

Análisis de la interacción suelo-planta-microorganismo en un suelo agrícola del Valle del Mézquital, Hidalgo adicionado con biosólido

E. Vázquez & J. Ruiz

E. Vázquez & J. Ruiz
Universidad Tecnológica de Tula-Tepeji, Cuerpo Académico de Ingeniería y Sistemas Ambientales, Av. Universidad Tecnológica No. 1000, C.P. 42830, El Carmen, Tula de Allende, Hidalgo, México.
evazquez@utt.edu.mx

M. Ramos.,V.Aguilera.,(eds.) Ciencias Agropecuarias, Handbook -©ECORFAN- Valle de Santiago, Guanajuato, 2013.

Abstract

Wastewater sludge can be added to the soil for increase the productivity of agricultural soil. The effect of the biosolid on soil characteristics and growth of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) was compared whit that of inorganic fertilizer and a soil without an extra N source. Plants cultivated in a soil amended with biosolid (30% w/w) developed best while those amended with inorganic fertilizer. Bean plants grown in the soil with biosolid had the highest length of tail, number of nodules and seeds per plant, that the electrolytic conductivity (EC) and pH was not different between the treatments and that the amount of N did not inhibited the develop of the bean plant. It was found that biosolid stimulated development and productivity of bean plants to a larger extent than those cultivated in inorganic fertilized soil or unamended soil in the greenhouse.

1 Introducción

Los continuos y generalizados incrementos de la producción agrícola que tuvieron lugar durante las décadas 60 y 70 gracias a la introducción de nuevas variedades y nuevas técnicas productivas, no han llegado a equilibrar la incesante demanda de alimentos a nivel mundial. Además, a pesar de los esfuerzos técnicos, durante los años 80 se observó una disminución en el rendimiento de las cosechas tanto en campos agrícolas como en parcelas de experimentación, sin estar aún las causas claras. Por otra parte, la presión sobre los sistemas agrícolas y forestales ha generado graves problemas de contaminación debido al empleo de fertilizantes y pesticidas.

Las tendencias actuales de la investigación en este campo se integran en los siguientes aspectos fundamentales:

- Mejora de la producción haciendo uso de la biotecnología agrícola.
- Estudio de la dinámica de ciclos biogeoquímicos y sus implicaciones en la nutrición vegetal.
- Estudio de la fisiología de las plantas para su aplicación en la mejora de la producción.
- Impacto ambiental de los cultivos agrícolas en el entorno, incluyendo el cambio de uso de suelo y la modificación de los ecosistemas.

Los enfoques anteriores se encuentran íntimamente relacionadas entre sí, interaccionando de forma que el estudio de cualquiera de ellas obliga a considerar las restantes.

En el presente proyecto se abordarán aspectos fundamentales que inciden en la productividad de una especie, *Phaseolus vulgaris* L., con un considerable impacto económico en la agricultura de nuestro estado y país, incluyendo el uso de los biosólidos como mejoradores de suelo y aportadores de C y N, los cuales son generados durante el tratamiento de aguas residuales.

El estudio se realizará, considerando la interacción de la planta-sistema edáfico, y sistema edáfico-biosólido, separándonos de los sistemas de producción clásicos en los que el factor de la productividad anulaba otras consideraciones vitales, como el mejor aprovechamiento de los recursos edáficos con la mínima presión externa.

1.1 Objetivos

General

Determinar las interacciones físicas, químicas y biológicas en el sistema suelo-planta-microorganismo utilizando el cultivo de *Phaseolus vulgaris* L. Adicionado con biosólidos y bajo condiciones controladas de invernadero.

Específicos

1. Describir el efecto de la adición de biosólidos al suelo y el cultivo de *Phaseolus vulgaris* L. sobre las características físicas y químicas del suelo.
2. Determinar la productividad del cultivo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivado en un suelo adicionado con biosólidos.
3. Relacionar los parámetros biométricos de la planta con la adición de biosólidos al suelo.

1.2 Materiales y Métodos

Sitio de muestreo y características del suelo. El sitio de muestreo está localizado en Acoculco, Edo. de Hidalgo, México (N.L. 19°58', W.L. 99°18'). La altura promedio es de 2020 msnm y se caracteriza por tener una temperatura elevada con poca humedad, la temperatura promedio anual es de 17.6 °C y un valor promedio de precipitación pluvial de 560 mm entre los meses de Junio y Agosto (<http://www.inegi.gob.mx>). El suelo es franco arenoso, tiene una conductividad electrolítica (CE) de 1.2 dS m⁻¹ y un contenido de carbono orgánico (C) de 0.4 g kg⁻¹ of soil. El área ha sido cultivada con maíz por más de 20 años, recibiendo cantidades mínimas de fertilizante inorgánico. El suelo fue muestreado aleatoriamente tomando los primeros 15 cm del suelo en un área de 0.5 ha. El suelo utilizado en cada tratamiento fue tamizado y almacenado hasta el establecimiento experimental.

Biosólido. El biosólido fue obtenido de el Fideicomiso de Infraestructura Ambiental de los Valles de Hidalgo (FIAVHI). El agua residual proviene mayoritariamente de descargas domésticas. El agua residual recolectada es digerida anaeróticamente en un reactor; el lodo final fue secado al sol hasta obtener un contenido promedio de humedad de 30%. La concentración de los metales pesados en el biosólido fue baja, clasificándose como de excelente calidad (USEPA, 1994). El biosólido puede ser clasificado como tipo "C" considerando su contenido de patógenos (USEPA, 1994).

Cultivo de plantas de frijol en el invernadero. Seis submuestras de 7 kg de suelo sin tratar de cada sitio muestreado fueron colocadas en tubos de cloruro de polivinilo (PVC) (50 cm de longitud y 17 cm de diámetro). Tres tratamientos, considerados como CONTROL, BIOSOLIDO Y FERTILIZANTE, fueron aplicados a dieciocho submuestras de 10 kg de suelo, el experimento fue ejecutado por triplicado, obteniendo 270 unidades experimentales. Detalles de los diferentes tratamientos pueden encontrarse en el Cuadro 1.

Las semillas de frijol fueron colocadas en algodón húmedo durante 15 días y un retoño fue sembrado en cada columna del tratamiento correspondiente. Los tubos de PVC se colocaron en el invernadero durante 120 días.

El primer experimento inició el 22 de Febrero de 2012 y terminó el 20 de Junio. Se agregaron 500 mL de agua a cada columna cada dos días. El segundo experimento inició el 24 de Febrero y concluyó el 22 de Junio, el tercero inició el 26 de Febrero terminando el 24 de Junio.

Los muestreos se realizaron los días catorce, veintiocho, setenta y 120 días después de sembrado el retoño, seleccionando tres tubos de PVC de manera aleatoria. La columna de suelo fue removida de los tubos. Las raíces fueron separadas de los nódulos, la cantidad de los nódulos activos fueron determinados y la longitud de las raíces fueron medidas.

Análisis químicos y microbiológicos. El lodo de agua residual fue analizado para determinar coliformes fecales y huevos de helmintos (USEPA, Appendix F, I, 1999). El método de la USEPA (USEPA, Appendix I, 1999) fue usado para concentrar, detectar y enumerar huevo de *Ascaris* y determinar su viabilidad. Las muestras fueron mezcladas con una solución buffer (Buffer de fosfatos 0.1 M pH 7.2) conteniendo surfactante (Tween 80, 0.1%), las partículas grandes fueron removidas en un segundo análisis. Los sólidos fueron precipitados y el sobrenadante retirado. El sedimento obtenido se sometió a una centrifugación diferencial con sulfato de magnesio (gravedad específica de 1.2) a 2000 rpm por 5 min. Las partículas pequeñas fueron removidas en un segundo *screening* sometiéndose a una extracción alcohólica (alcohol/éter etílico). El concentrado fue incubado a 26 °C por diez días y examinado microscópicamente para huevos de *Ascaris* en una cámara de conteo (Hausser Scientific, 935 Horsham Rd., Unit C Horsham Pa, 19044 USA).

Cuantificación de cepas de la orden Rhizobial. Fueron tomados veinte gramos de suelo provenientes de los días de muestreo establecidos i.e., 0, 14, 28, 70 y 120 días. El suelo fue disuelto en 18 mL de agua destilada y 1 mL de la solución fue sembrada a diferentes diluciones, las colonias fueron contadas por la técnica del número más probable (NMP).

Muestreo de nódulo. El procedimiento para el muestreo de los nódulos fue el mismo para los tratamientos establecidos. A la semana diez y catorce, fueron seleccionadas tres plantas por tratamiento y la medición de la actividad reductora de acetileno (ARA) de los nódulos fue hecha.

Número y peso de los nódulos. La cantidad y el peso fresco de los nódulos fueron determinados, el peso de la raíz y el tallo después de ser sometidas a secado en horno a 70 °C durante 12 horas.

El tiempo de floración y madurado de semillas fue registrado para cada tratamiento.

Actividad Reductora de Acetileno (ARA). La ARA fue usada como medida indirecta de la fijación biológica de nitrógeno (BNF). La metodología de Roger (1982) fue empleada para esta determinación. Cada día de muestreo, la raíz de las muestras fue lavada con agua destilada y colocada dentro de un recipiente de vidrio de 1.1 dm³. Inmediatamente, 10% del espacio gaseoso del recipiente fue remplazado por acetileno puro (C₂H₂) exponiendo la raíz a éste a temperatura ambiente por 2 horas. Después de la incubación, 9 cm³ de gas de cada muestra fue transferida a un tubo de tipo vacutainer (BD Vacutainer Cat. 366347). La cantidad de etileno fue determinado con un cromatógrafo de gases Varian Star 3400 CX (CA, USA) equipado con un detector de ionización tipo paraplote Chrompack®. Para cada análisis, se inyectó una alícuota de 0.5 mm³ utilizando una jeringa de vidrio con sello de teflón (Hamilton®, USA).

Análisis estadístico. Se determinaron las diferencias significativas entre las variables determinadas del suelo y la planta utilizando un análisis de varianza (ANOVA) y el procedimiento general de modelo lineal (PROC GLM, SAS Institute, 1989).

Todos los datos que se presentan fueron son el promedio de tres plantas cultivadas en suelo o muestras tomadas del directamente del suelo, de tres diferentes sitios y de tres experimentos establecidos en invernadero, i.e. $n = 18$.

Tabla 1 Tratamiento aplicados a suelo de Acapulco cultivado con frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Tratamiento	Adicionantes	A 7 kg de suelo (kg)	A 1 ha (kg)
BIOSOLIDO	Biosólido fresco	3	188×10^3
FERTILIZANTE	Fertilizante 17%N, 17% P ₂ O ₅ , 17% K ₂ O	1.6	470

1.3 Resultados

Características del biosólido. El pH inicial del biosólido fue 12, después de mezclarse con suelo fue de 7.6, la capacidad de retención de agua (CRA) fue 760 g kg^{-1} y se observó la reducción hasta 450 g kg^{-1} (día 120), la conductividad electrolítica se redujo de 6 dS m^{-1} (biosólido) a 2.7 dS m^{-1} mezclado con el suelo (día 0) (Cuadro 2) y 1 dS m^{-1} al final del experimento (día 120).

Tabla 1.1 Características físicas y químicas del suelo de Acapulco, Hidalgo, Mexico y del biosólido

	pH	CRA ^a (g kg ⁻¹ s)	Carbono (g kg ⁻¹ s)		Nitrogeno Total (g kg ⁻¹ s)	CE ^b dS m ⁻¹	Distribución de Partícula (g kg ⁻¹)			Clasificación textural USDA
			Inorgánico	Orgánico			Arcilla	Arena	Limo	
co	7	400	0.4	12	0.9	1.2	320	120	560	Franco Arenoso
do	12	760	2.6	326	22	6	NA	NA	NA	NA

^aCRA: Capacidad de retención de agua

^bCE: Conductividad electrolítica

NA: No Aplicable

Características del suelo. El valor del pH fue prácticamente el mismo durante el tiempo de experimentación para los tratamientos establecidos (7.0 – 8.0). La CE se redujo para los tres tratamientos, al inicio del experimento, el tratamiento BIOSOLIDO tuvo el valor más grande de CE (2.7 dS/m) comparado con los tratamientos FERTILIZANTE y CONTROL, pero a lo largo del tiempo experimental los valores se redujeron significativamente, al final del experimento la CE del tratamiento BIOSOLIDO fue el mayor.

Ensayo de actividad reductora de acetileno y rendimiento de cultivos. Se encontró que los nódulos analizados del tratamiento BIOSOLIDO tuvieron una mayor fijación biológica de nitrógeno en los días 70 y 120 comparados con los tratamientos FERTILIZANTE y CONTROL. La mayor FBN fue alcanzada por el tratamiento BIOSOLIDO a las 20 semanas (2430 nmoles/g de nódulo fresco (gnpf/h)).

El rendimiento de los cultivos, en términos de número de semilla por planta no fue significativamente diferente entre los tratamientos CONTROL y FERTILIZANTE ($P < 0.05$). El número de nodulos totales y activos en el tratamiento biosolido fue el mayor. La adición de biosólido al suelo mejoro todas las características de las plantas comparadas con las de los otros tratamientos (Tabla 1.2).

Tabla 1.2 Fijación biológica de nitrógeno de nódulos y rendimiento de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de los tratamientos BIOSOLIDO, FERTILIZANTE y CONTROL

Tratamiento	Fijación biológica de Nitrógeno (ARA) ^a nmol/g de nódulo fresco		Rendimiento por planta (g) ^b
	Diez semanas	Catorce semanas	
CONTROL	540 (23)	520 (54)	3.8 A ^c
FERTILIZANTE	1974 (45)	1256 (67)	4.3 A
BIOSOLIDO	2430 (89)	1320 (110)	10.4 B

^aEl valor entre parenthesis corresponde a la desviación estándar, n = 18

^bValores promediados despues de 120 días, n = 18

^cValores de las columnas con la misma letra no son significativamente diferentes (Tuckey, $\alpha = 0.05$)

Cuantificación de Rhizobia. Se encontraron diferencias entre el número de colonias encontradas por tratamiento establecido durante los días de cultivo (Tabla 1.3). No es posible explicar el efecto del tratamiento sobre la población de *Rhizobium*, sin embargo es claro observar el número elevado de estas bacterias en las muestras analizadas.

Tabla 1.3 Unidades formadoras de colonias de *Rhizobia* encontradas en un gramo de suelo muestreado a diferentes días de cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo diferentes tratamientos

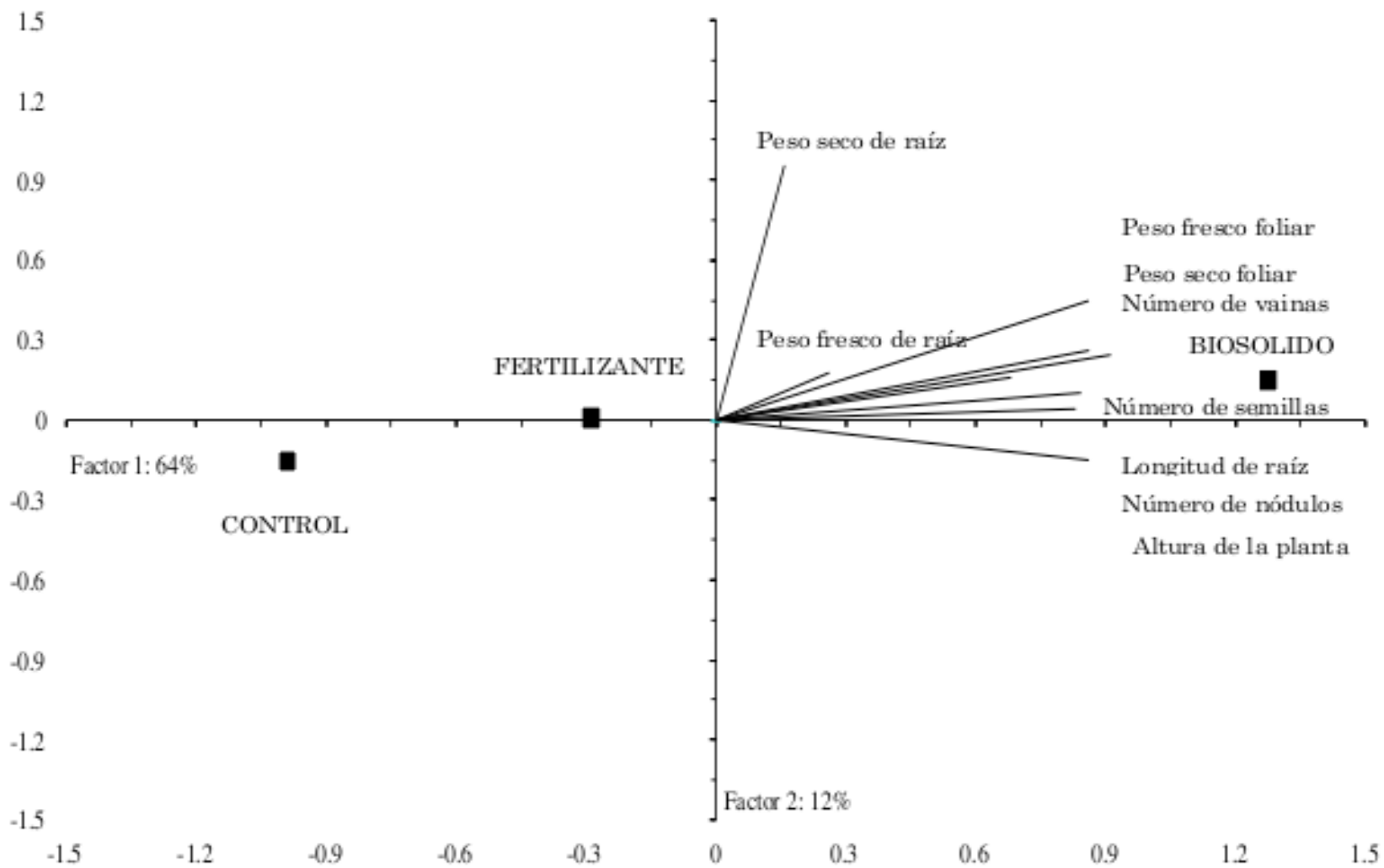
Tratamiento	CFU g-1 de suelo de <i>Rhizobium</i> sp.					
	0	14	28	70	120	
CONTROL	ND	1.56 x 10 ⁶	7.23 x 10 ⁶	2.92 x 10 ⁶	1.52x10 ⁷	
FERTILIZANTE	ND	2.04 x 10 ⁶	8.76 x 10 ⁶	6.80x10 ⁶	5.81x10 ⁶	
BIOSOLIDO	ND	2.73 x 10 ⁶	1.52 x 10 ⁷	5.40x10 ⁶	1.01x10 ⁷	

ND No detectado

Desarrollo de la planta. El peso seco de las plantas de frijol fue significativamente mayor en el tratamiento BIOSOLIDO comparado con los tratamientos FERTILIZANTE y CONTROL. El peso seco de las raíces fue significativamente mayor en el tratamiento BIOSOLIDO. La longitud de las raíces fue similar para los tres tratamientos, pero las plantas fueron más grandes cuando se cultivaron en suelo adicionado con biosólido. El número total de nódulos fue significativamente mayor en el tratamiento BIOSOLIDO comparado con los otros tratamientos.

Se realizó un análisis de componentes múltiples (PCA) usando las características de la planta que fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$)

Figura 1. Análisis de componentes múltiples hecho con las características de las plantas de frijol analizadas



1.4 Discusión

Características del suelo. El pH del suelo fue similar en cada uno de los tratamientos. Bauhus y Meiwes (1994) encontraron que la adición de lodo digerido anaerobicamente no tuvo efecto sobre el pH del suelo, sin embargo Simonete et al. (2003) encontró que el pH aumentaba. La adición del biosólido con pH 12 incremento el pH del suelo a 8.0. El pH del suelo al final de experimento fue de 7.7. Franco-Hernández et al. (2003) encontró que la adición del biosólido proveniente de una compañía farmacéutica con pH de 12 aplicado en una proporción de 24 d de biosólido por kg de suelo y 32 g de biosólido por kg de suelo incrementó inicialmente el pH, pero el efecto desapareció a los 7 días.

El biosólido contiene grandes cantidades de material orgánico fácilmente asimilable que fue mineralizado incrementando el contenido de NO_2^- y NO_3^- en el suelo. (Figuras 2, 3 y 4) Hernández et al. (2000) reportó que entre el 30% y 41% del N orgánico adicionado como biosólido fue mineralizado a los 20 semanas de aplicación. Agehara y Warnke (2005) reportaron que entre el 37% y 45% del estiércol de gallina se mineralizó después de 12 semanas. La cantidad de N liberado proveniente de Fuentes orgánicas depende de su composición y de las características del suelo donde es adicionado.

Es importante recordar, sin embargo, que las tasas de mineralización de N mencionadas anteriormente fueron estimadas bajo condiciones de invernadero y que ésta depende de las condiciones de humedad y temperatura (Binder et al., 2002).

Figura 1.1 Concentración de NH_4^+ (mg N/kg suelo seco) de (◇) Suelo fertilizado, (▲) Suelo adicionado con biosólido y (□) soil sin fuente externa de N. Las barras corresponden al error estándar de los estimados ($p < 0.05$) y cada punto en la gráfica es el valor promedio de $n = 18$

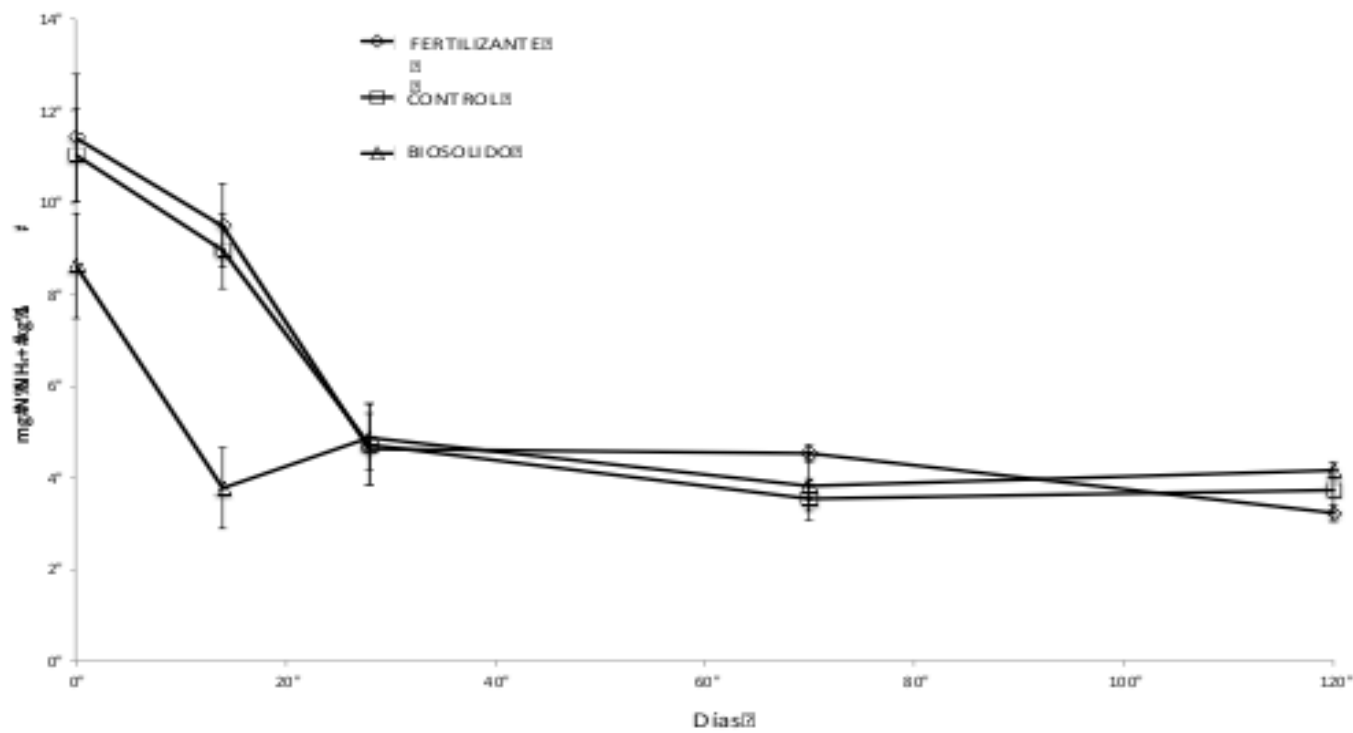


Figura 1.2 Concentración de NO_3^- (mg N/kg suelo seco) de (◇) Suelo fertilizado, (▲) Suelo adicionado con biosólido y (□) soil sin fuente externa de N. Las barras corresponden al error estándar de los estimados ($p < 0.05$) y cada punto en la gráfica es el valor promedio de $n = 18$

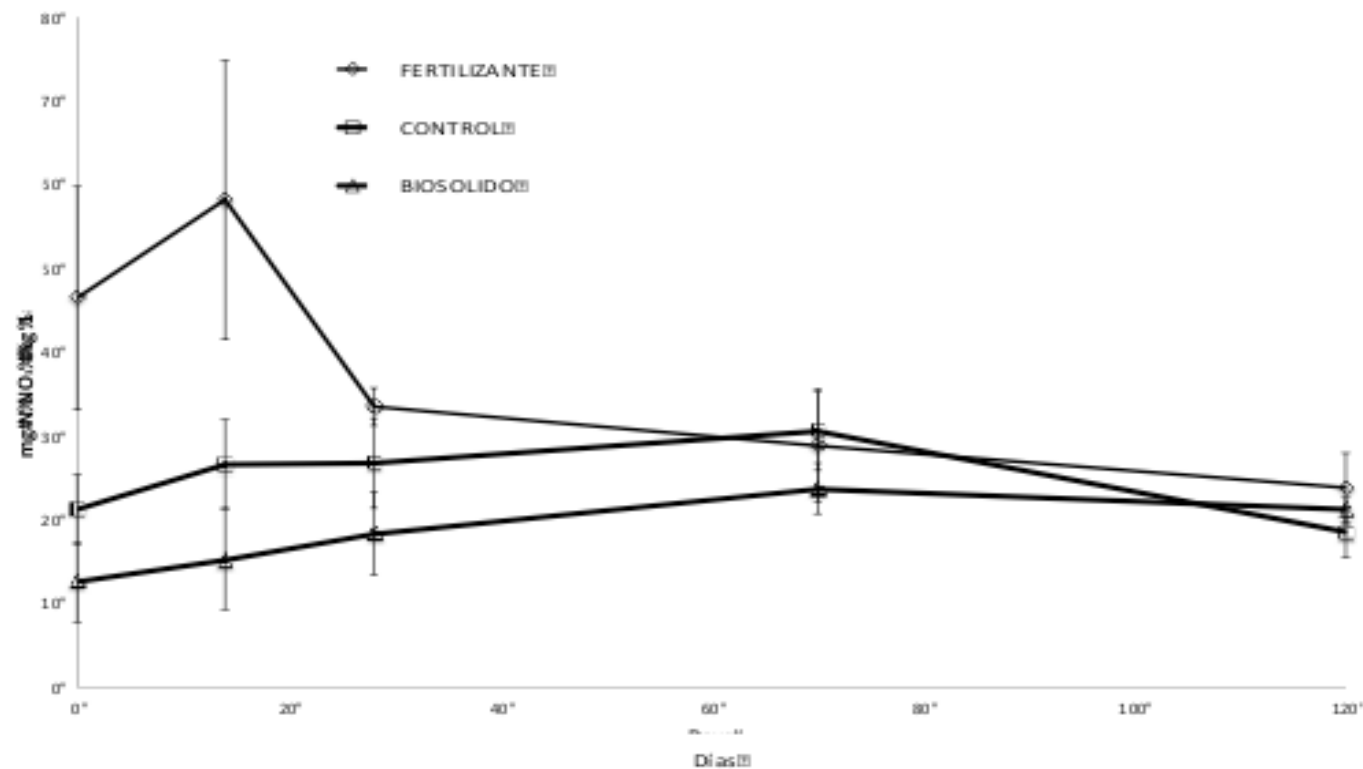
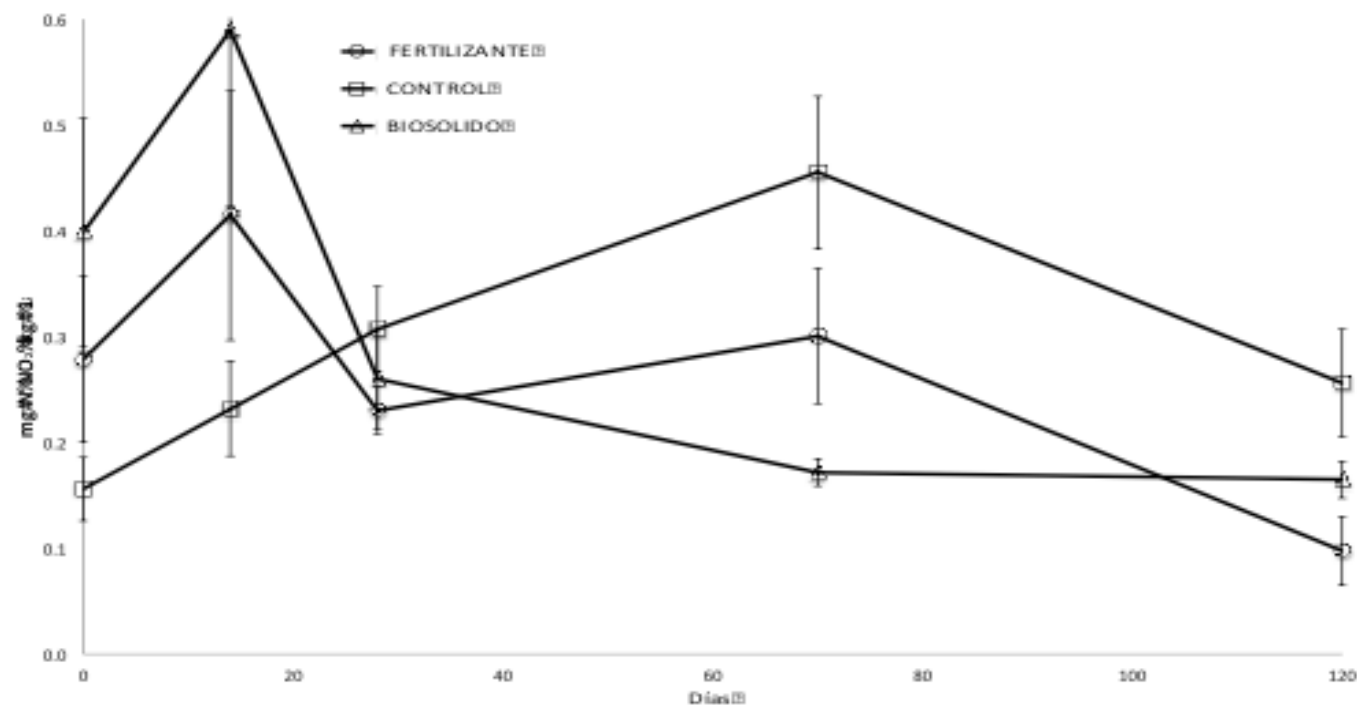


Figura 1.3 Concentración de NO_2^- (mg N/kg suelo seco) de (◇) Suelo fertilizado, (▲) Suelo adicionado con biosólido y (□) soil sin fuente externa de N. Las barras corresponden al error estándar de los estimados ($p < 0.05$) y cada punto en la gráfica es el valor promedio de $n = 18$



Características de la planta. Agregar biosólido incrementó el crecimiento de la planta comparado con las plantas cultivadas en suelo fertilizado. El biosólido contiene grandes cantidades de material orgánico fácilmente asimilable que favorece la liberación de N que permanece disponible para el desarrollo de la planta (Akdeniz et al., 2006). Además, el biosólido contiene otros nutrientes, como el P y el K y compuestos traza, que estimulan el crecimiento de la planta (Pote et al., 2003). La cantidad de biosólido agregado fue la necesaria para el crecimiento de la planta, sin embargo Abd-Alla et al. (1999) encontró que el lodo aplicado a bajas proporciones (20% y 30% (w/w)) mejoró significativamente el crecimiento de frijol fava (*Vicia faba* L.), soya (*Glycine max* L.) y lupino blanco (*Lupinus albus* L.) sembrados en suelo desértico, sin embargo la tasa de crecimiento se redujo cuando se agregó biosólido en proporciones altas (40% y 50%).

Es conocido que el contenido de N en el biosólido reduce la fijación biológica de N_2 (Currie et al., 2003) y el número de nódulos en las plantas (Faria-Viera et al., 2005), por lo que la cantidad aplicada es importante para evitar que dicha inhibición ocurra (Abd-Alla et al., 1999; Currie et al., 2003). La cantidad de biosólido utilizada en este experimento incrementó significativamente la cantidad de nódulos comparada con los tratamientos FERTILIZANTE y CONTROL. Se sabe que el incremento de la salinidad en suelo reduce la productividad de los cultivos (e.g., Nelson y Ham, 2000) y afecta la fisiología de las plantas, tal como contenido de agua en la planta, funcionamiento de los nódulos y distribución de iones (Nandwal et al., 2000).

Actividad reductora de acetileno. El número total de nódulos encontrado en las raíces de las plantas fue altamente variable. Fernández-Luqueño et al. (2008) reportó más de 300 nódulos por planta de frijol, Montes-Molina et al. (2008) observó solo 38 nódulos por planta de frijol común.

El número de nódulos por planta depende de las características del suelo, compatibilidad y eficiencia entre *Rhizobium* y la planta de frijol (Amarger, 2001).

Las plantas en el tratamiento CONTROL tuvieron el valor más alto para el número total de nódulos activos, 117 y 84 respectivamente, solo 77 y 52 fueron encontrados en el suelo fertilizado y 72 y 46 se encontraron en suelo adicionado con BIOSOLIDO.

De acuerdo con nuestros resultados de rendimiento por planta, el número de nódulos, ARA y peso fresco/seco de los nódulos y planta, pueden ser usados como un buen indicador de rendimiento en estadios tempranos del cultivo de frijol, esto implica que estos parámetros son confiables para este experimento.

El Tabla 1.3 muestra el efecto de la fuente de N sobre los valores de ARA, las diferencias entre los tratamientos fueron significativas. El tratamiento BIOSOLIDO tuvo el valor más alto de ARA a la semana diez y catorce.

Características de rendimiento por planta. La adición de fertilizante orgánico o inorgánico mejora el crecimiento de la planta e incrementa el rendimiento productivo comparado con un suelo no fertilizado. Se ha reportado que bajos niveles de adición de N con urea ($50 \text{ kg urea ha}^{-1}$) incrementa el rendimiento comparado con cultivos de frijol sin fertilizante (Daba y Haile, 2000). La adición de lodo de agua residual incrementa el rendimiento y el número de vainas. Yuruk y Bozkurt (2006) reportaron que el lodo proveniente del tratamiento de agua residual incrementa la biomasa de la planta y el número de semillas de chícharo (*Cicer arietinum* L.), y no causa un desbalanceo en la nutrición de la planta.

El biosólido aumenta los nutrientes del suelo, así como las características físicas y químicas, sin embargo el impacto sobre las características de la planta no son siempre las mismas. En este experimento se observó que la longitud de la raíz y el peso seco de la misma no fueron significativamente diferente para los tratamientos establecidos. Vega et al. (2005), sin embargo, reportó que el lodo incrementó la densidad de la raíz de *Bactris gasipaes* Kunth y el incremento de la biomasa de raíz fue proporcional a la cantidad de lodo aplicado.

Las plantas de frijol cultivadas en suelo adicionado con biosólido fueron más pesadas con un mayor número de flores, dando más vainas y semillas, comparadas con aquellas que fueron cultivadas con suelo fertilizado y en suelo con fuente externa de N.

1.5 Conclusiones

Se encontró que el biosólido obtenido de una planta de tratamiento anaerobio es un producto rico en nutrientes, bajo en contenido de patógenos. El biosólido utilizado en este estudio estimuló el desarrollo de las plantas de frijol. El fertilizante estimuló el crecimiento de la planta pero fue menor que el observado con la adición del biosólido. El rendimiento de las plantas de frijol cultivadas en suelo sin adición de N fue menor que el obtenido con los tratamientos BIOSOLIDO y FERTILIZANTE. Es importante decir, sin embargo que los experimentos fueron hechos bajo condiciones de invernadero y que es necesario confirmar los resultados en campo. Se recomienda analizar el uso de biosólido en otros cultivos.

1.6 Agradecimientos

Agradecemos la participación de M.C Barrios-Valencia, A.L Meza-Lovera, M.C Carrasco-M, L.I Porras-Gómez, E Nicolás-Peña, Y.M.D Jiménez-Vilchis y D Jiménez-Alvarado por la asistencia técnica. El trabajo fue financiado por PROMEP-SEP, Fortalecimiento de Cuerpo Académico, IDCA 7117, UTTT-CA-3.

1.7 Referencias

- Abd-Alla, M.H., Yan, F., Schubert, S. (1999) Effects of sewage sludge application on nodulation, nitrogen fixation, and plant growth of faba bean, soybean, and lupin. *J. Appl. Bot.* 73, 69–75.
- Agehara, S., Warncke, D.D. (2005) Soil moisture and temperature effects on nitrogen release from organic nitrogen sources. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69, 1844–1855.
- Akdeniz, H., Yilmaz, I., Bozkurt, M.A., Keskin, B. (2006) The effects of sewage sludge and nitrogen applications on grain sorghum grown (*Sorghum vulgare* L.) in Van- Turkey. *Pol. J. Environ. Stud.* 15, 19–26.
- Amarger, N. (2001) Rhizobia in the field. *Adv. Agron.* 73, 109–168.
- Bauhus, J., Meiwes, K.J. (1994) Potential use of plant residue wastes in forests of northwestern Germany. *Forest Ecol. Manag.* 66, 87–106.
- Binder, D.L., Dobermann, A., Sander, D.H., Cassman, K.G. (2002) Biosolids as nitrogen source for irrigated maize and rainfed sorghum. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66, 531–543.
- Currie, V.C., Angle, J.S., Hill, R.L. (2003) Biosolids application to soybeans and effects on input and output of nitrogen. *Agric. Ecosyst. Environ.* 97, 345–351.
- Daba, S., Haile, M. (2000) Effects of rhizobial inoculant and nitrogen fertilizer on yield and nodulation of common bean. *J. Plant Nutr.* 23, 581–591.
- Faria-Vieira, R., Mui-Tsai, S., Araújo-Teixeira, M. (2005) Nodulation and symbiotic nitrogen fixation in bean with *Rhizobium* native strains, in soil amended with sewage sludge. *Pesqui Agropecu. Bras.* 40, 1047–1500.
- Fernandez-Luqueno F, Dendooven L, Munive A, Corlay-Chee L, Serrano-Covarrubias LM, Espinosa-Victoria D. (2008) Micro- morphology of common vean (*Phaseolus vulgaris* L.) nodules undergoing senescence. *Acta Physiol. Plant.* 30, 545-552.
- Franco-Hernández, O., Mckelligan-González, A.N., Lopez-Olguin, A.M., Espinosa-Ceron, F., Escamilla-Silvia, E., Dendooven, L. (2003) Dynamics of carbon, nitrogen and phosphorus in soil amended with irradiated, pasteurized and limed biosolids. *Bioresour. Technol.* 87, 93–102.
- Hernández, T., Moral, R., Perez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., Perez-Murcia, M.D., Gracia, C. (2002) Nitrogen mineralisation potential in calcareous soils amended with sewage sludge. *Bioresour. Technol.* 83, 213–219.
- Krogmann, U., Boyles, L.S., Martel, C.J., McComas, K.A. (1997) Biosolids and sludge management. *Water Environ. Res.* 69, 534–549.
- Montes-Molina, J.A., Luna-Guido, M., Ceballos-Ramírez, J.M., Fernández-Luqueño, F., Espinoza-Paz, N., Rincón-Rosales, R., Dendooven, L., Gutierrez-Miveli, F.A. (2008) Effect of pest-controlling neem and mata-raton on bean growth, soil N and soil CO₂ emissions. *Agron. Sustain. Dev.* 28, 187–194.

- Nadal-Moyano, S., Moreno-Yagüela, M.T., Cubero-Salmeron, J.L. (2004) Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Mundi-Presna Libros, S.A, p. 318.
- Nandwal, A.S., Godara, M., Sheokand, S., Kamboj, D.V., Kundu, B.S., Kuhad, M.S., Kumar, B., Sharma, S.K. (2000) Salinity induced changes in plant water status, nodule functioning and ionic distribution in phenotypically differing genotypes of *Vigna radiata* L. *J. Plant Phys.* 156, 350–359.
- Nelson, P.N., Ham, G.J. (2000) Exploring the response of sugar cane to sodic and saline conditions through natural variation in the field. *Field Crop Res.* 66, 245–255.
- Pote, D.H., Kingery, W.L., Aiken, G.E., Han, F.X., Moore, P.A., Buddington, K. (2003) Water-quality effects of incorporating poultry litter into perennial grassland soils. *J. Environ. Qual.* 32, 2392–2398.
- SAS Institute (1989) *Statistic Guide for Personal Computers*. Version 6.04, Edn. SAS Institute, Cary.
- Simonete, M.A., Kiehl, J.D., Andrade, C.A., Teixeira, C.F.A. (2003) Effect of sewage sludge in a Ultisol and on growth and nutrition of maize. *Pesqui Agropecu. Bras.* 38, 1187–1195.
- USEPA (1999) *Environmental Regulations and Technology. Control of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge. (Including Domestic Septage)*. Under 40 CFR Part 503. Appendix F, G, and I. U.S. Environmental Protection Agency Office of Research and Development, National Risk Management Research Laboratory, Center for Environmental Research Information, Cincinnati, OH 45268 (EPA/625/R-92-013).
- Vega, F.V.A., Bovi, M.L.A., Junior, G.G., Berton, R.S. (2005) Sewage sludge doses and the root system of peach palm. *Rev. Bras. Cienc. Solo* 29, 259–268.