerii* con tratamientos de escarificación en dos tipos de sustratos. (turba o suelo comercial y biosólido)

### 3.1.3 Pruebas de germinación de *P. laevigata* en distintos sustratos

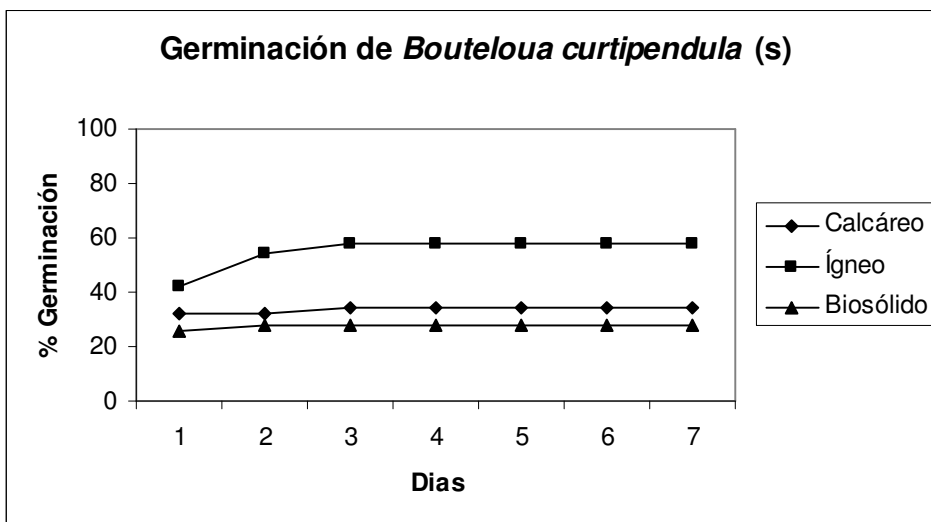
El porcentaje de germinación fue alto en los tres sustratos, no habiendo diferencias significativas entre ellos ( $F = 1.91$ ,  $P = 0.19$ ; Figura 6).



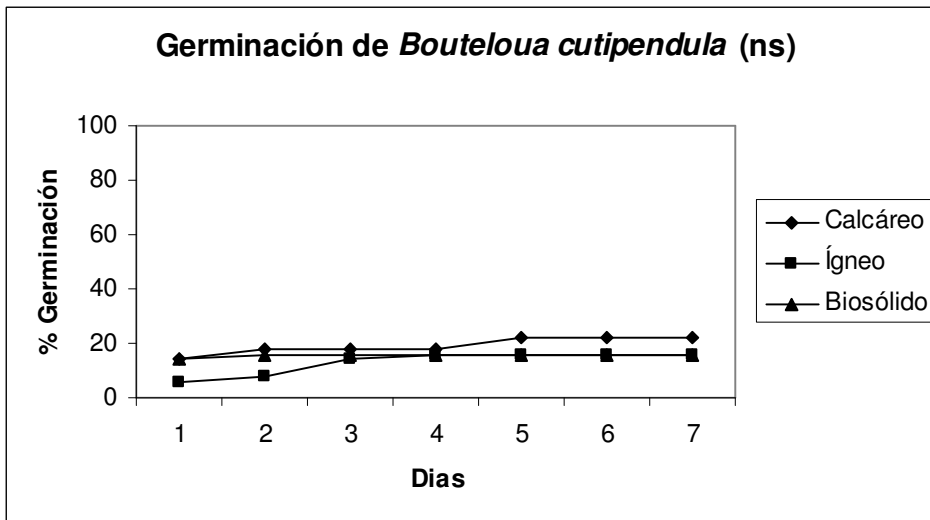
**Figura 6.** Porcentaje de germinación de *Prosopis laevigata* (escarificada) en tres tipos de sustratos

### 3.1.4 Pruebas de germinación de *Bouteloua gracilis* y *Bouteloua curtipendula*

En general, la germinación de semillas fue más alta para *B. curtipendula* que para *B. gracilis*. Al hacer el análisis de las especies, para *B. curtipendula* se encontraron efectos significativos de la condición de las semillas (sanas y no sanas), así como también del tipo de sustrato. Las semillas sanas tuvieron mayor germinación que las no sanas ( $F = 12.007$ ,  $P = 0.002$ ; Figuras 7 y 8). En el caso de las sanas, hubo mayor germinación en el suelo calcáreo que en los otros dos sustratos ( $F = 4.12$ ,  $P = 0.04$ ; Figura 7). Para las no sanas no hubo diferencias en la germinación entre sustratos ( $F = 0.03$ ,  $P = 0.9698$ ; Figura 8).

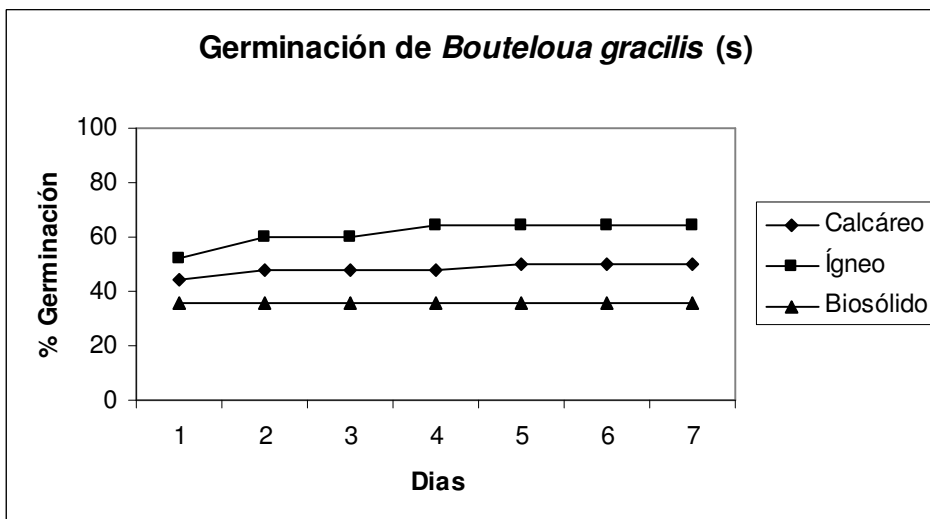


**Figura 7.** Porcentaje de germinación de semillas sanas (s) de *Bouteloua curtipendula*, en tres tipos de sustratos.

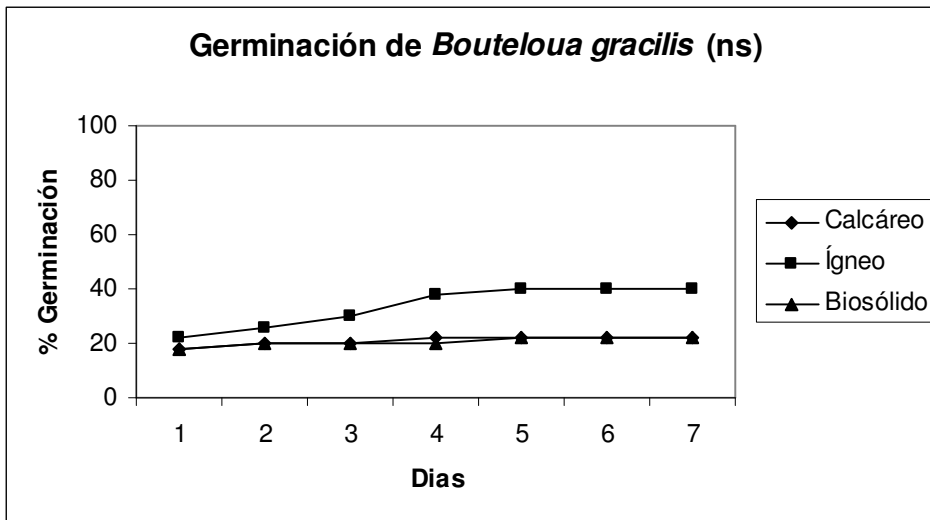


**Figura 8.** Porcentaje de germinación de semillas no sanas (ns) de *Bouteloua cutipendula*, en tres tipos de sustratos

En el caso de *B. gracilis*, se encontró un efecto significativo de la condición de las semillas. Las semillas sanas presentaron mayor germinación que las no sanas ( $F = 10.7370$ ,  $P < 0.0032$ ; Figuras 9 y 10).



**Figura 9.** Germinación de semillas sanas (s) de *B. gracilis* en tres tipos de sustratos



**Figura 10.** Germinación de semillas de *B. gracilis* con apariencia no sana (ns), en tres tipos de sustratos

### 3.2 Resultados de los experimentos de crecimiento de plántulas

3.2.1 Efecto de mezclas biosólido - suelo en el crecimiento de dos especies de pastos (*B. gracilis* y *B. curtipendula*) y una especie leñosa (*P. laevigata*): Competencia entre pastos y leñosas.

A continuación se presentan los resultados para las variables de respuesta área foliar, biosólido ó peso seco y cociente raíz/vástago. Los datos obtenidos para estas variables de respuesta fueron transformados por medio del logaritmo natural, con el fin de normalizarlos y así cumplir con los requisitos de homogeneidad de varianzas (Sokal y Rohlf, 1994).

### Área foliar

Esta variable fue afectada por los factores suelo e interacción entre especies, pero no por el factor dosis de biosólido ni por las interacciones entre los factores (Tabla 8).

**Tabla 8.** Análisis estadístico de la varianza del área foliar en la interacción de *Prosopis laevigata* con las especies *Bouteloua gracilis* y *Bouteloua curtipendula*.

Fuente de variación	GL	SC	F	P
Suelo	1	0.454	5.306	<0.05*
Interacción entre especies	4	1.154	3.368	<0.05*
Biosólido	2	0.059	0.348	0.7066
Suelo X Interacción entre especies	4	0.481	1.405	0.2365
Biosólido X Interacción entre especies	8	0.403	0.589	0.7852
Suelo X Biosólido	2	0.008	0.050	0.9506
Suelo X Interacción entre especies	8	1.054	1.538	0.1514

Nota: el asterisco indica que es un valor significativo

El área foliar promedio por planta de *P. laevigata* fue mayor en suelo ígneo ( $68.44 \pm 3.69 \text{ cm}^2$ ) que en suelo calcáreo ( $56.33 \pm 5.00 \text{ cm}^2$ ). Con respecto a las interacciones de las pastos con *P. laevigata*, esta variable fue mayor en *Bouteloua curtipendula* ( $96.07 \pm 6.87 \text{ cm}^2$ ) que en *B. gracilis* ( $48.95 \pm 7.92 \text{ cm}^2$ ) ( $F = 5.007$ ,  $P < 0.0001$ ), mientras que *P. laevigata* desarrolló mayor área foliar cuando creció con *B. gracilis* ( $62.31 \pm 7.92 \text{ cm}^2$ ) que con *B. curtipendula* ( $38.10 \pm 6.87 \text{ cm}^2$ ) ( $F =$

6.91,  $P < 0.009$ ). No hubo diferencias estadística significativas entre el área foliar de *P. laevigata* asociada con *B. gracilis* ( $62.31 \pm 7.92 \text{ cm}^2$ ) y el área foliar de *P. laevigata* solitaria ( $66.49 \pm 4.70 \text{ cm}^2$ ) ( $F = 0.09$ ,  $P > 0.05$ ).

#### *Peso seco ó biomasa*

El peso seco fue afectado por el factor suelo, así como por la interacción suelo X biosólido (Tabla 9).

**Tabla 9.** Análisis estadístico de la varianza del peso seco en la interacción de *Prosopis laevigata* con las especies *Bouteloua gracilis* y *Bouteloua curtipendula*.

Fuente de variación	GL	SC	F	P
Suelo	1	4.845	7.896	<0.01*
Biosólido	2	2.594	2.114	0.13
Interacción entre especies	4	1.410	0.574	0.68
Suelo X Biosólido	2	6.943	5.658	<0.01*
Biosólido X Interacción entre especies	8	6.698	1.364	0.22
Suelo X Interacción entre especies	4	5.778	2.354	0.06
Suelo X Biosólido X Interacción entre especies	8	8.437	1.718	0.10

El peso seco de *P. laevigata* fue mayor en suelo calcáreo ( $1.35 \pm 0.12 \text{ g}$ ) que en suelo ígneo ( $1.04 \pm 0.09 \text{ g}$ ) ( $F = 7.89$ ;  $P = 0.006$ ). La interacción suelo x biosólido no fue significativa en el suelo calcáreo ( $F = 0.48$ ;  $P > 0.05$ ). Sin embargo, con respecto al control en el suelo ígneo se obtuvo un peso seco más

alto de *P. laevigata* en las concentraciones de 1.7 ( $F = 17$ ;  $P < 0.0001$ ) y 3.4 Kg/m<sup>2</sup> de biosólidos ( $F = 6.90$ ;  $P = 0.009$ ) (Tabla 10).

**Tabla 10.** Promedio de biomasa de plántulas de *P. laevigata* en suelos ígneo y calcáreo con distintas concentraciones de biosólido.

Cantidad de biosólido (Kg/m <sup>2</sup> )	Promedio (± Error estándar (E.E.))
Suelo calcáreo	
0	1.644 ± 0.23 <sup>a</sup>
1.7	1.411 ± 0.22 <sup>a</sup>
3.4	1.022 ± 0.21 <sup>a</sup>
Suelo ígneo	
0	0.569 ± 0.18 <sup>a</sup>
1.7	1.376 ± 0.13 <sup>b</sup>
3.4	1.190 ± 0.16 <sup>b</sup>

#### *Cociente raíz/vástago*

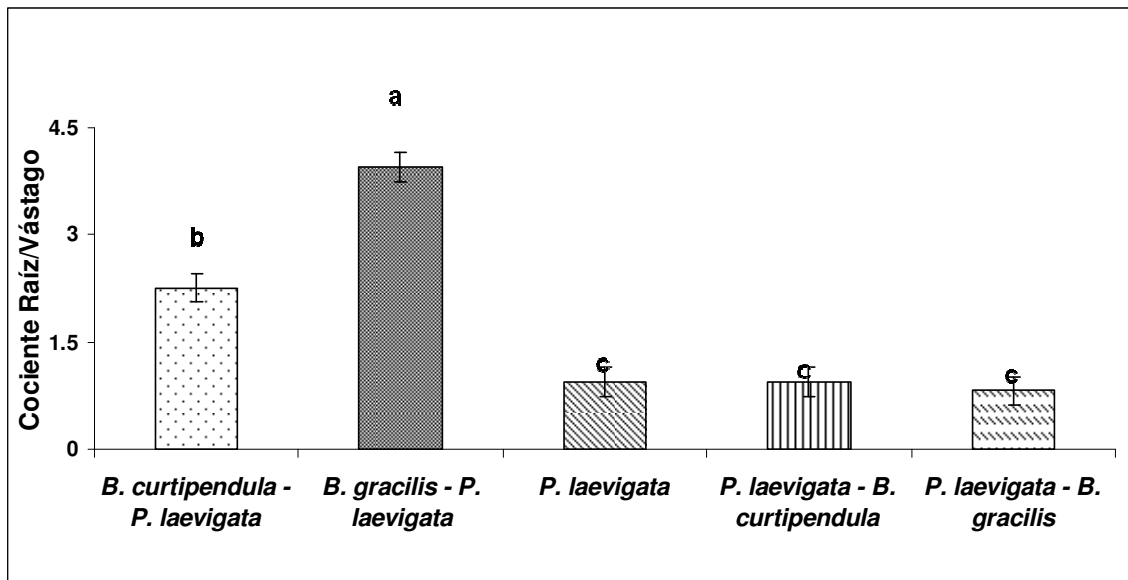
El cociente raíz/vástago fue significativo para el factor interacción entre especies solamente, los otros factores y las interacciones entre todos los factores no fueron diferentes significativamente para esta variable de respuesta (Tabla 11).



**Tabla 11.** Análisis estadístico de la varianza del Cociente Raíz/Vástago para *P. laevigata*

Fuente variación	GL	SC	F	P
Suelo	1	0.058	0.265	0.6074
Interacción entre especies	4	29.813	33.786	< 0.0001*
Biosólido	2	0.907	2.057	0.1325
Suelo X Interacción entre especies	4	0.256	0.291	0.8833
Interacción entre especies X Biosólido	8	2.129	1.206	0.3012
Suelo X Biosólido	2	0.858	1.944	0.1477
Suelo X Interacción entre especies X Biosólido	8	1.409	0.798	0.6048

*Bouteloua gracilis* y *B. curtipendula* asociados a *P. laevigata* tuvieron mayor Cociente Raíz/Vástago que *P. laevigata* asociado a los pastos ( $F = 33.786$ ,  $P < 0.0001$ ; Ver Figura 11).



**Figura 11.** Promedio  $\pm$  E.E. por especie del Cociente Raíz/Vástago. Letras distintas significan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.0001$ ).

3.2.2 Competencia entre pastos y leñosas: Efecto de los biosólidos y del tipo de suelo en el crecimiento y la toma de metales pesados en distintas densidades de plantas de *B. curtipendula* y *P. laevigata*.

Se hicieron análisis por separado para cada una de las especies. Los resultados se presentan a continuación.

#### Área foliar (AF)

La interacción suelo x biosólido fue significativa para el AF de *P. laevigata* (Ver Tabla 12). El AF fue mayor en el suelo calcáreo sin BS ( $159.86 \pm 1.13 \text{ cm}^2$ ) que con BS ( $103.49 \pm 1.15 \text{ cm}^2$ ). Para el suelo ígneo no hubo diferencias

estadísticas entre tratamientos ( $136.02 \pm 1.15 \text{ cm}^2$  en el control vs.  $160.57 \pm 1.14 \text{ cm}^2$  con BS).

**Tabla 12.** Análisis de Varianza de área foliar de *Prosopis laevigata*

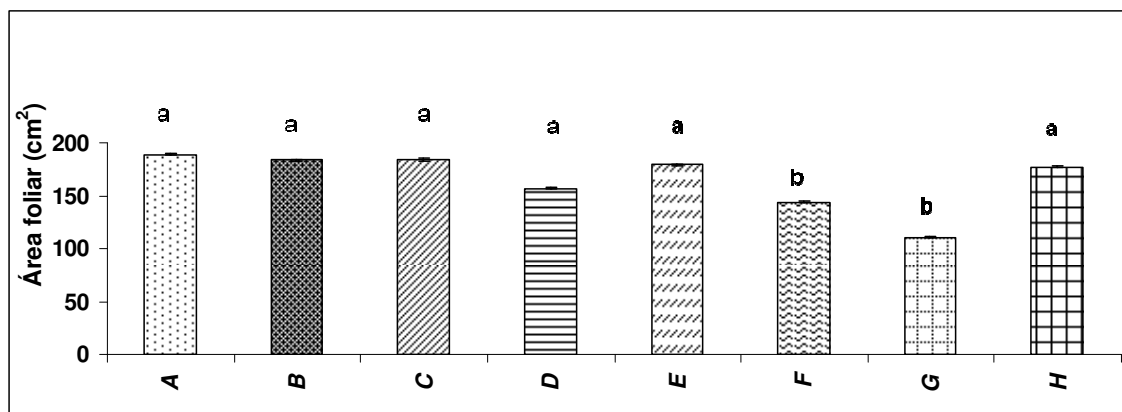
Fuente de variación	GL	SC	F	P
Suelo	1	0.345	1.084	0.3008
Biosólido	1	0.323	1.016	0.3164
Densidad	7	2.740	1.230	0.2961
Suelo X Biosólido	1	1.614	5.073	<0.05*
Biosólido X Densidad	7	1.843	0.827	0.5675
Suelo X Densidad	7	1.457	0.654	0.7097
Suelo X Biosólido X Densidad	7	1.669	0.749	0.6309

Para *Bouteloua curtipendula*, el área foliar fue afectada por la densidad, así como también por las interacciones suelo X densidad, biosólido X densidad y suelo X biosólido X densidad (Tabla 13, Figuras 12, 13 y 14).

**Tabla 13.** Análisis de varianza del área foliar de *Bouteloua curtipendula*

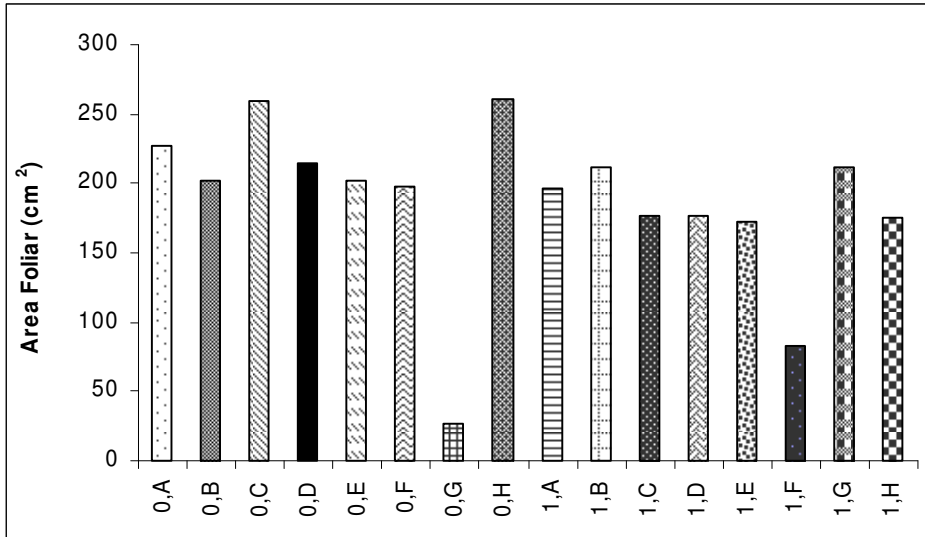
Fuente de variación	GL	SC	F	P
Suelo	1	0.113	2.014	0.1592
Biosólido	1	0.006	0.123	0.7262
Densidad	7	1.852	4.692	<0.001*
Suelo X Biosólido	1	0.007	0.127	0.7216
Suelo X Densidad	7	1.897	4.807	<<0.001*
Biosólido X Densidad	7	2.576	6.526	<<0.001*
Suelo X Biosólido X Densidad	7	1.937	4.906	<<0.001*

En general, los tratamientos con mayor densidad de plántulas de *P. laevigata* compitiendo con *B. curtipendula* (tratamientos F y G) tuvieron menor área foliar (Figura 12).

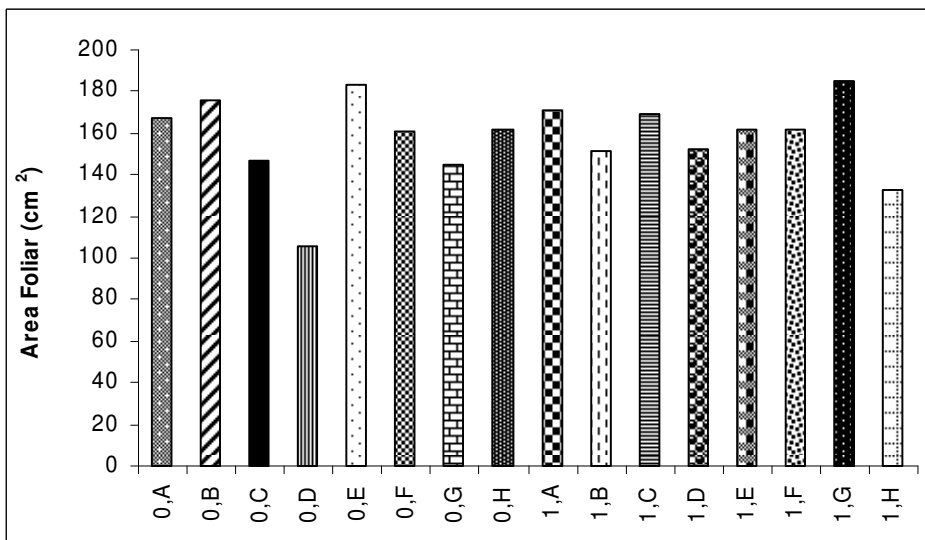


**Figura 12.** Promedio de área foliar de *B. curtipendula* bajo distintas densidades de *P. laevigata*. Letras minúsculas distintas significan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.0001$ ).

Nota: Las letras que indican los tratamientos, son las densidades de plantas por maceta: A=1,0 (*B. curtispindula*, *P. laevigata*); B=1,1; C=1,2; D=1,3; E=2,0; F=2,1; G=2,2; H=3,0.



**Figura 13.** Promedios de área foliar para *B. curtispindula* en la interacción Suelo calcáreo X biosólido X densidad.



**Figura 14.** Promedios de área foliar para *B. curtispindula* en la interacción Suelo ígneo X biosólido X densidad. Nota: Los números indican los tratamientos de

biosólido: 0 = sin biosólido y 1 = con biosólido. Las letras indican los tratamientos a diferentes densidades de plantas por maceta: A=1,0 (*B. curtipendula*, *P. laevigata*); B=1,1; C=1,2; D=1,3; E=2,0; F=2,1; G=2,2; H=3,0.

#### *Peso seco o biomasa*

En el caso de *Bouteloua curtipendula*, el peso seco fue afectado por los factores suelo y biosólido solamente (Tabla 14). En suelo calcáreo se registró un peso seco menor ( $2.41 \pm 0.12$  g) que en suelo ígneo ( $5.74 \text{ g} \pm 0.11$  g). Con respecto a la cantidad de biosólido presente en el suelo, fue en las macetas en donde se agregó el biosólido en donde las plántulas de esta especie presentaron mayor cantidad de peso seco ( $5.25 \pm 0.11$  g) en comparación con suelo sin biosólido ( $2.64 \pm 0.12$  g).

**Tabla 14.** Análisis de varianza del Peso seco de *Bouteloua curtipendula*

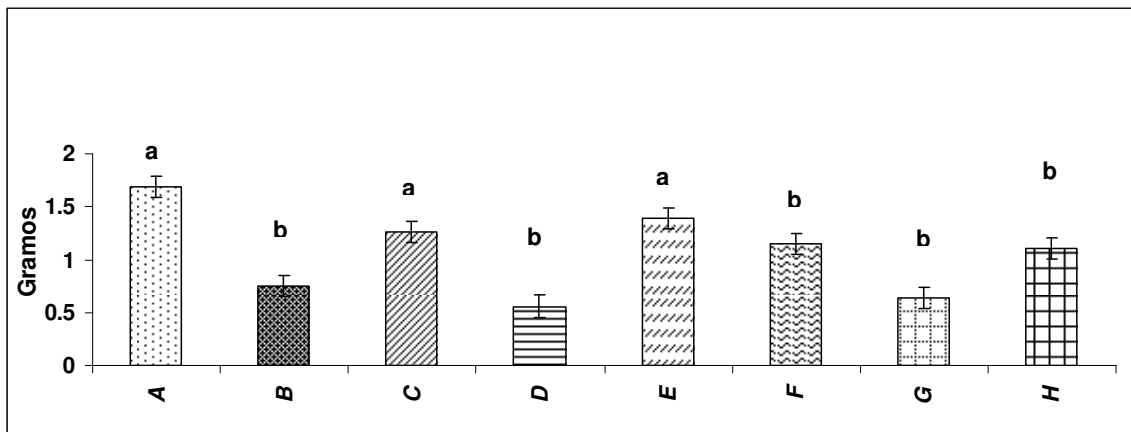
Fuente de variación	GL	SC	F	P
Suelo	1	13.46	29.167	<.0001*
Biosólido	1	8.507	18.432	<.0001*
Densidad	7	5.813	1.799	0.0967
Suelo X Biosólido	1	1.487	3.223	0.0759
Biosólido X Densidad	7	3.544	1.097	0.3717
Suelo X Densidad	7	2.187	0.676	0.6911
Suelo X Biosólido X Densidad	7	3.642	1.127	0.3530

Para *Prosopis laevigata*, el peso seco se vio afectado por el tipo de suelo en el cual creció la plántula y la densidad de plantas, así como por los factores suelo X biosólido y biosólido X densidad (Tabla 15).

**Tabla 15.** Análisis de Varianza de Biomasa de *Prosopis laevigata*

Fuente de variación	GL	SC	F	P
Suelo	1	3.403	7.697	0.0069*
Biosólido	1	0.693	1.569	0.2139
Densidad	7	12.588	4.066	0.0007*
Suelo X Biosólido	1	8.371	18.930	<0.0001*
Biosólido X Densidad	7	7.873	2.543	0.0203*
Densidad X Suelo	7	0.649	0.209	0.9823
Suelo X Biosólido X Densidad	7	2.154	0.695	0.6753

En suelo calcáreo se registró un peso seco menor ( $0.81 \pm 0.12$  g) que en suelo ígneo ( $1.25 \pm 0.11$  g). Con respecto a la densidad, se encontró mayor peso seco cuando se encontraba una plántula sola de *P. laevigata* sin interacción con plántulas de la misma especie o de *B. curtispindula*, así como menor peso seco cuando estuvieron juntas dos plántulas de cada especie (Figura 15).

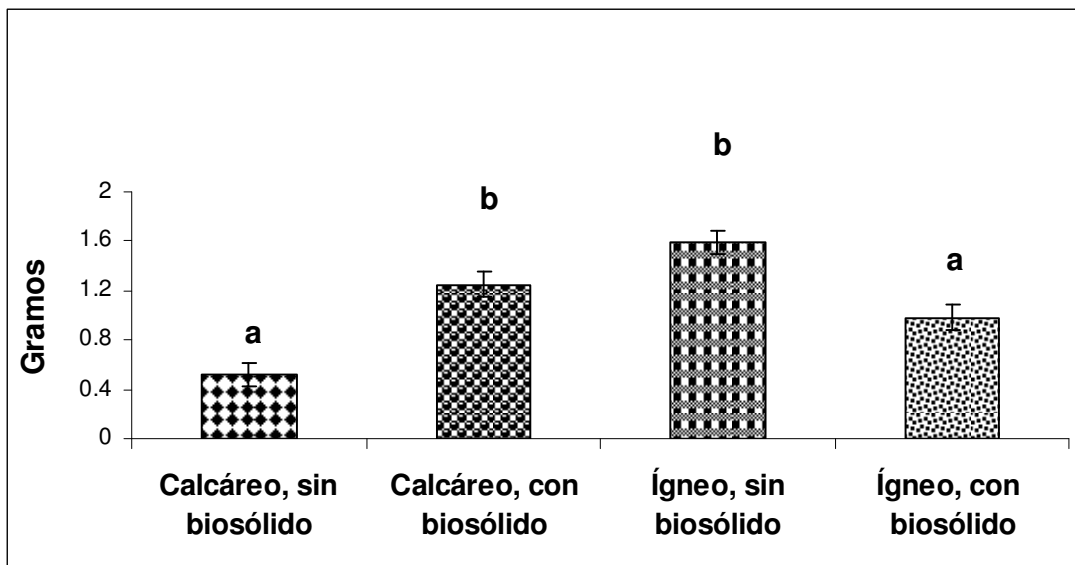


**Figura 15.** Promedios de biomasa (g) de *P. laevigata* para los tratamientos de Densidad. Letras minúsculas distintas significan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.0001$ ).

Nota: Las letras que indican los tratamientos, son las densidades de plantas por maceta: A=1,0 (*P. laevigata*, *B. curtispindula*); B=1,1; C=1,2; D=1,3; E=2,0; F=2,1; G=2,2; H=3,0.

Para la interacción Suelo x Biosólido, en suelo calcáreo el peso seco ( $1.25 \pm 0.17$  g) mayor se presentó con la adición de biosólidos respecto al control sin biosólidos ( $0.51 \pm 0.16$  g). Lo contrario ocurrió en el suelo ígneo, el tratamiento con biosólido presentó un peso seco menor ( $0.98 \pm 0.16$  g) respecto al control sin biosólido ( $1.59 \text{ g} \pm 0.17$ : Figura 16).

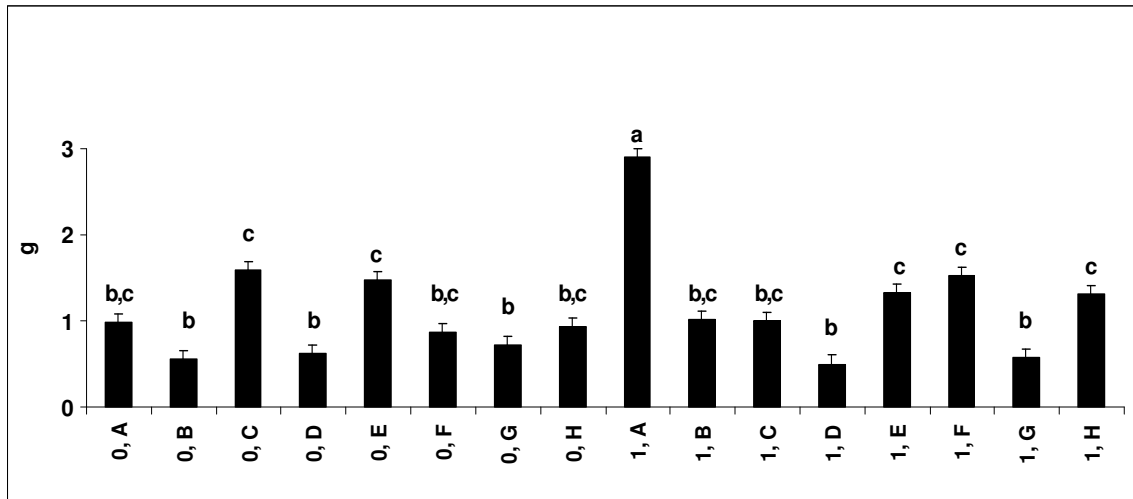




**Figura 16.** Promedios de biomasa de *P. laevigata* para la interacción Suelo X Biosólido. Letras minúsculas distintas significan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.0001$ ).

Los resultados de la interacción Biosólido X Densidad indican que con la aplicación de  $3.4 \text{ Kg/m}^2$  de biosólidos *P. laevigata* se obtuvo un peso seco menor cuando estuvo en competencia ( $P = 0.02$ ). El peso seco más alto se obtuvo en el tratamiento de  $3.4 \text{ Kg/m}^2$  de biosólidos con un individuo de *P. laevigata* sin interacción (sin competencia) (Ver Figura 17).

**Figura 17.** Promedios de biomasa para *P. laevigata* en la interacción biosólido X densidad.



Nota: Los números indican los tratamientos de biosólido: 0 = sin biosólido y 1 = con biosólido. A=1,0 (*P. laevigata*, *B. curtipendula*); B=1,1; C=1,2; D=1,3; E=2,0; F=2,1; G=2,2; H=3,0. Letras minúsculas distintas significan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.0001$ ).

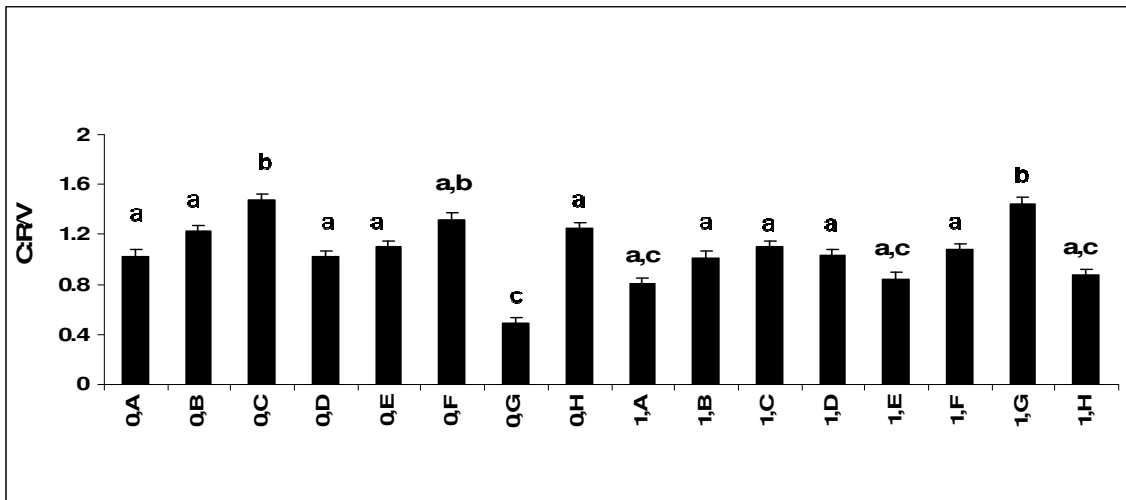
*Cociente Raíz/ Vástago (C: R/V)*

Para *Bouteloua curtipendula*, se encontraron efectos significativos de las interacciones Biosólido X Densidad, Suelo X Densidad y Suelo X Biosólido X Densidad (Tabla 16).

**Tabla 16.** Análisis de Varianza del cociente Raíz/Vástago de *Bouteloua curtipendula*

Fuentes de variación	GL	SC	F	P
Suelo	1	0.012	0.078	0.7805
Biosólido	1	0.057	0.360	0.5499
Densidad	7	1.641	1.462	0.1904
Suelo X Biosólido	1	0.005	0.032	0.8584
Biosólido X Densidad	7	2.550	2.272	<0.05*
Suelo X Densidad	7	3.145	2.802	0.01*
Suelo X Biosólido X Densidad	7	2.413	2.150	<0.05*

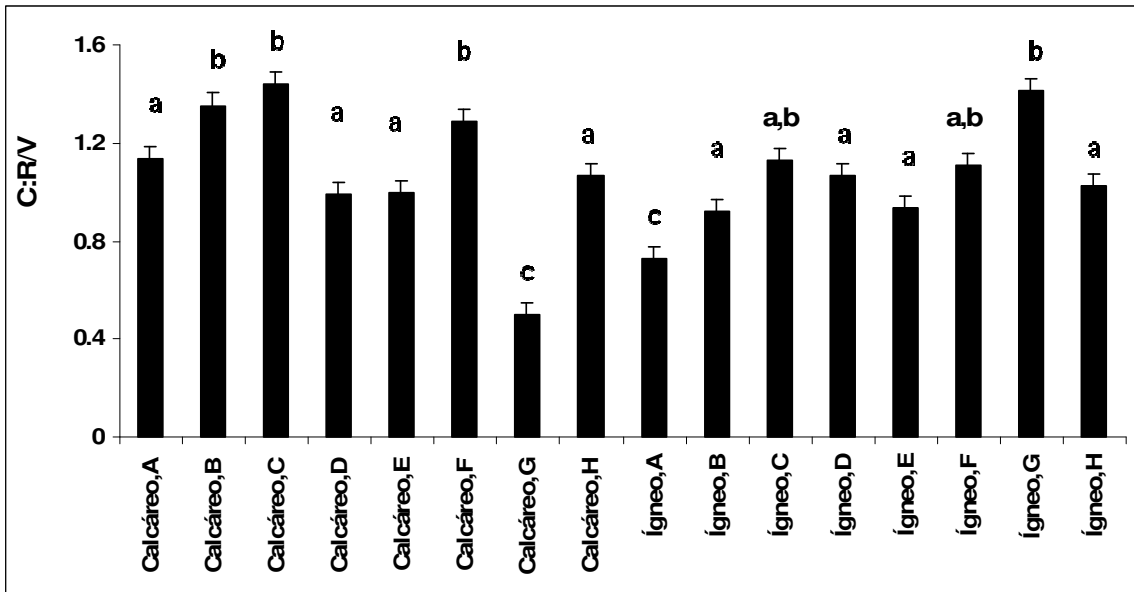
El efecto del Biosólido X Densidad se presenta en la Figura 18, en donde se observa que sin adición de biosólidos el cociente R/V de *B. curtipendula* es menor cuando la densidad es 2:2 y mayor cuando la densidad es de 1:2. En cambio, con biosólidos el cociente R/V en la densidad 2:2 es mayor que en los demás tratamientos.



**Figura 18.** Promedios  $\pm$  error estándar del cociente R/V de *B. curtipendula* en la interacción Biosólido X Densidad. Letras minúsculas distintas significan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.0001$ ).

Nota: Las letras que indican los tratamientos, son las densidades de plantas por maceta: A=1,0 (*B. curtipendula*, *P. laevigata*); B=1,1; C=1,2; D=1,3; E=2,0; F=2,1; G=2,2; H=3,0.

En la Figura 19 se observa que en suelo calcáreo el cociente R/V de *B. curtipendula* es menor cuando hay mayor competencia (densidad 2:2). En cambio, en suelo ígneo bajo la misma densidad no se muestra tal competencia y el cociente R/V es mayor que en los demás tratamientos.



**Figura 19.** Promedios  $\pm$  error estándar del cociente R/V de *B. curtipendula* en la interacción Suelo X Densidad. Letras minúsculas distintas significan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.0001$ ).

Nota: Las letras que indican los tratamientos, son las densidades de plantas por maceta: A=1,0 (*B. curtipendula*, *P. laevigata*); B=1,1; C=1,2; D=1,3; E=2,0; F=2,1; G=2,2; H=3,0.

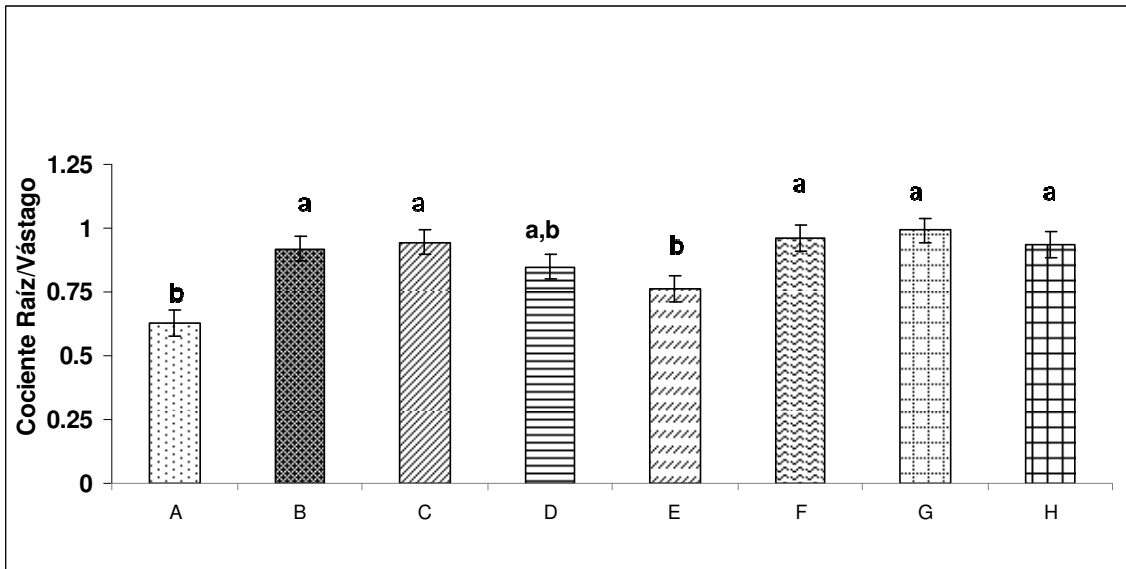
En la Tabla 17 se muestran los efectos significativos de las variables Suelo, Biosólido y Densidad sobre el cociente Raíz/Vástago de *P. laevigata*.

**Tabla 17.** Análisis de varianza del cociente Raíz/Vástago de *Prosopis laevigata*

Fuente de variación	GL	SC	F	P
Suelo	1	1.358	8.274	<0.01*
Biosólido	1	1.622	9.880	<0.01*
Densidad	7	2.996	2.607	<0.05*
Suelo X Biosólido	1	0.026	0.158	0.6915
Biosólido X Densidad	7	1.193	1.038	0.4111
Suelo X Densidad	7	1.003	0.872	0.5316
Suelo X Biosólido X Densidad	7	0.983	0.855	0.5454

El cociente R/V para *P. laevigata* en el suelo calcáreo fue mayor ( $0.99 \pm 0.07$ ) que el del suelo ígneo ( $0.75 \pm 0.07$ ). En el caso del factor biosólido, se obtuvo un promedio más alto ( $1.00 \pm 0.06$ ) para el control que para el tratamiento con biosólidos ( $0.74 \pm 0.07$ ).

Los resultados para el factor densidad se detallan en la Figura 20, la cual muestra que la competencia con plántulas de *B. curtipendula* produjo aumento del cociente R/V en *P. laevigata*. Es decir, que esta última especie asigna mayor cantidad de recursos a la raíz cuando se encuentra en competencia con el pasto, independientemente si se aplican o no biosólidos.



**Figura 20.** Promedios de cociente raíz/vástago de *P. laevigata* en distintos tratamientos de densidad de plántulas. Letras minúsculas distintas significan diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.0001$ ).

Nota: Las letras que indican los tratamientos, son las densidades de plantas por maceta: A=1,0 (*P. laevigata*, *B. curtipendula*); B=1,1; C=1,2; D=1,3; E=2,0; F=2,1; G=2,2; H=3,0.

### 3.3. Análisis fisicoquímicos para suelo y biosólidos

En la Tabla 18 se presentan los resultados obtenidos de los análisis físico-químicos de los dos tipos de suelo utilizados y del biosólido.

**Tabla 18.** Análisis físico-químico de los dos tipos de suelo utilizados y del biosólido

	pH	CE (mmho/cm)	Fósforo (ppm)	Amonio	MO %
Calcáreo	7.83	0.27103	155.7	12.15	1.14
Ígneo	7.26	0.14933	161.05	2.12	2.5
Biosólido	6.62	0.7755			

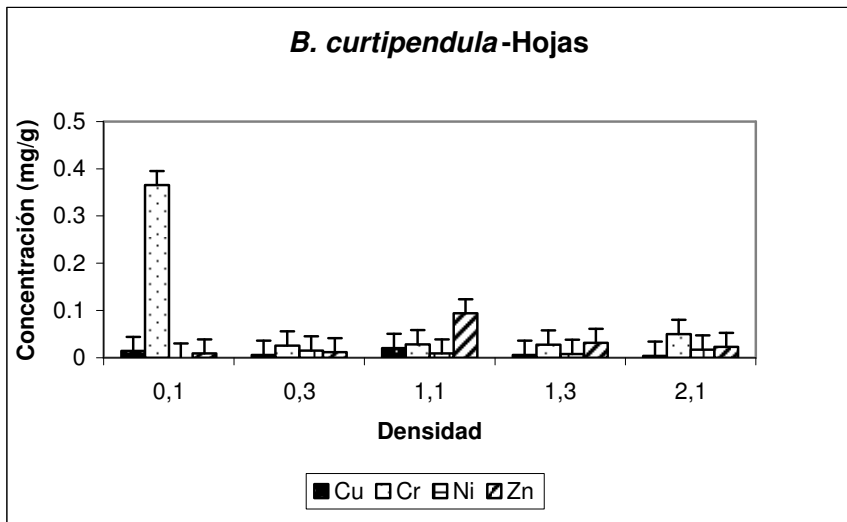
### 3.4 Análisis de metales pesados en plantas

A continuación se presentan los resultados de metales pesados analizados en plantas de acuerdo a la densidad en la cual se encontraban, y de acuerdo a la aplicación de biosólido. En las Figuras 21 a la 26, el primer numeral de la densidad corresponde a *P. laevigata*, mientras que el segundo corresponde a *B. curtipendula*.

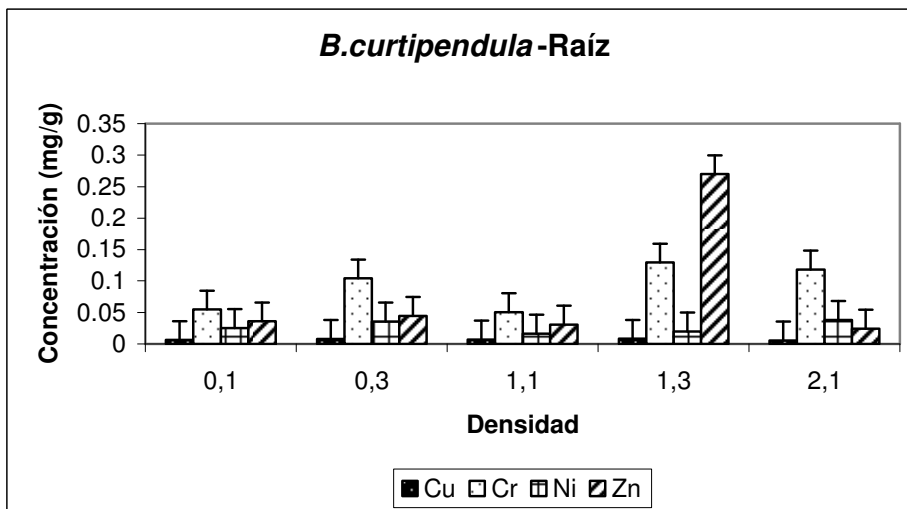
En la Figura 21a se observa que hubo mayor cantidad de cromo en las hojas de *Bouteloua curtipendula* cuando se encuentra sin interacción y sin aplicación de biosólidos en el suelo calcáreo. En la Figura 21b se destacan que en la densidad de 1 *P. laevigata* - 3 *B. curtipendula* la concentración de Zinc fue más alta que en las demás densidades.



a)



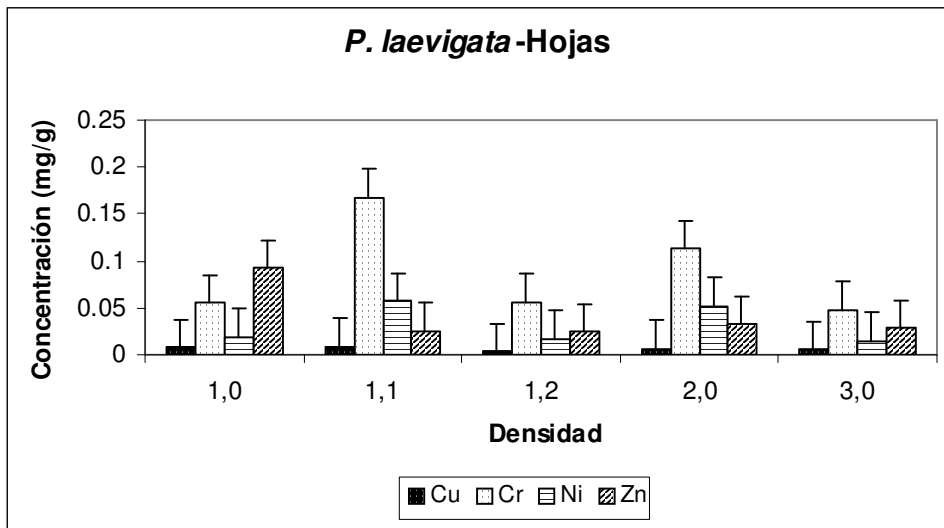
b)



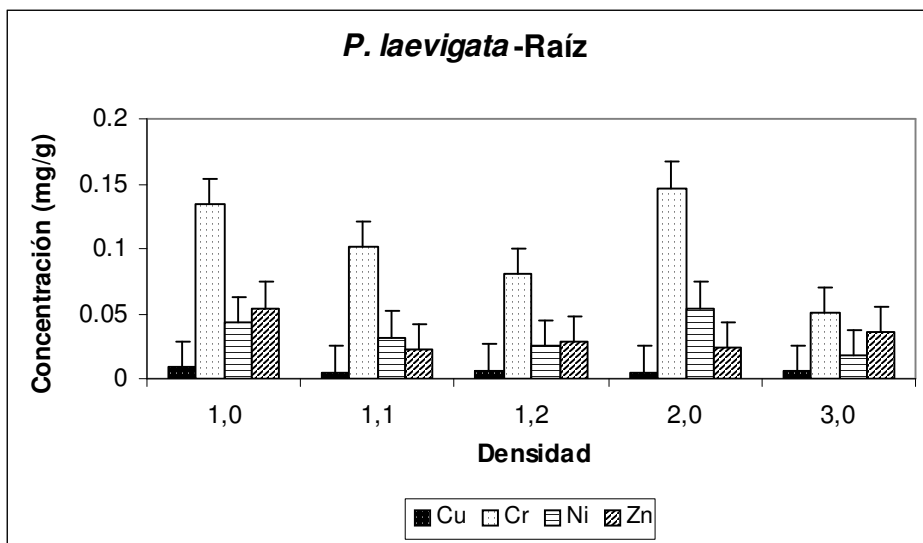
**Figura 21.** Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de *B. curtipendula* para suelo calcáreo sin agregar biosólido.

También en sustrato sin biosólido y en suelo calcáreo, el cromo registró la concentración más alta tanto en la parte aérea como en la parte subterránea de *P. laevigata* (Figuras 22a,b).

a)



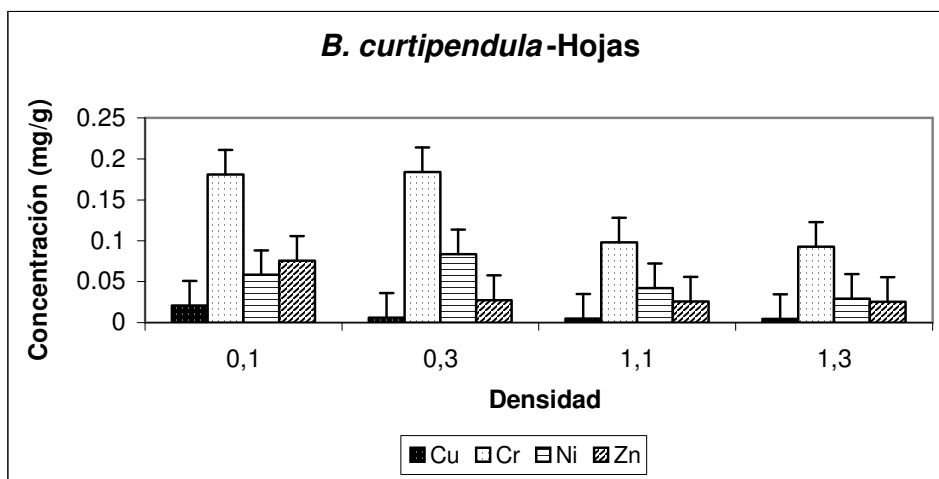
b)



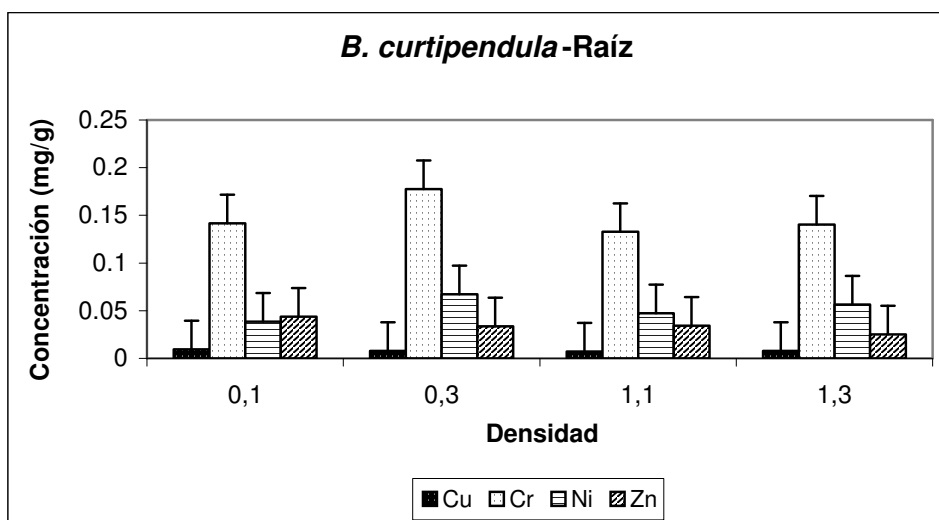
**Figura 22.** Metales presentes en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de *P. laevigata* para suelo calcáreo sin agregar biosólido.

Con aplicación de biosólido en suelo calcáreo, el cromo fue el metal pesado con mayor concentración en raíces y hojas de las especies *Bouteloua curtipendula* (Figuras 23a, b) y *P. laevigata* (Figuras 24a, b).

a)

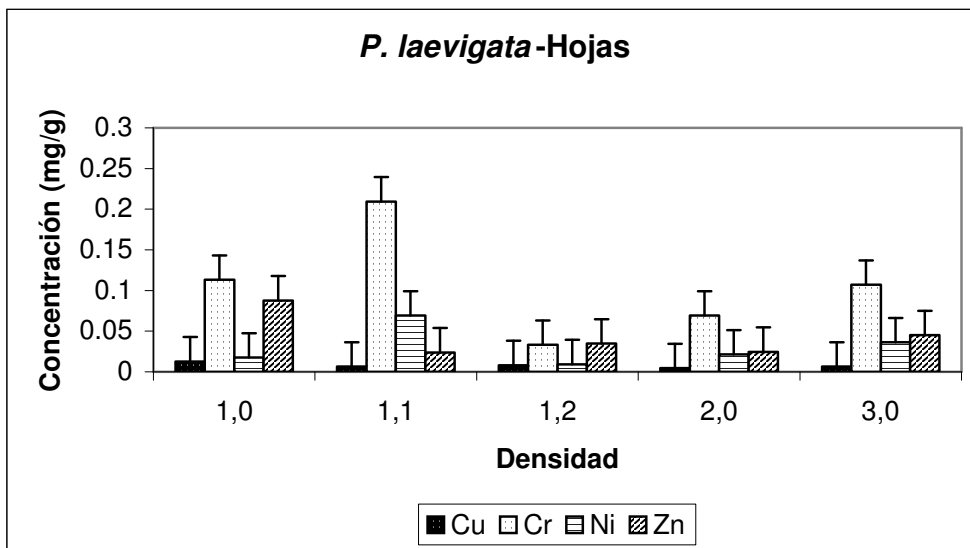


b)

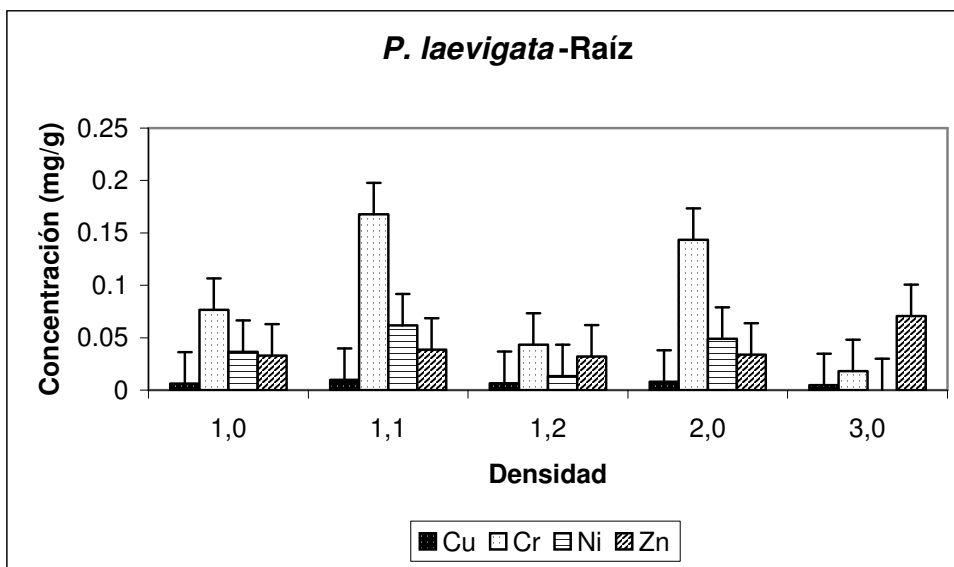


**Figura 23.** Concentración de metales presentes en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de *B. curtipendula* para suelo calcáreo con biosólido.

a)



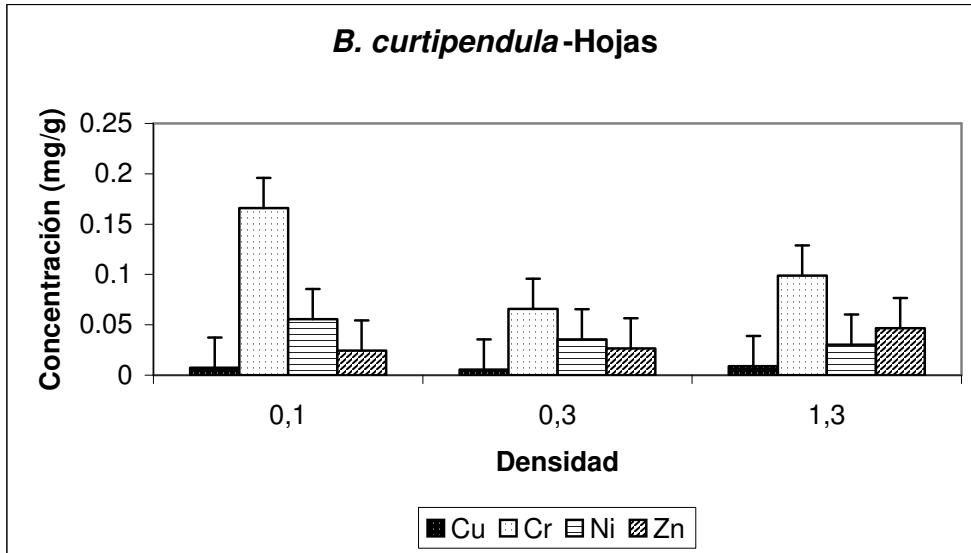
b)



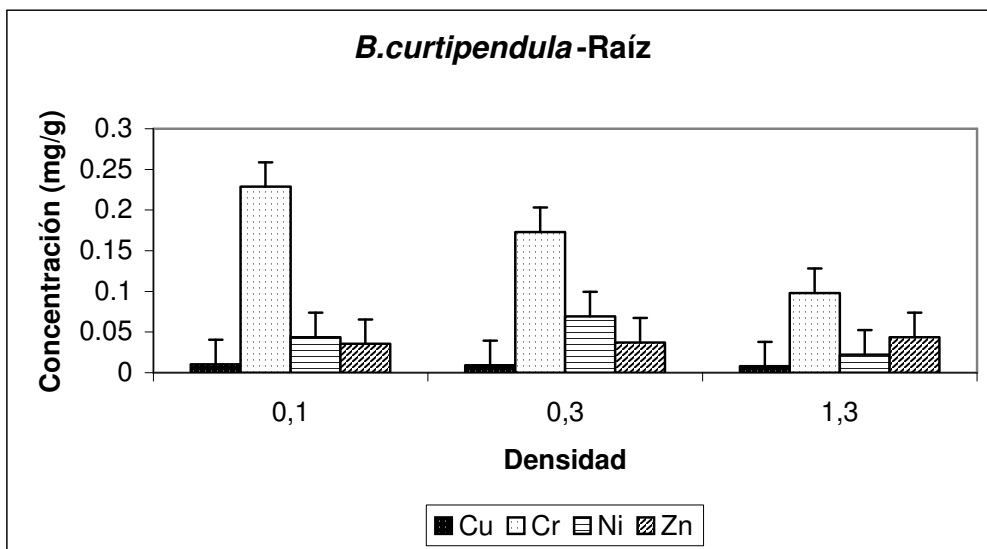
**Figura 24.** Concentración de metales presentes en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de *P. laevigata* en suelo calcáreo con biosólido.

De manera similar, en suelo ígneo sin agregar biosólido, el cromo fue el metal con la mayor concentración en *Bouteloua curtipendula* (Figuras 25a, b) y *Prosopis laevigata* (Figuras 26a, b).

a)

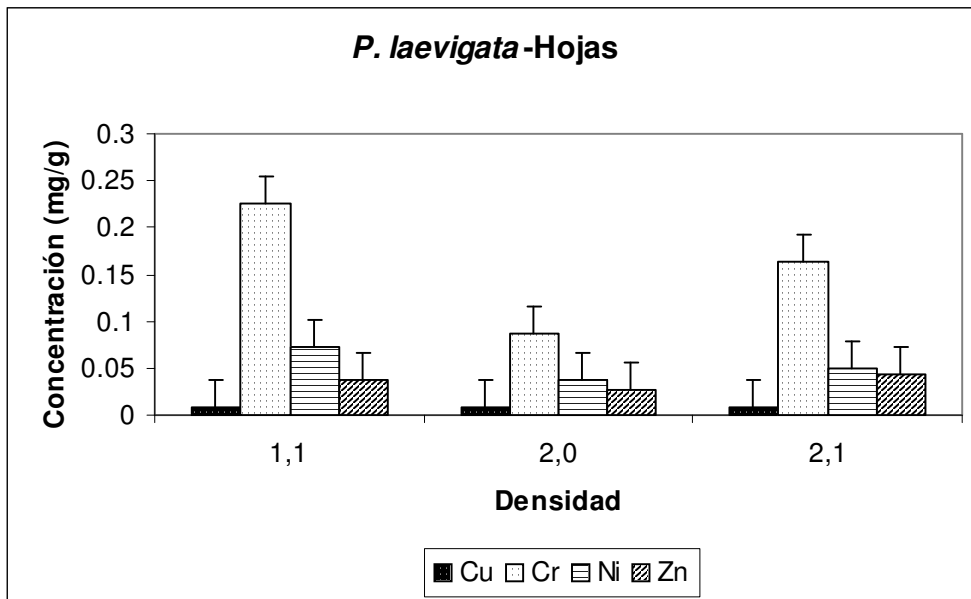


b)

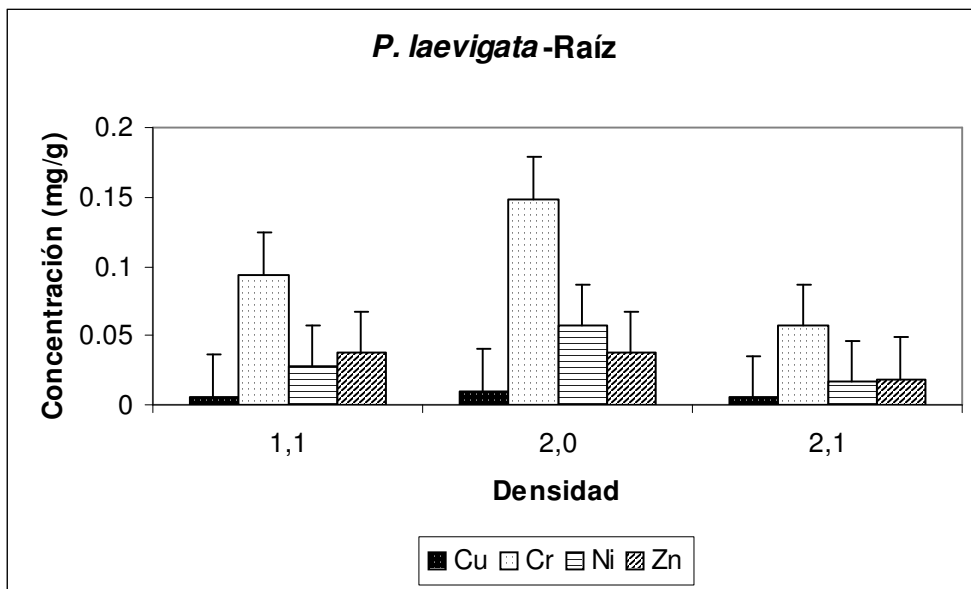


**Figura 25.** Metales encontrados en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de *B. curtipendula* sembrada en macetas con suelo ígneo sin biosólido.

a)



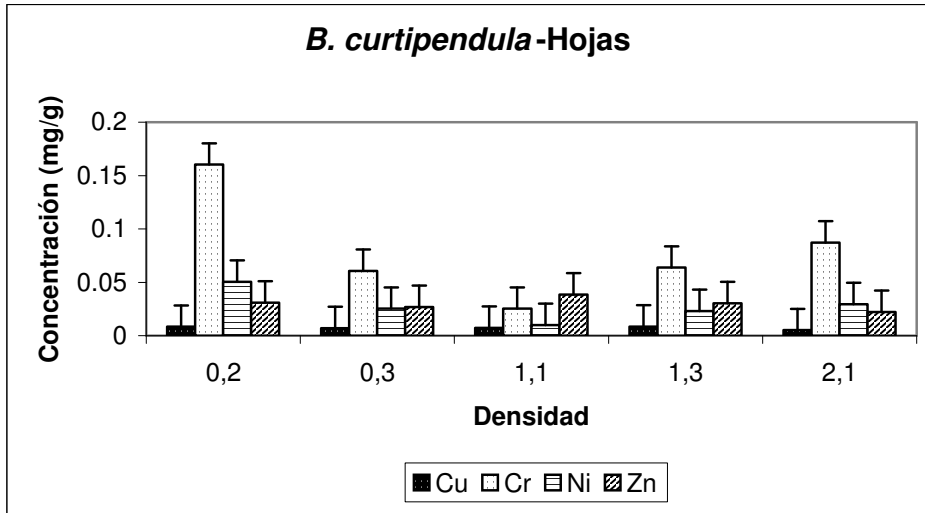
b)



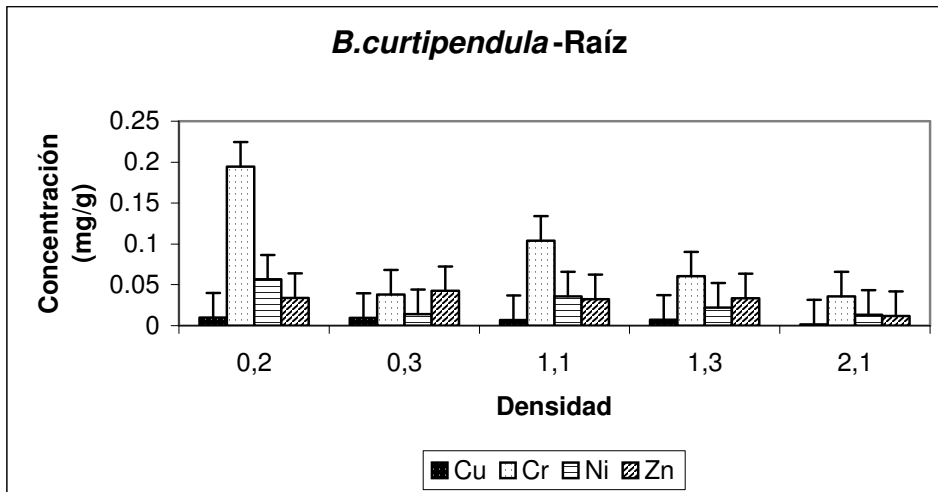
**Figura 26.** Concentración de metales presentes en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de *P. laevigata* en suelo calcáreo con biosólido.

El comportamiento de la concentración del cromo para *B. curtispindula* en suelo ígneo con biosólido es similar que sin biosólido (Figuras 27a, b).

a)



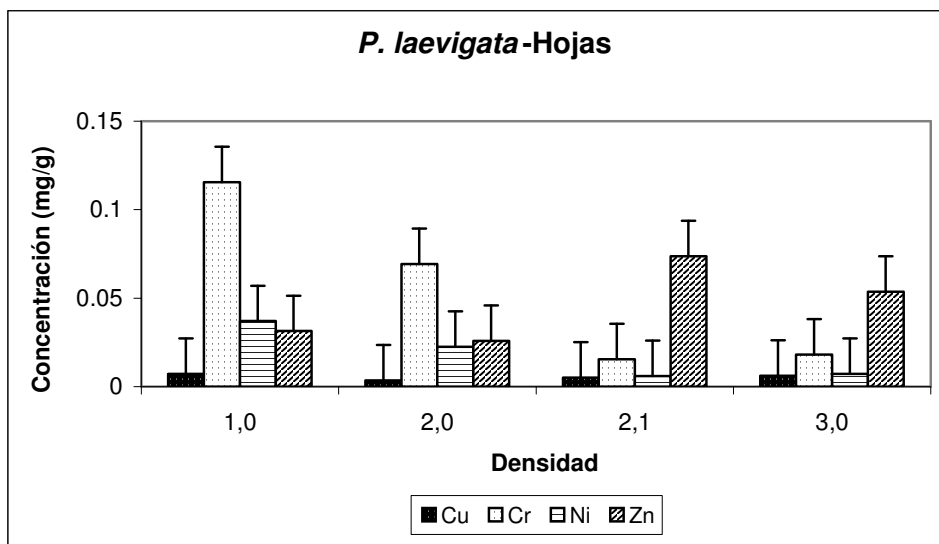
b)



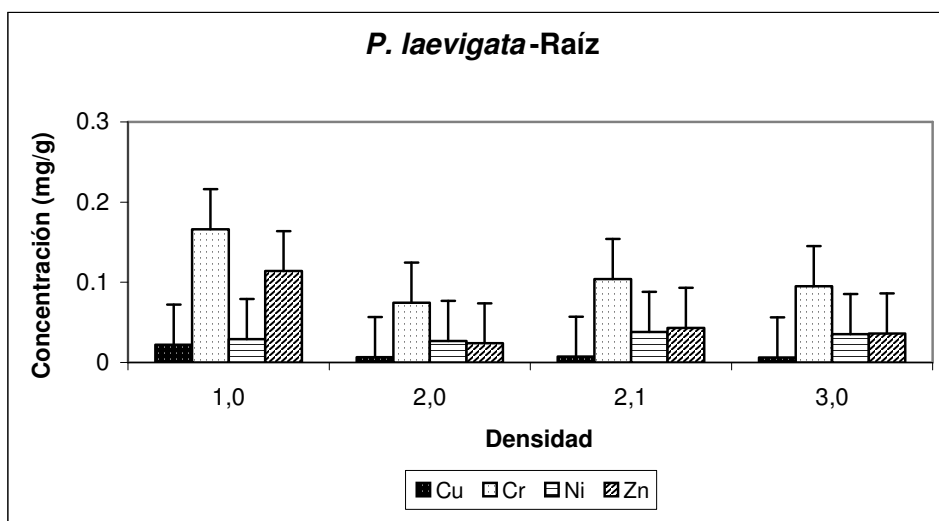
**Figura 27.** Concentración de metales presentes en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de *B. curtispindula* para suelo ígneo sin biosólido.

Para *P. laevigata*, la concentración mas alta de cromo se registró en la raíz, para la plántula sin competencia (Figuras 28a, b).

a)



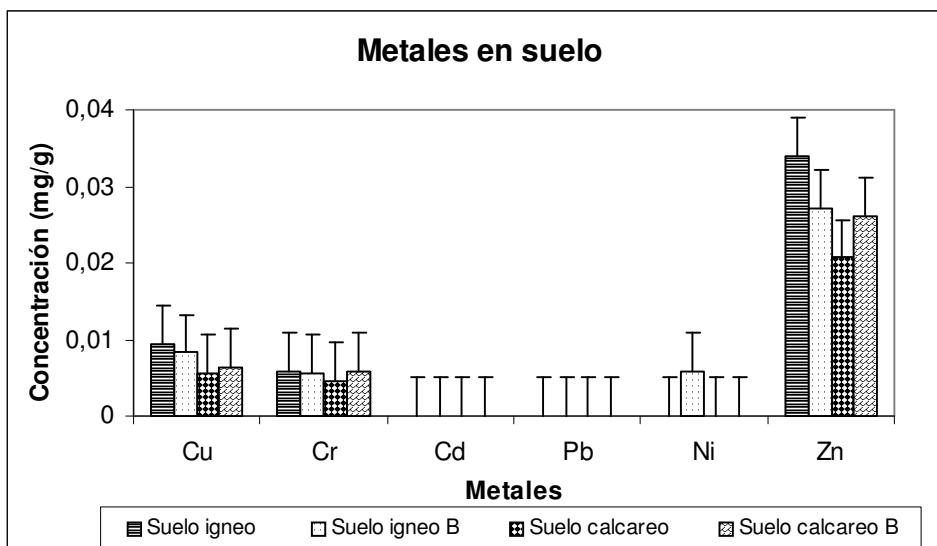
b)



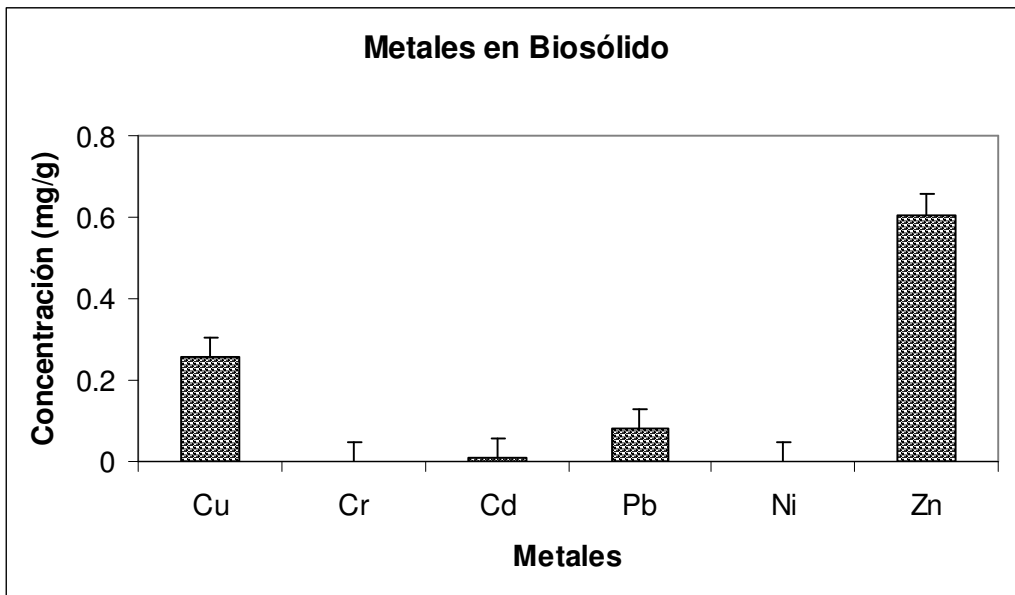
**Figura 28.** Concentración de metales presentes en a) la parte aérea y b) la parte subterránea de *P. laevigata* para suelo ígneo con biosólido.



Los contenidos de metales en el suelo y en los biosólidos indicaron que el metal en mayor concentración en ambos casos es el Zinc (Figuras 29 y 30).



**Figura 29.** Contenidos de metales en suelo ígneo y calcáreo con biosólido (se indica con la letra B) y sin biosólido.



**Figura 30.** Contenidos de metales en el biosólido usado.

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1. Efecto de los biosólidos en la germinación

El efecto de los biosólidos en la germinación de semillas y emergencia de plántulas no es consistente. Algunos investigadores encuentran que el efecto es positivo o neutro (Al-Jaloud 1999, Hahm y Wester 2004, Jurado *et al.* 2006), otros señalan lo contrario (Varela *et al.* 2006, Walter *et al.* 2006). Los experimentos de germinación de esta investigación, indicaron efectos negativos de los biosólidos en semillas del huizache (*A. schafneri*) y en semillas sanas de *B. curtipendula*. En cambio no se encontró efecto significativo del tipo de sustrato en semillas de *P. laevigata*. En *B. gracilis* se observó un efecto significativo de la condición de las semillas (las semillas sanas mostraron mayor capacidad de germinación que las semillas en mala condición).

Con los resultados anteriores, se puede afirmar que el efecto de los biosólidos en la germinación de semillas depende de la especie y la condición de la semilla, por lo que se debe tener cuidado al aplicar biosólido en la superficie del suelo, pues se puede afectar la germinación de algunas especies y con esto afectar la comunidad vegetal en lugar de beneficiarla.

## 4.2. Crecimiento de plántulas

4.2.1. Competencia entre pastos y especies leñosas: efecto de biosólidos y del tipo de suelo en el crecimiento bajo distintas densidades de dos especies de gramíneas (*B. gracilis* y *B. curtipendula*) y una especie de arbusto (*P. laevigata*).

Los pastos tuvieron mayor altura en las macetas a las cuales se les agregó biosólido, en el caso de *B. curtipendula* en los tratamientos de 1.7 Kg/m<sup>2</sup> y 3.4 Kg/m<sup>2</sup> y en el caso de *B. gracilis* en el de 1.7 Kg/m<sup>2</sup>. Estos resultados son similares a los reportados por Jurado *et al.* (2006), quienes mencionan que con la aplicación de biosólido se incrementó la altura de zacate navajita (*Bouteloua gracilis*). De manera similar, Benton y Wester (1998), encontraron incrementos en la altura de los zacates *Hilaria mutica* y *Sporobolus airoides*, en dosis de biosólido desde 7 hasta 9 toneladas por hectárea.

Por otra parte Bush y Van Auken (1988) encontraron que cuando se agregan nutrientes al suelo, el pasto *B. curtipendula* crece mejor que el arbusto *P. glandulosa*, desarrollando gran número de vástagos a expensas del crecimiento del arbusto. Similar al estudio anterior, en esta investigación se comprobó que la aplicación de biosólidos promovió el crecimiento en biomasa de plántulas de las especies de pasto *B. curtipendula* y *B. gracilis* cuando se encuentran en interacción con plántulas de *P. laevigata*. Tales incrementos en biomasa producidos por la aplicación de biosólidos coinciden con estudios previos en

especies de ambientes semiáridos (Fresquez *et al.* 1990; Benton y Wester 1998; Jurado y Wester 2001; Mata-González *et al.* 2002b; Jurado *et al.* 2004).

Para el cociente raíz/vástago no se encontró un efecto significativo de la aplicación de biosólidos, lo cual es contrario a lo reportado en estudios previos con especies semidesérticas. Por ejemplo, Mata-González *et al.* (2002a,b) encontraron mayor asignación de biomasa a tallos con biosólidos y nivel de riego alto.

Un resultado importante con respecto al cociente raíz/vástago es que se detectaron diferencias entre especies. Brown y Archer (1999) sugieren que en *P. laevigata* la asignación de recursos para el crecimiento de la raíz es una prioridad en un amplio rango de recursos disponibles. Sin embargo, según los resultados obtenidos en este estudio, los pastos tienen un mayor cociente raíz/vástago que *P. laevigata* y este cociente es mayor cuando se encuentran compitiendo. Por lo tanto, este comportamiento agresivo de los pastos les podría permitir ganar la competencia a los arbustos.

Con respecto al efecto de los biosólidos en distintos tipos de suelo, las plantas de ambas especies de pasto fueron más altas en suelo ígneo que en suelo calcáreo en la concentración de 3.4 Kg/m<sup>2</sup>. Además, en el suelo ígneo se obtuvo un peso seco más alto en las concentraciones de 1.7 y 3.4 Kg/m<sup>2</sup> de biosólidos que sin biosólidos, pero en el suelo calcáreo no se encontraron diferencias entre tratamientos. Estos resultados son contrarios a los esperados, ya que se tenía la hipótesis de que el efecto de la aplicación de biosólidos sería mayor en suelo calcáreo que en el ígneo, al tener el primero menor cantidad de nutrimentos. Sin embargo, reafirman la idea de que el efecto de los biosólidos en el crecimiento de

plantas depende del tipo de suelo (Rostagno y Sosebee 2001, Moffet *et al.* 2005, Paschke *et al.* 2005).

4.2.2. Competencia entre pastos y arbustos: Efecto de los biosólidos y del tipo de suelo en el crecimiento y la toma de metales pesados en distintas densidades de plantas de *B. curtipendula* y *P. laevigata*.

La biomasa del arbusto *P. laevigata* disminuyó y la proporción Raíz/Vástago (R/V) aumentó con el incremento de la densidad del pasto *B. curtipendula*; es decir, que el crecimiento de *P. laevigata* es sensible a la densidad de *B. curtipendula*. Este resultado es similar al reportado por Bush y Van Auken (1987) para el arbusto *P. glandulosa* en interacción con el pasto *Büchloe dactyloides*. Por otra parte, el efecto de la aplicación de los biosólidos dependió del tipo de suelo y de la especie. Paschke *et al.* (2005) sugirieron que el efecto del biosólido sobre la fertilidad del suelo y la composición de la comunidad de plantas depende del sustrato o suelo que se utilice. En esta investigación, se encontró que tanto *B. curtipendula* como *P. laevigata* se benefician cuando se agrega el biosólido al suelo calcáreo, el suelo menos fértil, pero en suelo ígneo no hubo efecto significativo de la aplicación del biosólido. Este resultado coincide con la hipótesis propuesta en esta investigación, pero es opuesto al encontrado en el experimento anterior. Es probable que en ese experimento haya habido menor tolerancia al trasplante en el suelo calcáreo, y en este segundo experimento no se presentó ese problema debido a que se hizo siembra directa de semillas.

#### 4.3. Metales pesados en plántulas, suelo y biosólido

Los análisis de metales en suelo y en biosólido muestran niveles que se encuentran dentro de la Norma Oficial Mexicana NOM 004 y es de resaltar que las concentraciones encontradas son menores a las que se encontraron en las plantas analizadas. Además, no se encontró relación entre la concentración de metales y las densidades de las plántulas.

Los análisis de metales realizados en ambas especies (*B. curtispindula* y *P. laevigata*) muestran que el cromo es el metal que registra las concentraciones más altas, siendo dicha concentración mayor en la parte aérea de plantas en suelo calcáreo. Este resultado es sorprendente, dado que estas concentraciones tan altas no existían en los suelos utilizados. Sin embargo, se sabe que el exceso de cromo en regiones semiáridas y con mucho viento representa un riesgo para la salud debido al movimiento no controlado de este contaminante causado por la erosión del viento (Gardea-Torresdey *et al.* 2004). Así, es probable que estas concentraciones de cromo se hayan obtenido de polvo del ambiente.

El alto contenido de cromo en *P. laevigata* coincide con investigaciones anteriores que reportan que esta especie es hiperacumuladora de cromo (Gardea-Torresdey *et al.* 2004, Aldrich *et al.* 2003, 2007). Además, esta especie absorbe Cr (VI) y lo convierte en Cr (III), el cual es menos tóxico (Aldrich *et al.* 2003). Sin embargo, para *B. curtispindula* no se han encontrado reportes sobre su capacidad para acumular cromo.

## 5. CONCLUSIONES

1. El efecto de los biosólidos en la germinación de semillas depende de la especie, por lo que se debe tener cuidado al aplicar biosólido en el campo con el fin de fertilizar el suelo, pues se puede afectar la germinación de algunas especies y con esto alterar el ecosistema en lugar de beneficiarlo.
2. Las especies de pasto *B. curtipendula* y *B. gracilis* desarrollan mayor altura y número de vástagos con la aplicación de biosólidos.
3. *Bouteloua gracilis* y *B. curtipendula* asociados con *P. laevigata*, tienen mayor Cociente Raíz/Vástago que *P. laevigata* asociado a los pastos.
4. La biomasa del arbusto *P. laevigata* disminuyó y la proporción Raíz/Vástago (R/V) aumentó con el incremento de la densidad del pasto *B. curtipendula*; es decir, que el crecimiento de *P. laevigata* es sensible a la densidad de *B. curtipendula*.
5. La adición de biosólidos disminuyó la competencia que se presentó para *B. curtipendula* en suelo sin biosólidos.



6. El efecto de la aplicación de los biosólidos depende del tipo de suelo y de la especie. *B. curtispindula* y *P. laevigata* se benefician más cuando se agrega biosólido al suelo calcáreo, el suelo menos fértil.

7. El metal con las concentraciones más altas en *B. curtispindula* y *P. laevigata* es el cromo.

## 6. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Aguilar A, Etchevers J, Castellanos J.** 1987. Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. pp 17-91.
- Ackerman B. Smith S.** 1987. Las Gramíneas de México Tomo II. COTECOCA-SARH. 344 pp.
- Aldrich MV, Gardea-Torresdey JL, Peralta-Videa JR, Parsons JG.** 2003. Uptake and reduction of Cr (VI) to Cr (III) by mesquite (*Prosopis* spp.): Chromate-plant interaction in hydroponics and solid media studied using XAS. *Science of the Total Environment* 37: 1859-1864.
- Aldrich MV, Peralta-Videa JR, Parsons JG, Gardea-Torresdey JL.** 2007. Examination of arsenic (III) and (V) uptake by the desert plant species mesquite (*Prosopis* spp.) using X-ray absorption spectroscopy. *Science of the Total Environment* 379: 249-255.
- Al-Jaloud A.** 1999. Effect of sewage sludge on germination, growth and biomass yield of sorghum in calcareous soils. *Pakistan Journal of Biological Science* 2: 494-497.
- Aparecida M, De Castro J.** 2002. Extração e fitodisponibilidade de metais em resposta à adição de lodo de esgoto no solo. *Scientia Agricola* 59: 555-563.
- Archer S, Scifres CJ, Bassham C, Maggio R.** 1988. Autogenic succession in a subtropical savanna: rates, dynamics and processes in the conversion of grassland to thorn woodland. *Ecological Monographs* 58: 111-127.

- Baskin CC, Baskin JM.** 1998. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. San Diego, Academic Press.
- Bazzaz F, Grace J.** 1997. Plant Resource Allocation. Academic Press.
- Benton M, Wester D.** 1998. Biosolids effects on Tobosagrass and Alkali Sacaton in a Chihuahuan Desert Grassland. *Journal of Environmental Quality* 27: 199-208.
- Bestelmeyer BT, Khalil NI, Peters DPC.** 2007. Does shrub invasion indirectly limit grass establishment via seedling herbivory? A test at grassland-shrubland ecotones. *Journal of Vegetation Science* 18: 363-370
- Black C, Evans D, Ensminger E, White J, Clark F.** 1965. Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy.
- Brown JR, Archer S.** 1999. Shrub invasion of grassland: Recruitment is continuous and not regulated by herbaceous biomass or density. *Ecology* 80: 2385-2396.
- Buffington LC, Herbel CH.** 1965. Vegetational changes on a semidesert grassland range from 1858 to 1963. *Ecological Monographs* 35: 139-164.
- Bush J, Van Auken O.** 1987. Influence of plant density on the growth of *Prosopis glandulosa* var. *glandulosa* and *Buchloe dactyloides*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 114: 393-401.
- Bush J, Van Auken O.** 1988. Competition between *Schyzachyrium scoparium* and *Prosopis glandulosa*. *American Journal of Botany* 75: 782-789.

- Bush J, Van Auken O.** 1989a. Soil resource levels and competition between a woody and herbaceous species. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 116: 22-30.
- Bush J, Van Auken O.** 1989b. *Prosopis glandulosa* growth: influence of nutrients and simulated grazing of *Bouteloua curtipendula*. *Ecology* 70: 512-516.
- Bush J, Van Auken O.** 2004. Relative competitive ability of *Helianthus paradoxus* and its progenitors, *H. annuus* and *H. petiolaris* (Asteraceae), in varying soil salinities. *International Journal of Plant Sciences* 165: 303-310.
- Chapin FS III.** 1980. The mineral nutrition of wild plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11: 233-260.
- Chapin FS III.** 1991. Integrated responses of plant to stress. *BioScience* 41: 29-36.
- Chavez F.** 2002. Zona variable de confort térmico. Universidad politécnica de Catalunya. Tesis profesional, pp.165-167.
- Cook M, Gardner M, Griffiths A, Jessep M, Ravenscroft J, Yates R.** 1997. The comparability of sample digestion techniques for the determination of metals in sediments. *Marine Pollution Bulletin* 34: 637-644.
- Draper NR, John JA.** 1998. Response surface designs where levels of some factors are difficult to change. *Australian & New Zealand Journal of Statistics* 40(4): 487-495.
- Evans GC.** 1972. *The Quantitative Analysis of Plant Growth*. Blackwell Oxford, London.734 pp.

- Fernandez L, Rojas N, Roldán T, Ramírez M, Zegarra H, Uribe R, Reyes R, Flores D, Arce J.** 2006. Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Nacional de Ecología.
- Fresquez P, Francis R, Dennis G.** 1990. Sewage sludge effects on soil and plant quality in a degraded, semiarid grassland. *Journal of Environmental Quality* 19: 324-329.
- Gardea-Torresdey JL, Aldrich MV, Peralta-Videa JR, Parsons JG.** 2004. Reduction of health risks due Chromium (VI) using Mesquite: a potential Cr phytoremediator, 461-466. In: Zachry T (Organizer), Environmental and Waste Management: Advancements through the Environmental Management Science Program. *Symposia Papers Presented Before the Division of Environmental Chemistry American Chemical Society.*
- Gedroc J, McConnaughay K, Coleman J.** 1996. Plasticity in root/shoot partitioning: optimal, ontogenetic or both? *Functional Ecology* 10: 44-50.
- Gibbens RP, McNeely RP, Havstad KM, Beck RF, Nolen B.** 2005. Vegetation change in the Jornada Basin from 1858 to 1998. *Journal of Arid Environments* 61: 651-668.
- González A, Sosa M.** 2003. Análisis de la vegetación del área de protección de flora y fauna Cañón de Santa Elena (desierto chihuahuense, México) utilizando Modelos Digitales de Elevación. *Revista Científica y Técnica de Ecología y de Medio Ambiente* 2: 1-6.

- Grande R.** 1982. Métodos para Análisis Físicos y Químicos en Suelos Agrícolas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Instituto de Investigación de Zonas Desérticas.
- Harper JL.** 1977. Population Biology of Plants. Academic Press, London.
- Huber-Sannwald, E.** 2002. Land use change and biodiversity. A Local or Global Issue? *Reportes del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica* 1: 110-117.
- Jurado P, Luna M, Hernández R.** 2004. Aprovechamiento de biosólidos como abonos orgánicos en pastizales áridos y semiáridos. *Técnica Pecuaria en Mexico* 42: 379-395.
- Jurado P, Wester D.** 2001. Effects of biosolids on tobosagrass growth in the Chihuahuan desert. *J. Range Manage* 54: 89-95.
- Kalra Y.** 1998. Handbook of Referente Methods for Plant Análisis. Soil and Plant Analysis Council, Inc.
- Lagunes-Espinoza LC.** 1985. Caracterización química de una serie de suelos ígneos, calcáreos y yesíferos del altiplano potosino-zacatecano. Tesis Profesional para obtener el título de Químico Agrícola, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana. Orizaba, Ver. 103 pp.
- Lambers H, Chapin II IFS, Pons TH.** 1998. Plant Physiological Ecology. Springer-Verlag. New York. 362 pp.
- Martínez F, Cuevas G, Clavo R, Walter I.** 2003. Biowaste effects on suelo and native plants in a semiarid ecosystem. *Journal of Environmental Quality* 32: 472-479.

- Mata-González R, Sosebee R, Changgui W.** 2002a. Physiological impacts of biosolids application in desert grasses. *Environmental and Experimental Botany* 48:139-148.
- Mata-González R, Sosebee R, Changgui W.** 2002b. Shoot and root biomass of desert grasses as affected by biosolids application. *Journal of Arid Environments* 50: 477-488.
- Mata-González R, Sosebee R, Changgui W.** 2004. Nitrogen in desert grasses as affected by biosolids, their time of application and soil water content. *Arid Land Research and Management* 18: 1-11.
- Moffet C, Zartman R., Wester, D., Sosebee, R.** 2005. Surface Biosolids Application: Effects on infiltration, Erosion, and Soil Organic Carbon in Chihuahuan Desert Grasslands and Shrublands. *Journal of Environmental Quality* 34: 299-311.
- Mulvaney R.** 1996. *In: Sparks et al. (eds.) Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. Nitrogen-inorganic forms. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA. 1123-1184 pp.*
- Olsen R, Cole V, Watanabe F, Dean L.** 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA Washington D C. Circular 939.
- Paschke MW, Topper K, Brobst RB, Redente EF.** 2005. Long-Term Effects of Biosolids on Revegetation of Disturbed Sagebrush Steppe in Northwestern Colorado. *Restoration Ecology* 13:545-551.

- Peltzer D, Köchy M.** 2001. Competitive effects of grasses and woody plants in mixed-grass prairie. *Journal of Ecology* 89: 519-527.
- Radojevic M, Bashkin V.** 1999. Practical Environmental Analysis. Royal Society of Chemistry.
- Rostagno C, Sosebee R.** 2001. Surface Application of Biosolids in the Chihuahua Desert: Effects on Soil Physical Properties. *Arid Land Research and Management* 15: 233-244.
- SEMARNAT.** 2002. NOM-004-Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.- Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final.
- Shipley B.** 2000. Plasticity in relative growth rate and its components following a change in irradiance. *Plant, Cell and Environments* 23: 1207-1216.
- Sokal RR, Rohlf FJ.** 1994. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. New York, W.H. Freeman.
- Scholes RJ, Archer SR.** 1997. Tree-grass Interactions in savannas. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 28: 517-544.
- Valdés M, Medina N.** 2005. Ecología Microbiana del Suelo. Instituto Politécnico Nacional. 63-65 pp.
- Van Auken OW.** 2000. Shrub invasions of North American semiarid grasslands. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 197-215
- Van Auken OW, Bush JK.** 1987. Influence of plant density on the growth of *Prosopis glandulosa* var. *glandulosa* and *Buchloe dactyloides*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 114: 393-401.



- Varela S, Gobbi ME, Laos S.** 2006. Banco de semillas de un bosque quemado de *Nothofagus pumilio*: efecto de la aplicación de compost de biosólidos. *Ecología Austral* 16:63-78.
- Villanueva J.** 1993. Distribución actual y características ecológicas del mezquite (*Prosopis laevigata* H.& B. Johnst), en el estado de San Luis Potosí. Boletín divulgativo N° 74, SARH-INIF.
- Walter I, Cuevas G, García S, Martínez F.** 2000. Biosolid effects on suelo and native plant production degraded semiarid ecosystem in central Spain. *Waste Management and Research* 18: 259-263.
- Walton M, Herrick J, Gibbens R, Remmenga M.** 2001. Persistence of municipal biosolids in a Chihuahuan Desert rangeland 18 years after application. *Arid Land Research and Management* 15: 223-232.
- Weigelt A, Jolliffe P.** 2003. Indices of plant competition. *Journal Ecology* 91: 707-720.

## **Anexo 1**

Métodos utilizados para la determinación de pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica (MO), amonio y fósforo en los suelos y en los biosólidos utilizados en los experimentos.

Determinación de pH:

Importancia de la determinación

Acercas del efecto del pH del suelo sobre el desarrollo de las plantas, se ha encontrado que el pobre crecimiento de los cultivos en suelos ácidos no se debe significativamente a la alta concentración de  $H^+$  a menos que el valor sea inferior a 4.0, sino a los efectos negativos de la acidez del suelo, los cuales son de tipo indirectos y se deben principalmente a: 1) alta concentración de aluminio intercambiable o en solución, 2) retención de fósforo, 3) exceso de manganeso en solución, 4) deficiencias de calcio, magnesio o molibdeno, 5) reducida actividad microbológica y 6) reducida capacidad de intercambio catiónico. Cada uno de estos factores varía en forma diferente con relación al pH del suelo y a sus componentes, por lo cual no es posible establecer un criterio general y aplicable a todos los suelos, acerca del pH óptimo con relación al desarrollo vegetal (Aguilar *et al.* 1987).

La medición de pH da una indicación de la acidez o alcalinidad de la sustancia que se quiera analizar (en este caso suelo y biosólido) lo cual hace

posible su caracterización. Muchas reacciones químicas son dependientes de pH, por lo que el conocimiento del mismo nos puede permitir hacer predicciones de la velocidad de las reacciones químicas. Además, la disponibilidad de diferentes nutrientes depende fuertemente del pH. Por ejemplo, los suelos con un pH alrededor de 7 tienen una alta disponibilidad de Mg, Ca, K, N y S; mientras que Fe, Zn y Cu son menos disponibles a pH alto. Así, el pH del suelo puede ser usado como una herramienta de diagnóstico rápida para informarnos acerca del estado del suelo (Radojevic y Bashkin 1999).

#### Principio de la determinación

Los métodos para determinar el pH se pueden dividir en dos grupos: colorimétricos y electrométricos. El método colorimétrico hace uso de tintes convenientes o indicadores ácido-base, en donde el color cambia con la actividad ion-hidrogeno. En el método electrométrico el potencial ión-hidrógeno es indicado por un electrodo y es medido potenciométricamente. (Lagunes, 1985)

#### Procedimiento

A continuación se describe el método electrométrico que fue el que se empleo para realizara las mediciones de pH en el presente trabajo:

##### Procedimiento experimental en la medición de pH

Se pesaron 20 gr.amos de suelo o biosólido

Se le agregaron 40 ml de agua desionizada y se agitó manualmente.

Después de 30 minutos se centrifugó la muestra a 3400 rpm durante 10 min.

Se extrajo el sobrenadante y se hizo la lectura correspondiente.

Conductividad eléctrica (CE):

Importancia de la determinación

La conductividad del suelo puede ser usada como una medida de los iones solubles. Además es usada en la evaluación de la irrigación y el drenaje que necesita el suelo. Así mismo, es una determinación útil en suelos fuertemente fertilizados como es el caso de suelos en invernaderos y jardines. La conductividad del suelo ha sido relacionada con el crecimiento de las plantas, como se muestra en la Tabla 1 en donde se muestran sus efectos (Radojevic y Bashkin, 1999)

**Tabla 1.** Respuestas de las plantas a la conductividad eléctrica del suelo

Conductividad del suelo (mmho/cm)	Respuestas de la planta
>1.00	Severo daño en la mayoría de las plantas
0.71-1.00	Puede causar un daño ligero en la mayoría de las plantas
0.46-0.70	Puede causar un daño de ligero a severo en plantas sensibles a la salinidad
0.26-0.46	Adecuado para la mayoría de las plantas si se usan cantidades recomendables de fertilizantes
0-0.26	Adecuado para la mayoría de las plantas si se usan cantidades recomendables de fertilizantes

Principio de la determinación:

La medida de la conductividad eléctrica de un extracto, indica satisfactoriamente la concentración total de constituyentes ionizados. La determinación se hace midiendo la resistencia eléctrica entre electrodos paralelos inmersos in la solución o extracto de la sustancia de interés.

Procedimiento

Se pesaron 20 gramos de suelo o biosólido

Se le agregaron 40 ml de agua desionizada y se agitó manualmente.

Después de un período de 30 minutos se centrifugó la muestra a 3400 rpm durante 10 minutos.

Se extrajo el sobrenadante y se hizo la lectura correspondiente.

Determinación de Materia Orgánica (MO):

Importancia de la determinación

La Tabla 2 muestra el criterio para determinar la calidad de un suelo en cuanto a su contenido de materia orgánica (NOM-021-RECNAT-2000)

**Tabla 2.** Contenido de materia orgánica y su relación con la calidad de los suelos.

Clase	Materia orgánica (%)	
	suelos volcánicos	Suelos no volcánicos
Muy bajo	<4.0	<0.5
Bajo	4.1-6.0	0.6-1.5
Medio	6.1-10.9	1.6-3.5
Alto	11.0-16.0	3.6-6.0
Muy alto	>16.1	>6.1

Principio de la determinación:

La cantidad de materia orgánica se determina indirectamente por medio de combustión seca o húmeda y es básicamente un estimado cuantitativo del carbono orgánico. Para determinar la materia orgánica se utilizó el método de Walkley y Black, el cual se basa en la oxidación del carbono orgánico del suelo por medio de una disolución de dicromato de potasio y el calor que se genera al mezclarla con ácido sulfúrico concentrado

Procedimiento

Reactivos:

Solución 1 N de dicromato de potasio: disuelva 49.04 g de dicromato de potasio (grado reactivo) en 500 ml de agua destilada. Aforar a 1 litro.

Solución de sulfato ferroso 0.5 N: disuelva 140 g de sulfato ferroso en 250 ml de agua destilada. Agregue 40 ml de ácido sulfúrico concentrado. Enfríe esta solución hasta llegar a la temperatura del medio ambiente y entonces afore a 1 litro. Esta solución deberá titularse diariamente usando 5 ml de la solución calibrada de dicromato de potasio.

Solución indicadora: disuelva 0.5 g de difenilamina en 20 ml de agua destilada y agregue 100 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Ácido sulfúrico concentrado, este reactivo nunca deberá tener una concentración menor del 96 % y preferiblemente de 98 a 99 %.

Ácido fosfórico de 85 %. Este reactivo deberá ser de pureza Q. P. (grado reactivo).

Coloque exactamente 0.5 gramos de suelo pasado por un tamiz de 0.5 mm (#35) en un matraz erlenmeyer de 250 ml y agregue 5 ml de la solución 1 N de dicromato de potasio, añada inmediatamente 10 ml de ácido sulfúrico concentrado, procurando que el chorro de ácido caiga libremente hasta el fondo del matraz. Agite inmediatamente después de completada la adición durante 1 minuto. Procure dar al contenido del matraz un rápido movimiento rotatorio. Deje reposar el matraz, por exactamente 30 minutos, entonces agregue 100 ml de agua destilada, 5 ml de ácido fosfórico y 5 gotas del indicador.

Proceda a titular el exceso de dicromato de potasio no reducido por la materia orgánica del suelo con sulfato ferroso 0.5 N. Analice un blanco para cada juego de muestras.

$$N_{FeSO_4} = \frac{ml K_2Cr_2O_7 \text{ usados}}{ml FeSO_4 \text{ usados en blanco}}$$

$$ml K_2Cr_2O_7 \text{ No reducidos} = ml FeSO_4 \text{ del problema} \times N_{FeSO_4}$$

$$ml K_2Cr_2O_7 \text{ reducidos} = ml K_2Cr_2O_7 \text{ usados} - ml K_2Cr_2O_7 \text{ no reducidos}$$

$$\% MO = \frac{ml K_2Cr_2O_7 \text{ reducidos} \times 0.69}{\text{Peso de muestra en gr}}$$

Determinación de amonio:

Importancia de la determinación

Los microorganismos participan de forma importante en el ciclo del nitrógeno en el suelo, debido a que realizan la fijación del nitrógeno, nitrificación y desnitrificación, así como su inmovilización. Se reportan como fracciones predominantes al amonio y nitratos. Comúnmente se evalúa al amonio por representar la fuente de nitrógeno más directamente disponible para su incorporación en aminoácidos, sin requerir ser oxidado o reducido. Adicionalmente, se recomienda cuantificar nitratos para complementar la fracción de nitrógeno inorgánico susceptible de ser empleado por los microorganismos. Para cuantificar el amonio, se emplea una gran variedad de métodos: técnicas colorimétricas manuales, microdifusión, destilación con arrastre de vapor, análisis de inyección de flujo y electrodo de ión selectivo. En este estudio se empleó en método colorimétrico (Fernández *et al.* 2006)

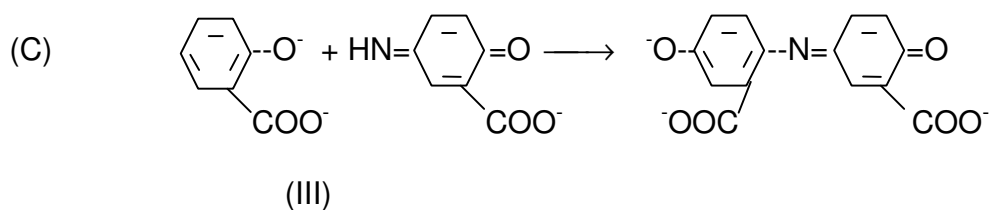
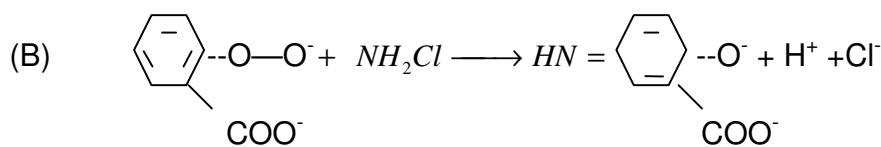
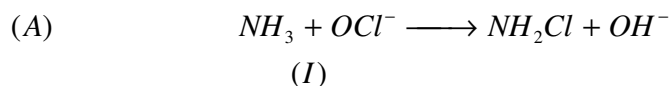


## Principio de la determinación

Los métodos colorimétricos han sido usados en muchas ocasiones para determinar las formas inorgánicas de N en extractos de suelo. Sus principales ventajas son la rapidez y la conveniencia (Mulvaney, 1996).

El amonio extraído del suelo con cloruro de potasio 2 M es determinado por la medición de la intensidad de color verde que se forma por el tratamiento de una alícuota de extracto con salicilato e hipoclorito de sodio a un pH alto. Un catalizador (nitroprusiato de sodio) incrementa la velocidad e intensidad del color desarrollado y un agente quelante (EDTA) previene la precipitación de cationes di y trivalentes como los hidróxidos.

En la Figura 1 se presentan las reacciones que ocurren en la determinación colorimétrica del  $NH_4^+$ :



**Figura 1.** Reacciones en el método de determinación colorimétrica del  $NH_4^+$  : (A) monoclaramina (I) formación; (B) oxidación del salicilato (II); (C) reacción para formar indofenol

El método descrito es esencialmente una modificación del método de azul de indofenol descrito por Keeney y Nelson (1982), siendo la principal diferencia que el salicilato de sodio es usado para desarrollar el color en lugar del fenol.

Procedimiento:

Reactivos:

Solución de nitroprusiato-salicilato: se disolvieron 0.12 g de nitroprusiato de sodio en 70 ml de agua destilada y posteriormente se agregaron 7.813 g de salicilato de sodio. Se aforó en 100 ml de agua y se guardó en un frasco ámbar y se refrigeró.

EDTA disódico: se disolvieron 0.6 g en 100 ml de agua destilada y se refrigeró.

Buffer de hipoclorito de sodio: se disolvieron 2.96 g de NaOH en 80 ml de agua.

Una vez disuelto el NaOH. Se agregó 9.96 g de fosfato de sodio dibásico y se agitó hasta su completa disolución. Se agregaron 10 ml de hipoclorito de sodio, la solución se agitó nuevamente y se aforó a 100 ml. Después se ajustó el pH hasta 13.2 con NaOH.

Se preparó una solución 2 M de KCl y se colocó en recipientes de plástico con tapadera de rosca en los cuales se puso la muestra de suelo recién tomada del campo (se llevó la solución ya preparada para tomar la muestra de suelo en el campo). Una vez que se tiene la muestra se llevó al laboratorio y se filtró con papel Whatman No. 42. Del filtrado se tomaron 3 ml de extracto de suelo, se agregó 1 ml de EDTA y se mezcló por inversión o mediante un agitador magnético. Se agregaron 4 ml de la solución de nitroprusiato-salicilato y se volvió a mezclar. Posteriormente se agregaron 5 ml de agua destilada y se agitó.

Después de esto se agregaron 2 ml de buffer de hipoclorito y se mezcló nuevamente, desarrollándose un color verde. Se agregaron 3 ml de agua destilada y agitar nuevamente.

Se calentó la solución a baño maría durante 30 a 40 min a 37-40°C. Una vez transcurrido este tiempo se enfrió a temperatura ambiente y se procedió a hacer la lectura en el espectrofotómetro a una absorbancia de 660 nm.

También se preparó un estándar de sulfato de amonio  $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  para realizar la curva estándar la cual se realizó siguiendo el procedimiento que a continuación se presenta en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Preparación de curva estándar de sulfato de amonio

Reactivo						
ml sulfato de amonio	0.5	1.0	1.5	2.5	3.5	5.0
ml EDTA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
ml nitroprusiato	2	2	2	2	2	2
ml buffer	1	1	1	1	1	1
ml H <sub>2</sub> O	5	4.5	4	3	2	0.5

Determinación de Fósforo (P):

Importancia de la determinación

El fósforo es un elemento esencial para los seres vivos, ya que es un constituyente estructural y funcional de todos los organismos, y se encuentra en todas partes de la biosfera. Las concentraciones normales de P total en los suelos minerales tienen en promedio 800 mg por kilo. En el suelo, el P se encuentra bajo formas orgánicas y minerales. Las formas orgánicas representan del 15 al 80 % del P total. En los suelos con pH alcalinos, el P con frecuencia se encuentra bajo forma insoluble. Muchos de los microorganismos solubilizadores del P son estimulados en su crecimiento cuando el pH del medio está entre 7.8 a 7.9 (Valdés y Medina, 2005).

## Principio de la determinación

Existen dos métodos ampliamente utilizados para la extracción total de fósforo en suelos: 1) digestión con  $\text{HClO}_4$  y 2) extracción con  $\text{NaHCO}_3$ . El procedimiento más recomendado es la digestión con  $\text{HClO}_4$  del suelo, seguido de una determinación colorimétrica de fósforo (Black *et al.*, 1965).

La técnica que se utilizó fue la de Olsen y colaboradores: la solución extractora está formada por  $\text{NaHCO}_3$  0.5 M de pH 8.5. Bajo estas condiciones, la solubilidad del fosfato de calcio existente en los suelos calcáreos, alcalinos o neutros aumenta debido a la precipitación de  $\text{Ca}^{2+}$  como  $\text{CaCO}_3$ . En suelos ácidos que contengan fosfatos ligados al Al y Fe, la concentración de P en la solución incrementa conforme sube el pH. Las reacciones de precipitación secundaria se ven reducidas al mínimo debido a que las concentraciones de Al, Ca y Fe se mantiene a un bajo nivel en esta solución extractora (Aguilar *et al.*, 1987).

Fósforo disponible (Olsen *et al.*, 1954)

Reactivos:

Solución de bicarbonato de sodio 0.5 M ( $\text{NaHCO}_3$ ). Una vez que se preparó la solución se ajustó el pH a 8.5 con  $\text{NaOH}$  1M.

Se uso carbón negro como decolorante.

Solución de molibdato de amonio ( $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ). Se disolvieron 17.5 g de molibdato de amonio en 150 ml de agua destilada tibia. Se añadieron 171 ml de  $\text{HCl}$  concentrado lentamente con agitación constante.

Solución concentrada de cloruro estañoso ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Se disolvieron 10 g de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en 25 ml de HCl concentrado, se calentó la solución para que se disolviera la sal y la solución quedara clara. Se almacenó la solución en un frasco ámbar y se conservó en el refrigerador.

Solución diluida de cloruro estañoso. Se agregaron 0.5 ml de solución concentrada de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  a 66 ml de agua destilada. Se preparó la solución diluida cada vez que se hicieron las determinaciones.

Solución estándar de fósforo. Se pesaron 0.4393 g de fosfato potásico monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) y se colocaron dentro de un matraz volumétrico de un litro. Se agregaron 500 ml de agua destilada. Se agitó hasta su completa disolución y se aforó con agua destilada. Esta solución contiene  $0.1 \mu\text{g/ml}$  de P (100 ppm).

Solución diluida de fósforo. Se diluyeron 100 ml de la solución estándar de fósforo a 1 litro de agua destilada. Esta solución contiene  $10 \mu\text{g/ml}$  de P (10 ppm).

#### Procedimiento:

Se pesaron 2 g de suelo en matraces Erlenmeyer de 250 ml. Se agregó una cucharadita de carbón y 40 ml de solución extractora. Se agitó el matraz durante 30 minutos en un agitador mecánico. Se filtró la suspensión a través de un papel filtro Whatman No. 42.

Se tomó una alícuota de 2.5 ml del extracto problema y se colocó en un tubo de ensaye de 30 ml. Se añadieron 2.5 ml de molibdato de amonio. Se agitó para mezclar el contenido y se agregaron 7 ml de agua destilada y se agitó

nuevamente. Después se añadieron 0.5 ml de SnCl<sub>2</sub> y se agitó para posteriormente agregar 12.5 ml de agua destilada para hacer un volumen total de 25 ml. Diez minutos después de hacer esta último paso, se midió la transmitancia en el espectrofotómetro. Se usó una longitud de onda de 660.

Para preparar el blanco se siguió el mismo procedimiento solo que se sustituyeron los 2.5 ml de extracto problema por 2.5 ml de solución extractora.

La curva patrón se realizó de la siguiente manera: de la solución diluida de fósforo se tomaron diferentes alícuotas que comprendían de 0 a 1 ppm de fósforo y se colocaron en tubos de ensaye, se agregaron 5 ml de la solución extractora de NaHCO<sub>3</sub> y se desarrolló el color de la misma manera como se hizo con las muestras. Las ppm en el suelo se determinan con la siguiente fórmula:

$$ppm \text{ de } P = ppm \text{ de } P \text{ leído en la grafica} \times \frac{ml \text{ sol. extractora}}{muestra \text{ de suelo}} \times \frac{volumen \text{ final}}{alicuota \text{ para desarrollar el color}}$$

$$ppm \text{ de } P = ppm \text{ de } P \text{ leído en la grafica} \times 200$$

## Anexo 2

### Experimentos de germinación

#### 1. Pruebas preliminares de germinación

##### 1.1. Gramíneas

Las semillas se sembraron en cajas Petri en dos tipos de sustrato: biosólido y turba (peat moss marca Premier). Se colocaron 20 semillas de cada especie en cajas Petri, con cinco cajas como repeticiones. Se propuso comparar la germinación de semillas en estos sustratos, ya que la turba es un material orgánico natural que regula la humedad y el aire alrededor de la raíz de la planta y es ideal para la germinación y el crecimiento de las plantas. Las cajas Petri fueron colocadas en una cámara de germinación a 25 °C, con un porcentaje de 60% de humedad relativa.

El diseño experimental fue el siguiente:

2 especies (*Bouteloua curtipendula* y *Bouteloua gracilis*), semillas sin cubierta.

2 tratamientos por especie: Sustrato comercial (turba) y biosólido.

Variable de respuesta: % final de germinación.

El análisis estadístico consistió en un ANOVA de 2 vías, las cuales fueron: Especie (dos niveles) y Tratamiento (dos niveles), realizando previamente una



transformación de los porcentajes de germinación con el arcoseno de la raíz cuadrada (Sokal y Rohlf, 1994).

## 1.2. Leñosas

Estas pruebas se realizaron con el fin de evaluar el efecto de la escarificación de semillas y el efecto del sustrato (turba y biosólidos) en la germinación de especies leñosas (*Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata*). En este caso, también se colocaron las semillas en la cámara de germinación a 25°C, con una humedad relativa del 60%. Se pusieron a germinar cinco repeticiones de 20 semillas cada una (una repetición por caja de Petri) para cada tratamiento, con un total de 100 semillas X especie X tratamiento.

El diseño experimental consistió en:

2 especies (*Acacia schaffneri* y *Prosopis laevigata*)

3 tratamientos X especie:

Sin escarificación – sustrato comercial (turba)

Con escarificación – sustrato comercial (turba)

Con escarificación – biosólido

Variable de respuesta: % final de germinación

El análisis estadístico consistió en un ANOVA de dos factores, donde los factores son la especie (dos niveles) y el tratamiento (tres niveles). A los datos obtenidos

se le aplicó una transformación con el arcoseno de la raíz cuadrada (Sokal y Rohlf 1994).

## 2. Pruebas de germinación

### 2.1. *P. laevigata* en distintos sustratos

Debido a que en el experimento anterior se encontró que las semillas escarificadas de esta especie germinan mejor que las semillas sin escarificar, en esta fase únicamente se usaron semillas escarificadas. El diseño experimental utilizado fue similar al de los experimentos anteriores. El factor de tratamiento es el tipo de sustrato (suelo ígneo, suelo calcáreo y biosólido). La variable de respuesta fue el % de germinación.

El análisis estadístico consistió en un ANOVA de una vía, con tres niveles (tres tratamientos), y transformando también los datos con la modalidad ya indicada.

### 2.2 *Bouteloua gracilis* y *Bouteloua curtipendula*

Debido a que en las pruebas preliminares con pastos (2.5.1.1) se encontró bajo porcentaje de germinación, se evaluó el efecto de la condición de las semillas (semillas “sanas” y semillas “no sanas”) en el porcentaje final de germinación bajo distintos sustratos (suelo ígneo, suelo calcáreo y biosólido). Se consideró como

semillas “sanas” a las semillas con apariencia saludable y de mayor tamaño, y “no sanas” a las de menor tamaño y aparentemente deshidratadas, que no completaron su desarrollo por alguna razón. El experimento se realizó en una cámara de germinación a 25 °C, con 60% de humedad relativa. En este caso se hicieron cinco repeticiones de 10 semillas con apariencia sana por caja de Petri y el mismo diseño para semillas con apariencia no sana, teniendo un total 100 semillas por especie (50 sanas y 50 no sanas). La variable de respuesta fue el % final de germinación. El análisis estadístico consistió en un ANOVA bifactorial, siendo los factores la condición de las semillas (dos niveles) y el sustrato (tres niveles), realizando la transformación ya indicada para los datos de germinación (Sokal y Rohlf, 1994).