



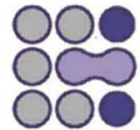
Miguel Hernández
ESCUELA POLITECNICA
SUPERIOR DE ORIHUELA



CSIC

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura

**Máster Universitario de Investigación en
Gestión, Tratamiento y Valorización de Residuos Orgánicos**



VALORIZACIÓN AGRONÓMICA DE MATERIALES DIGERIDOS POR BIOMETANIZACIÓN EN CULTIVOS ENERGÉTICOS NO ALIMENTARIOS: TABACO Y CHUMBERA

JOSÉ A. SÁEZ TOVAR

2013



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

Se autoriza al alumno **D. José Antonio Sáez Tovar** a realizar el Trabajo Fin de Máster titulado: “Valoración agronómica de materiales digeridos por biometanización en cultivos energéticos no alimentarios: Tabaco y Chumbera”, bajo la dirección de D.^a Pilar Bernal Calderón y la codirección de D. Rafael Clemente Carrillo y D.^a Aurelia Pérez Espinosa, debiendo cumplir las directrices para la redacción del mismo que están a su disposición en el Centro de Gestión de Campus y en la página Web de la misma.

Orihuela, 29 de julio de 2013

La Directora del Master de Investigación en Gestión, Tratamiento y Valoración de Residuos Orgánicos.

Fdo.: Concepción Paredes Gil



TRIBUNAL	
FECHA:	
PRESIDENTE:	FIRMA:
VOCAL:	FIRMA:
VOCAL:	FIRMA:



ESCUELA POLITECNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

**Máster Universitario de Investigación en
Gestión, Tratamiento y Valorización de Residuos Orgánicos**



VALORIZACIÓN AGRONÓMICA DE MATERIALES DIGERIDOS POR BIOMETANIZACIÓN EN CULTIVOS ENERGÉTICOS NO ALIMENTARIOS: TABACO Y CHUMBERA

Vº Bº DIRECTOR

VºBº CODIRECTOR

VºBº CODIRECTOR

Dra. M^a Pilar Bernal Calderón

Dr. Rafael Clemente Carrillo

Dra. Aurelia Pérez Espinosa

REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MASTER

IDENTIFICACIONES:

Autor: José Antonio Sáez Tovar

Título: Valorización agronómica de materiales digeridos por biometanización en cultivos energéticos no alimentarios: Tabaco y Chumbera

Directores: Dra. M^a Pilar Bernal Calderón, Dr. Rafael Clemente Carillo, Dra. Aurelia Pérez Espinosa

Año: 2013

Titulación: Master de Investigación en Gestión, Tratamiento y valorización de residuos

Tipo de trabajo: Experimental

Palabras clave: Digestión anaerobia, abono orgánico, cultivos energéticos, materiales digeridos, compost.

Keywords: Anaerobic digestion, organic fertiliser, energy crops, digestate, compost.

Nº citas bibliográficas: 57

Nº de tablas: 18

Nº de figuras: 9

Resumen: La sostenibilidad de un modelo de producción y uso de biogás agroindustrial requiere una adecuada gestión de los materiales digeridos generados en el proceso. Su utilización como materiales fertilizantes en suelos agrícolas es una opción viable de gestión, que precisa de un adecuado manejo, ajustando su dosificación según los requerimientos nutricionales del cultivo en cuestión. Este trabajo basado en un modelo de producción sostenible de biogás, utiliza un proceso integrado de biorrefinería en el que a partir de la co-digestión de cultivos energéticos no alimentarios se obtengan recursos de interés: biogás (energía) y el digerido (material fertilizante). La utilización de los materiales digeridos para la fertilización del propio cultivo energético (tabaco y chumbera), permite su reciclado y el ahorro de fertilizantes, minimizando así la generación de residuos en el proceso de producción de biogás.

Abstract: A sustainable model for production and use of agro-industrial biogas requires a proper management of the digested materials generated in the process. Their use as fertiliser materials in agricultural soils is a viable management strategy, which requires a proper management, adjusting dosage according to the crop nutrient requirements. This work is based on a sustainable model for biogas production, using an integrated bio-refinery process in the co-digestion of non-food energy crops obtaining resources of interest: biogas (energy) and the digestate (fertiliser material). The use of digested materials for the fertilization of the energy crops (tobacco and prickly pear cactus), allows recycling and saving of fertilisers, thus minimising the production of wastes in the process of biogas production.



Dña. María Pilar Bernal Calderón, Doctora en Química y Profesora de Investigación del CSIC, y **D. Rafael Clemente Carrillo**, Doctor en Química e Investigador Ramón y Cajal, ambos con destino en el Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, CEBAS-CSIC,

CERTIFICAN:

Que el Trabajo Fin de Master titulado **“Valorización agronómica de materiales digeridos por biometanización en cultivos energéticos no alimentarios: tabaco y chumbera”**, presentado por **D. José Antonio Sáez Tovar** ha sido realizado bajo nuestra inmediata dirección y supervisión en el Departamento de Conservación de Suelos y Agua y Manejo de Residuos Orgánicos del CEBAS-CSIC, dentro de las actividades realizadas en el marco del proyecto Singular Estratégico *PROBOGAS. Desarrollo de sistemas sostenibles de producción y uso del biogás agroindustrial en España*, subproyecto: *Desarrollo de un modelo sostenible de producción de biogás y obtención de otros compuestos valorizables a partir de cultivos energéticos autóctonos y no alimentarios (tabaco y chumbera)* (Ref.: PSS-120000-2009-25)

Murcia, a 13 de septiembre de 2013

Director

Co-director

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a la Dra. M^a Pilar Bernal Calderón la posibilidad que me brindo al permitirme realizar el trabajo fin de Master en el CEBAS-CSIC, sin olvidar por supuesto, todo el apoyo y ayuda recibidas por su parte en la consecución del mismo. Así mismo, agradezco a Rafael Clemente todos los consejos y la ayuda prestada durante estos meses y a Aurelia Pérez Espinosa su colaboración en la realización del trabajo. No quisiera cerrar estas líneas sin agradecer también a todo el grupo de investigación su apoyo, y lo más importante, GRACIAS a todos ellos por compartir conmigo todo su conocimiento.

INDICE

1. OBJETO Y SINTESIS	3
2. INTRODUCCIÓN	9
2.1 La biometanización de cultivos energéticos	9
2.2 Situación actual de la producción de tabaco y chumbera	11
2.2.1 Tabaco	11
2.2.2 Chumbera	14
2.3 Características y condiciones agroclimáticas	15
2.3.1 Características edáficas	16
2.3.2 Ciclo vegetativo, siembra y plantación	17
2.3.3 Labores y operaciones de cultivo	18
2.3.4 Control de plagas	19
2.3.5 Fertilización	20
2.3.6 Recoleccion y conservación	21
2.3.7 Rendimientos	22
2.4 Características y condiciones agroclimáticas de la chumbera	23
2.4.1 Características edáficas	24
2.4.2 Ciclo vegetativo, siembra y plantación	25
2.4.3 Labores y operaciones de cultivo	26
2.4.4 Control de plagas	27
2.4.5 Fertilización	28
2.4.6 Recoleccion y conservación	29
2.4.7 Rendimientos	30
2.5 Aplicaciones convencionales de ambos cultivos	30
2.5.1 Tabaco	30
2.5.2 Chumbera	32
2.6 Utilización en digestión anaerobia por biometanización	34
2.6.1 Tabaco	34
2.6.2 Chumbera	35
3. OBJETIVOS	39
4. MATERIALES Y MÉTODOS	43
4.1 Caracterización y procedencia de los materiales	43
4.1.1 Suelo	43

4.1.2	Materiales orgánicos de digeridos	44
4.1.3	Compost	46
4.1.4	Material vegetal	47
4.2	Diseño Experimental	48
4.2.1	Ensayo tabaco	48
4.2.2	Ensayo chumbera	50
4.3	Toma de muestra y procesado	52
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
5.1	Cultivo de tabaco	57
5.1.1	Producción vegetal	57
5.1.2	Macro y micronutrientes	59
5.2	Cultivo de chumbera	66
5.2.1	Producción vegetal	66
5.2.2	Macro y micronutrientes	66
5.3	Efectos en el suelo	69
5.3.1	Propiedades químicas	69
5.3.2	Propiedades biológicas	72
6.	CONCLUSIONES	77
7.	BIBLIOGRAFÍA	83

ANEXOS

- **Metodología analítica**
 - Determinaciones en suelo
 - Determinaciones en materiales orgánicos
 - Determinaciones en planta
- **Tratamiento estadístico**

1. OBJETO Y SÍNTESIS

En los últimos años se ha observado un cambio importante en los sistemas de producción ganadera, se ha pasado de las típicas explotaciones extensivas ligadas a la agricultura, a las granjas de producción intensiva con un alto número de animales por granja. Esto a su vez ha provocado un cambio en su mapa de distribución, apareciendo zonas puntuales donde se alcanzan elevadas cargas ganaderas, con grandes concentraciones de los residuos que dichas actividades generan. Así los estiércoles y purines deben ser gestionados bajo prácticas de eliminación y/o valorización adecuadas para evitar cualquier impacto negativo sobre el medio ambiente.

En este contexto y de acuerdo a la tendencia actual en las políticas europeas relativas a la producción de energías renovables y la gestión de residuos, la digestión anaerobia para la producción de biogás se presenta como una tecnología interesante en la gestión de residuos ganaderos, con la que además, se consigue una recuperación parcial de la energía contenida en dichos residuos. Algunos de los principales beneficios de la digestión anaerobia son: ahorro de energía a través de la producción de biogás; reducción de la emisión de gases de efecto invernadero y de la contaminación del medio (aire/agua); higienización y estabilización del residuo; y preservación de los recursos naturales consumidos en la fabricación de fertilizantes inorgánicos, a través del uso del producto final (digestato) como fertilizante.

Por otro lado, atendiendo a la eficiencia económica de un sistema de producción de biogás, diversos estudios encuentran que la co-digestión de los estiércoles y purines animales junto a otros materiales, como cultivos energéticos, complementan sus propiedades (principalmente por el aporte de materia orgánica) y mejoran la producción de biogás y con ello la de energía. Sin embargo, las reacciones de biodegradación de residuos orgánicos, además de generar biogás como energía renovable, producen un material residual digerido generalmente semilíquido con un elevado contenido en agua, que en algunos casos es separado en una fracción sólida y otra líquida. La forma más sencilla e inmediata de valorizar éstos residuos orgánicos es mediante su aplicación al suelo agrícola como fertilizante. Esta revalorización agronómica de los digeridos, sin embargo, exige evaluar su contenido nutricional para el sistema suelo-planta y la cantidad y tipo de materia orgánica que aportan, ya que el uso inadecuado o la aplicación a dosis excesivas pueden suponer un riesgo de contaminación del ecosistema (contaminación por nitratos, por metales pesados o por patógenos), incidiendo gravemente en el suelo, el agua y las plantas.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la utilización agronómica de los materiales digeridos mediante su aplicación, como abono de fondo, en cultivos energéticos no alimentarios de tabaco (*Nicotiana tabacum*) y chumbera (*Opuntia ficus-indica*), que se emplearan a su vez como co-sustrato en la digestión anaerobia, cerrando así el ciclo de nutrientes y materia orgánica y minimizando la generación de residuos en el proceso de producción de biogás. Para ello, se han considerado los subproductos que se pueden generar en una planta industrial, en función de la instalación disponible para la gestión del digerido: sin tratamiento (digerido bruto en forma semi-líquida), un sistema de centrifugación (fracciones sólida y líquida), o una instalación de compostaje (compost). Cada uno de estos subproductos fue aplicado como tratamiento en dos experimentos agronómicos, además de un tratamiento con fertilización inorgánica, y un control sin fertilización con el fin de poder comparar el rendimiento entre tratamientos.

Para determinar la idoneidad del uso de estos materiales como producto fertilizante, se llevó a cabo la caracterización físico-química de los materiales digeridos, se determinó su capacidad fertilizante y mediante la aplicación de las distintas fracciones de los materiales digeridos en cultivos de tabaco y chumbera (según las necesidades nutricionales de éstos), se establecieron las posibilidades de utilización del digerido como abono orgánico en cultivos energéticos. Los experimentos se llevaron a cabo en macetas bajo invernadero. Posteriormente se analizó el contenido en nutrientes del material vegetal, la producción de biomasa y las propiedades del suelo que condicionan su fertilidad.

Los resultados obtenidos indican que los materiales digeridos son adecuados para la fertilización de ambos cultivos, obteniendo rendimientos superiores al control sin fertilizar. Sin embargo, ninguno de los materiales fue capaz de lograr una producción similar al fertilizante mineral. El estudio de la composición nutricional del cultivo de tabaco mostró deficiencias en ciertos nutrientes, como puede ser Mg o incluso P, con alguno de los materiales. Por ello, se concluye que estos materiales pueden sustituir parcialmente a los fertilizantes minerales y en la fertilización de fondo, pero es necesario realizar una fertilización complementaria de cobertera a lo largo del cultivo para evitar deficiencias nutricionales. Además la dosificación debe realizarse en base al aporte de todos los nutrientes, no solo de N, que permita formular el resto de la fertilización.

El compost preparado con digerido es un material muy útil como fertilizante de fondo, además proporciona C orgánico al suelo y mejora la biomasa microbiana del suelo, capaz de mantener los ciclos biológicos del suelo. Sin embargo, su dosificación debe tener en cuenta el aporte de todos los nutrientes, ya que una sobre-aplicación no

supone una mejora para el suelo y el cultivo, más al contrario puede suponer una acumulación excesiva de P y K, con gran activación de los procesos biológicos del suelo, respiración y biomasa microbiana.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 La biometanización de cultivos energéticos

La biometanización en EU, como actividad generadora de energía renovable, se ha centrado históricamente en los residuos urbanos, tanto a través de la captura y aprovechamiento de las emisiones de metano que se producen en los vertederos de residuos sólidos urbanos, así como en los procesos de estabilización anaeróbica de los lodos de depuradora. En Europa, el biogás de vertedero supone un 31% del total, seguido por las plantas depuradoras de aguas residuales (tanto urbanas como industriales) con un 12%, quedando el 57,0% restante para otro tipo de plantas, que tratan deyecciones ganaderas y residuos agroindustriales y la FORSU.

Existen dos modelos de tendencia de biogás en Europa dominado por los países más pioneros, Alemania y Reino Unido, que copan más del 70% de la producción primaria: Alemania ha optado por promover el desarrollo de plantas que traten residuos agroindustriales y cultivos energéticos, mientras que el Reino Unido se ha centrado en la producción de biogás a partir de la desgasificación de vertederos.

En España el 70 % de la potencia eléctrica instalada con biogás corresponde a la producción en vertedero (IDAE, 2011). Sin embargo, según el Plan de Energías Renovables 2011-2020 (IDAE, 2011) el potencial de generación de biogás en España se evalúa en un potencial del 78 % en el biogás agroindustrial.

La aplicación de la digestión anaerobia a la gestión de los residuos agroindustriales y ganaderos tiene ciertas ventajas como: una mayor facilidad en la gestión del residuo, la producción de energía renovable, que a su vez puede suponer una fuente de ingresos para el ganadero. Además, analizando el problema desde una perspectiva ambiental, las plantas de biogás pueden contribuir a la sostenibilidad global de entornos agroindustriales, a través de la reducción de las emisiones de CO₂ y otros gases de efecto invernadero a la atmósfera.

Sin embargo, las reacciones de biodegradación de residuos orgánicos, además de generar biogás como energía renovable, producen un material residual digerido en cantidad similar a la utilizada a la entrada al digestor, y que ha de ser gestionado de forma adecuada para garantizar una óptima viabilidad y sostenibilidad medioambiental del proceso (Bernal y col., 2009; Holm-Nielsen y col., 2009).

El producto residual resultante de la co-digestión anaerobia de residuos orgánicos es generalmente un material semilíquido con un elevado contenido en agua, que en algunos casos es separado en una fracción sólida y otra líquida (Bermejo y Ellmer, 2010; Walsh y col., 2012). La forma más sencilla e inmediata de valorizar éstos residuos orgánicos es mediante su aplicación al suelo agrícola como fertilizante (Bernal y col., 2011). Esta revalorización agronómica de los digeridos, sin embargo, exige evaluar su contenido nutricional para el sistema suelo-planta y la cantidad y tipo de materia orgánica que aportan, ya que el uso inadecuado o la aplicación a dosis excesivas pueden suponer un riesgo de contaminación del ecosistema (contaminación por nitratos, por metales pesados o por patógenos), incidiendo gravemente en el suelo, el agua y las plantas (Burton y Turner, 2003).

No obstante, los materiales digeridos presentan ciertas ventajas con respecto a los residuos sin tratar, para su uso como fertilizantes o enmiendas en la agricultura, tales como: mayor estabilidad microbológica (Chadwick y col., 2007); mayor cantidad de N en forma de amonio (de la Fuente y col., 2013), menor carga de patógenos (Sahlstrom, 2003), reducción de olores (Smet y col., 1998), o del contenido en elementos fitotóxicos (Engeli y col., 1993). Esto, unido al efecto que puede tener el aprovechamiento agronómico de los digestatos en la reducción del uso de fertilizantes minerales y la conservación de las fuentes de recursos naturales (Albuquerque y col., 2012), hace de esta forma de valorización una opción viable.

Por tanto, desde el punto de vista de la sostenibilidad, la digestión anaerobia se perfila como una posible tecnología de valorización de residuos, ya que es capaz de transformar casi cualquier fuente de biomasa (De Meester y col., 2012) , Además, desde una perspectiva técnico-económica, diversos estudios encuentran que los residuos ganaderos tienen gran potencial de producción de biogás, el cual mejora, a través de la co-digestión de dichos residuos con otros residuos o subproductos agrícolas que complementan sus propiedades (principalmente por el aporte de materia orgánica) (Lehtomaki, 2006; Álvarez y col., 2010), tales como los cultivos energéticos (Pepei y col., 2012; Cirne y col., 2006)

El empleo de estos cultivos energéticos para la producción de biogás contribuye a aumentar la autosuficiencia energética, dando además estabilidad económica a los

agricultores productores y reduciendo considerablemente los residuos agroindustriales. Otra de las importantes ventajas que supone el empleo y desarrollo de cultivos energéticos como co-sustratos para la digestión anaerobia y producción de biogás (metano y dióxido de carbono) es la creación de nuevas agroindustrias y biorrefinerías, lo que resulta de gran interés para el desarrollo económico y social de zonas rurales.

El proceso productivo de energía renovable a partir de cultivos energéticos requiere gestionar adecuadamente el material digerido producido. La utilización o reciclado en el suelo del digerido como fertilizante para la producción de dichos cultivos energéticos, permitirá la reducción del uso de fertilizantes inorgánicos y disponer del sustrato vegetal para la generación de biogás, cerrando así el sistema con generación de residuos “cero”, convirtiendo el proceso de digestión anaerobia en un sistema sostenible.

Las principales características que deben presentar los cultivos energéticos son: elevada productividad de biomasa con bajos costes de producción, de tal forma que hagan viable económicamente su empleo para la producción de biocombustibles; resistencia a la sequía; vigor; precocidad de crecimiento; capacidad de rebrote; y adaptación a terrenos marginales. También hay que tener en cuenta que el balance energético del cultivo sea positivo, es decir, que la energía neta contenida en la biomasa producida sea superior a la gastada en el cultivo más la correspondiente a la consumida en la obtención de los productos y equipos utilizados.

La co-digestión anaerobia podría ser por tanto un buen método para ayudar a alcanzar sostenibilidad ambiental del sector primario. A través del uso de los materiales digeridos como abonos orgánicos en la agricultura, se maximiza el retorno de nutrientes de los residuos hacia el sistema suelo-planta, reduciendo con ello el uso de fertilizantes inorgánicos y mejorando la dependencia del sector de energías de tipo no renovable como las provenientes de los combustibles fósiles.

2.2 Situación actual de la producción de tabaco y chumbera

2.2.1 Tabaco

La producción de tabaco en España, tiene una gran relevancia regional. En las zonas en las que se cultiva genera un alto número de puestos de trabajo asociados o indirectos y garantiza la viabilidad de las explotaciones agrarias, por lo que su cultivo presenta una importante dimensión social y económica en dichas áreas. En los últimos años se

evidencia una notoria concentración de superficies y producciones de cultivo, especialmente en la Comunidad Autónoma de Extremadura que alcanza ya el 92,5% de la producción nacional; Andalucía aporta un 6% de la producción total concentrada en la provincia de Granada; Castilla y León, Castilla-La Mancha y Valencia concentran el resto de la producción. La producción total estimada en España es de 35.887 toneladas según datos del documento de Contratación de tabaco en crudo de la cosecha 2009 (Fuente: FEAGA-MAPA,2009)

En el caso de la comunidad de Extremadura, la provincia claramente predominante es Cáceres, en la que se señalan tres comarcas como los focos de concentración de cultivos de tabaco: “Campo arañuelo”, en el valle del Tíetar, con Navalmoral de la Mata como población de referencia; la comarca de “La Vera “, con Plasencia y Jaraíz como centros de población más extensos; y la comarca de “Alagón”, con Coria y Moraleja como principales centros urbanos. En Andalucía, la provincia tabaquera por excelencia es Granada, más concretamente la región de La Vega Granadina. Las regiones más importantes dedicadas al cultivo de tabaco en Castilla y León, son la zona sur de Ávila (Valle del Tietar), limitante con la provincia de Cáceres, y la comarca del Bierzo en la provincia de León, donde en algunas zonas se está reconvirtiendo las superficies de cultivo de tabaco hacia la producción de pimiento.

En términos de superficie, en España se cultivan aproximadamente 10.305 ha (FEAGA-MAPA 2009). Los datos de evolución histórica obtenidos del Anuario estadístico del 2010, se puede observar en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Evolución del cultivo de tabaco en España, superficie cultivada, producción y rendimiento.

Años	Superficie (miles de hectáreas)	Rendimiento (Kg/ha)	Producción (miles de toneladas)	Precio medio por agricultores (euros/100 kg)
1999	14,2	2850	40,4	237,03
2000	14,1	3040	42,9	49,71
2001	13,0	3130	40,7	44,76
2002	13,6	3050	41,5	45,38
2003	13,7	2920	40,2	83,46
2004	13,2	3090	40,6	53,21
2005	12,9	3110	40,3	53,16
2006	10,1	3220	32,6	51,79
2007	10,0	2930	29,2	55,34
2008	9,8	3180	31,1	64,29
2009	10,1	3440	34,8	95,16

Tabla 2.2 Principales variedades de tabaco en España (FEGA-MAPA 2009)

	Variedad	Producción (t)	Superficie cultivada (ha)
Grupo I :	Virginia	25304	8167
Grupo II:	Burley E.	3563	1224
Grupo III:	Burley F.	2675	799
	Havana	316	111
Grupo IV:	Kentucky	25	9

En lo respectivo a las diferentes variedades de tabaco crudo, según el “Manual de buenas prácticas para el cultivo de tabaco” del MARM (2007) son cuatro los grupos en que se pueden clasificar las principales variedades que se cultivan dentro del territorio español (Tabla2.2). En los últimos años como consecuencia de una mayor adaptación al mercado se ha producido una subida en la producción relativa de la variedad Virginia (grupo I), con un 79,21%, sobre el total nacional de variedades cultivadas, dentro de esta variedad, el subtipo comercial más utilizado en la última década ha sido K 326, que representa hasta el 90% de la superficie trasplantada del grupo I.

Tabla 2.3 Porcentaje de Superficie de cultivo por Comunidades. (FEGA-MAPA,2009), (ESYRCE,2012)

AÑO	2003	2006	2009	2012
Producción total (tm) (FEGA-MAPA)	38.353	33.313	35887	-
Superficie total de cultivo en España (ha) (FEGA-MAPA)	12.552	10.043	9.947	-
% Superficie de cultivo Extremadura (ESYRCE)	85.47 (11.890 ha)	83.98 (8.036 ha)	92.28 (8.224 ha)	92.71 (7664 ha)
% Superficie de cultivo Andalucía (ESYRCE)	12.44 (1.732 ha)	13.91 (1331 ha)	6.68 (587 ha)	6.14 (508 ha)
% Superficie de cultivo Castilla y León (ESYRCE)	1.95 (272 ha)	2.1 (201 ha)	1.04 (93 ha)	1.12 (93 ha)

Para analizar la evolución de la distribución de los cultivos en áreas tabaqueras se puede recurrir a la Encuesta de Rendimientos y superficies de cultivo (ESYRCE, 2012), en esta encuesta se registran un porcentaje de total de los cultivos, por lo que los datos pueden variar ligeramente con los publicados en FEGA, pero dan una idea aproximada de la evolución de este cultivo dentro del territorio español. En la Tabla 2.3 figuran los datos de

las hectáreas dedicadas al cultivo de tabaco en las principales Comunidades Autónomas y el porcentaje que este supone respecto del total de hectáreas cultivadas.

2.2.2 Chumbera

Por el nombre vernáculo de chumbera se suelen agrupar diversas especies del género *Opuntia*, pertenecientes a la familia de las cactáceas. Sin embargo la especie más importante desde el punto de vista de producción es *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, también conocida como tuna, nopal, penca, higuera de chumbo o higuera de pala y que es la especie a la que nos referiremos en este documento. Originaria de las zonas semiáridas de Méjico, también se extiende de manera natural por toda Centroamérica hasta Colombia y zonas áridas de Norteamérica. Recientemente ha sido introducida en el catálogo español de especies invasoras exóticas que regula el RD 1628/2011. La chumbera se introdujo en Europa a través de la península ibérica a mediados del siglo XVI, pudiendo encontrarse hoy en día en un buen número de países de la ribera del Mediterráneo. Asimismo la chumbera ha sido introducida en regiones de Asia, África y Oceanía, donde también puede encontrarse en estado silvestre o cultivada.

Méjico es el mayor productor mundial de chumberas (79,4% de la producción total) con una superficie estimada de más de 80.000 hectáreas (Flores-Valdez, 2003), si bien otros países como Italia (12,2%), Sudáfrica (3,7%) y Chile (2%) poseen en la actualidad importantes producciones. Asimismo, otras zonas dentro de la franja climática templada o cálida como Brasil, Estados Unidos (mayoritariamente en Texas), Marruecos, Túnez, España, Argelia, Egipto, Israel, Arabia Saudí también tienen una producción apreciable de esta especie, suponiendo en conjunto el 2,8% del total mundial.

En España la chumbera se encuentra ampliamente distribuida, con un área de distribución prácticamente estable, de 340 hectáreas en 2007 a 359 en 2009 (Anuario estadística, 2010; ESYRCE, 2009), aunque en el periodo 2009-2012 ha visto aumentada su área de producción hasta las 609 ha totales (ESYRCE, 2012). Su producción está localizada fundamentalmente en la franja mediterránea, especialmente en C. Valenciana, Región de Murcia y Andalucía (Almería, Granada y Málaga) También en las Islas Baleares e Islas Canarias y en menor medida en Extremadura (Fig. 2.1).

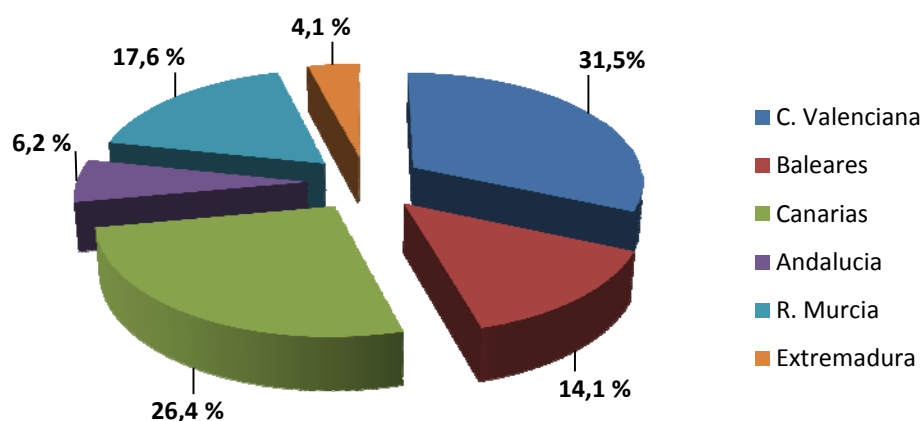


Figura 2.1. Distribución porcentual del número de hectáreas de producción de chumbera en España (ESYRCE,2012)

La superficie total en plantación regular destinada al cultivo de chumbera en España se mantiene mayoritariamente en régimen de secano, de modo que de las 359 hectáreas en plantación regular en 2009, 307 hectáreas estaban en régimen de secano y 52 hectáreas en regadío (Anuario estadístico, 2010). La producción en España en 2009 fue de 1390 toneladas, de las cuales 360 toneladas se destinaron al mercado nacional (53 toneladas a alimentación animal y 307 toneladas para alimentación humana) y el resto (1.030 toneladas) para su venta al extranjero, mayoritariamente para su consumo en fresco. No obstante estos datos pueden ser engañosos, ya que la proliferación de chumberas silvestres en los campos hace que una gran parte de su consumo provenga de la recolección de particulares, con números que no recogen los datos oficiales.

Tabla 2.4 Datos de Producción y destino del cultivo de Chumbera. (Anuario estadístico, 2010)

Superficie plantación (ha)			Destino de la producción (toneladas)		
Regadío	Secano	Total	Consumo propio		Ventas
			Alimentación animal	Alimentación humana	Consumo en fresco
52	307	359	53	307	1.030

2.3 Características y condiciones agroclimáticas del cultivo de Tabaco

El tabaco, perteneciente a la especie botánica *Nicotiana tabacum*, se trata de una planta de tallo herbáceo originaria de regiones subtropicales, con climas cálidos y húmedos. El clima influye sobre la duración del ciclo vegetativo de las plantas, así como

en la calidad y el rendimiento de la cosecha. Por tanto, son necesarias unas condiciones agroclimáticas singulares para garantizar una producción de tabaco óptima en cantidad y calidad. Para las principales especies producidas en España (Virginia y Burley) la fecha óptima para el trasplante es abril-mayo.

Los factores del clima que más van a influir en el rendimiento y calidad de las cosechas son: la temperatura del aire y del suelo, la disponibilidad de agua en el suelo, la humedad relativa del aire y la intensidad de la luz. El tabaco en su fase de crecimiento requiere temperaturas superiores a los 16 °C, con temperaturas óptimas para el desarrollo del cultivo de entre 18°C y 28°C. Con una temperatura de 28°C, se requieren entre 80 y 90 días para que las plantas de tabaco alcancen la madurez. El rango de temperaturas aptas para un adecuado desarrollo del cultivo comprende desde los 14°C y los 32°C, siendo perjudiciales las temperaturas bajas, especialmente en los primeros días tras el trasplante. Igualmente importante es la existencia de un periodo libre de heladas, precisándose desde el trasplante hasta la recolección de las hojas un periodo libre de heladas de entre 90 y 110 días. El sistema instaurado de plantas en semilleros, permite la obtención de plantas en climas con temperaturas más frías y periodos climáticos más desfavorables. En lo relativo a las condiciones de humedad, en los días inmediatamente posteriores al trasplante hay que poner especial atención para que las plantas gocen de una humedad idónea para su desarrollo. En términos generales, el cultivo de tabaco se acomoda con cierta facilidad a las variaciones en los niveles de humedad, incluso llegando a soportar periodos de déficit acusado de humedad.

2.3.1 Características edáficas

Existe variedad en las características del suelo dedicado al cultivo de tabaco en España. Por lo general los suelos son de textura arenosa o franco-arenosa, pero también se puede observar terrenos con poco suelo útil, zonas de vegas con suelos profundos y buen drenaje, y suelos con problemas de drenaje y de apelmazamiento. En general, las plantas de tabaco prefieren suelos francos, más bien sueltos, fértiles y no propensos al encharcamiento. La mejor exposición del suelo es la sur. Las plantas de tabaco se adaptan mejor a terrenos arenosos, debido al mejor desarrollo radicular, que a terrenos más pesados. El mejor desarrollo de las raíces permite una mayor y mejor síntesis y almacenamiento de alcaloides en las hojas de la planta.

Los valores óptimos de pH para los suelos destinados al cultivo de tabaco oscilan entre 5,8 y 6,2, mientras que el contenido en materia orgánica deseable deberá estar

comprendido entre el 1,5 y 2,2% para el adecuado aprovechamiento del agua y elementos minerales.

2.3.2 Ciclo vegetativo, siembra y plantación

El tabaco es una planta de tallo herbáceo, que presenta un gran desarrollo vegetativo y de ciclo anual (ciclo corto).

La técnica de implantación y crecimiento de plantas de tabaco en semillero o bandejas flotantes se implantó como sustitución del sistema tradicional de producción en suelo. Las semillas se siembran en los semilleros sobre principios o mediados de febrero, siempre con al menos dos meses de antelación al momento del trasplante que se lleva a cabo entre los meses de abril y mayo (González y col., 2005). El tabaco crece y se desarrolla hasta la recolección del cultivo, entre los meses de septiembre y octubre (MARM, 2007).

Previo paso a la siembra, se debe realizar una desinfección de la semilla, mediante la aplicación de calor o la aplicación de compuestos químicos (Blanco, 2000). El aporte de semilla será de un gramo por cada 3-4 m² de terreno.

El semillero debe presentar una anchura máxima de 1,20 m, calculando la superficie necesaria para el cultivo en cuestión, teniendo en cuenta que en una superficie de 1 m² se pueden obtener entre 250 y 500 plantas (Llanos, 1981). Se deben asentar las plantas en una base de grava o algún material grueso como carbonilla, para que el suelo del semillero presente un buen drenaje. En el caso de que las condiciones climatológicas no acompañen, se procede al recubrimiento de los semilleros con plástico de polietileno o gasa. Es preciso airear el semillero durante las horas del día climatológicamente más favorables, para impedir la proliferación de plagas y enfermedades (Guzman, 2000).

Las fechas óptimas para el trasplante de las plantas de tabaco para las dos principales producidas en España (Virginia y Burley), son la última semana de abril - primera quincena de mayo para el tabaco Virginia, y todo el mes de mayo, para el tabaco Burley (González y col., 2005). Las plantas de tabaco a trasplantar han de presentar una serie de características idóneas, como la presencia de un óptimo desarrollo radicular. La planta debe tener de 4 a 6 hojas formadas, altura entre 8 y 12 cm, y un grosor entre 0,8 y 1 cm. Cuando alcanzan los 5 cm de altura se deben podar, eliminando los restos de la poda.

La densidad de plantas de tabaco trasplantadas será de aproximadamente 18.000 plantas/ ha, siendo importante dejar tapado el cuello de la planta, para evitar daños por

sol y viento. Para la consecución de un buen trasplante, el suelo debe disponer de la humedad suficiente (Guardo, 2008), próxima a la capacidad de campo, para lo cual se regará si es necesario.

2.3.3 Labores y operaciones de cultivo

Es necesario labrar adecuadamente el suelo para que presente una estructura uniforme y suelta, debido a que el tabaco es una planta de raíces blandas con escaso poder penetrante (González y col., 2005). Es necesario variar cada año la profundidad de aplicación de las labores, y cada 3 o 4 años desfondar a una labor más profunda que las anuales (Llanos, 1981).

En otoño-invierno se lleva a cabo una labor, mediante el empleo de desbrozadoras o gradas, para conseguir el ablande y aireación de la tierra y la destrucción de tallos y raíces restantes del cultivo anterior, y se siembra un cultivo de cobertura (de cereal si es posible). En el mes de febrero, mediante una labor poco profunda y el empleo de la grada, se procede al aporte de abonos y enmiendas, previa destrucción de malas hierbas (esta labor se realiza en el mes de marzo, en el caso de que se haya implantado un cultivo de cobertura).

En la época de primavera, se procede a dar un pase de subsolador, con una profundidad de entre 40-45 cm, y con el terreno lo más seco posible, con la finalidad de mejorar el drenaje y la aireación del terreno. Posteriormente se efectúan dos pases cruzados a menor profundidad (entre 25 y 30 cm). Esta última labor debe realizarse en torno a 15 o 20 días antes del trasplante.

Una vez establecida la plantación, las labores culturales a llevar a cabo pueden ser de tres tipos: binas, escardas y aporcados (Llanos, 1981). Por medio de las binas y las escardas, se lleva a cabo una limpieza superficial del terreno preventiva del crecimiento de las malas hierbas, a la vez que se procura dejar el terreno suficientemente mullido para un adecuado establecimiento de las plantas y posterior crecimiento. Mediante las labores de aporcado, lo que se realiza es un recalce de las plantas con tierra, a la altura de las partes bajas de los tallos, con el objeto de fomentar el crecimiento de raíces secundarias o superficiales, que favorezcan una mejor asimilación del agua por parte del tabaco.

En la segunda mitad del ciclo vegetativo de las plantas de tabaco se realiza el despunte y control de brotes (desbrote). Estas prácticas se desempeñan con el objeto de obtener un tabaco de la máxima calidad, debido a que el despunte influye de forma importante en la composición química y física del tabaco curado (González, 2001). El despunte se lleva a cabo en la fase de botón floral, lo que permitirá alcanzar la altura de despunte a principios de julio y un número de hojas cosechables de entre 20 y 22, además de un mejor control de los brotes (MARM, 2007). Las labores de control de brotes se deben realizar cuando la temperatura no sea demasiado alta, preferiblemente por la mañana, sin humedad y sin viento, y se distribuirán en el tiempo que dure el cultivo, en dos o tres tratamientos, en función de la uniformidad del cultivo.

2.3.4 Control de plagas

Los principales agentes biológicos causantes de plagas y enfermedades, sobre el cultivo de tabaco son los siguientes: pulgones, orugas, nematodos, algunos mohos y hongos, bacterias y virus (Guzman, 2000). En el caso de los pulgones, las plantas de tabaco son sensibles a las plagas generadas por el áfido del tabaco, de nombre científico *Myzus nicotianae*. Son dos las especies de orugas que causan mayores daños a los cultivos: por un lado *Agrotis* sp, conocida por su nombre común como “rosquilla”, y por otro, “las orugas de los brotes”, o *Heliothis armígera*. El alto índice de nematodos en la mayor parte de los cultivos destinados al tabaco en España, se constituye como el principal problema del cultivo. Principalmente dos especies de nematodos parasitan al tabaco, instalándose en sus raíces: *Meloidogyne (incognita, arenaria y javanica)* y *Globodera tabacum*. Principalmente tres especies de hongos-mohos atacan a las plantaciones de tabaco el “moho azul”, el oídio o cenizo (*Erysiphe cichoracearum*), y el *Fusarium oxysporum sp. Nicotianae*, o “mal del lado del tabaco”.

Como microorganismos a tener en cuenta, en lo respectivo a las posibles enfermedades sufridas por los cultivos de tabaco, cabe destacar una especie de bacteria, la bacteria del “tallo hueco” del tabaco, y tres virus, el virus “y” de la patata, el virus del mosaico del pepino, y el virus del mosaico del tabaco, de los cuales, es este último el que tiene mayor trascendencia.

Se pueden observar en las hojas de tabaco, en ciertas ocasiones, manchas de pequeño tamaño y coloración verde oscura, que tornan a marrón primero y a tonos blanquecinos

posteriormente. Estas manchas son causa de la absorción de ozono por parte de las hojas, en áreas donde su concentración es elevada, sin mediación de agentes biológicos.

2.3.5 Fertilización

Todos los elementos minerales son necesarios en el equilibrio nutricional de la planta pero, en el cultivo del tabaco, el nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio tienen un papel importante, siendo definitorios en la calidad final del tabaco.

Hay que tener en cuenta que los nutrientes se consumen a un elevado ritmo y un periodo de tiempo relativamente corto. Respecto al nitrógeno, es importante definir la máxima cantidad a aplicar y, respecto al fósforo y el potasio, los aportes de ambos nutrientes deben ajustarse a las extracciones estimadas por el cultivo.

Fertilizar bien el tabaco significa poner a disposición de la planta las unidades necesarias durante toda su vida, sin dejar que la planta de tabaco pase o muestre necesidad de uno u otro nutriente. Para ello es conveniente programar la fertilización, con el fin de compensar el nivel de fertilidad del suelo y las aportaciones (cobertura, enmiendas y fertilización) con las extracciones de cosecha y las pérdidas. Por supuesto, es necesario conocer cómo (dosis, fórmula) y cuándo (en qué momento) hemos de aportar los nutrientes.

La aplicación de fertilizantes se realizará en diferentes fases. La primera de ellas, tendrá lugar lo más cercanamente posible a la etapa de trasplante, ya sea en un momento anterior a este, o con la primera labor. La profundidad de aplicación de los fertilizantes será de 8 a 10 cm, y la aplicación se realizará a ambos lados de las plantas, a una distancia de 7 a 9 cm. En esta fase se aplicará el total de los fertilizantes fosforados, la mitad de los potásicos y no más del 30% de los nitrogenados respecto al total aplicado en la campaña (MARM, 2007).

De la misma forma, se deberán aplicar sulfatos, dolomitas y demás oligoelementos necesarios, en función de las cantidades demandadas. En suelos ácidos conviene suministrar entre 50-100 kg de CaO y MgO por hectárea. Es importante aportar estos dos elementos, de forma que mantengan un adecuado equilibrio, para obtener una combustión adecuada de las hojas de tabaco. El resto de nutrientes, se irán aportando con las demás labores de cultivo, en la zona de goteo de las hojas de las plantas, hasta llegar al aporcado definitivo.

2.3.6 Recolección y Conservación

Se considera como el estado de madurez fisiológica de las plantas de tabaco el de peso seco máximo acumulado. Una vez sobrepasado este momento, las plantas entran en una fase de senescencia hasta su muerte, pudiendo desarrollarse parte de este periodo en los secaderos de tabaco.

La recolección debe hacerse por pisos foliares, realizando 4 o 5 recolecciones o repeles (Guzmán, 2000). Es importante tener en cuenta que las primeras hojas están maduras en los 7-10 días posteriores al primer despunte, en el caso de que interese recolectarlas. En los pisos bajos el número de hojas a recolectar por pasada ha de ser de 2 o 3, pudiéndose incrementar el número de hojas a partir de la tercera pasada, hasta 4 hojas, y llegando a 6 u 8 en el último repele (MARM, 2007).

Para conocer el estado de maduración de las hojas, el agricultor tabaquero puede estudiar algunos aspectos de las mismas: cambio de coloración desde un verde oscuro hasta un verde claro (debido a una disminución en el contenido de la clorofila); facilidad en la separación de las hojas del tallo, blanqueado de la vena principal de la hoja, coloración amarillenta en la zona internervial, viscosidad causada por la liberación de sustancias resinosas; mayor turgencia de las hojas al tener lugar una concentración de almidón; etc. (MARM,2007).

Mientras que el tabaco Virginia necesita ser recolectado plenamente maduro (CETARSA, 2004), los tabacos tipo Burley requieren, al ser cosechados, un estado de madurez intermedio. Mientras que el tabaco Virginia se debe cosechar por hojas, en la recolección del Burley se puede optar por la cosecha por hojas o por la cosecha por plantas enteras (Llanos, 1981).

Después de la recolección del tabaco se procede al secado o curado de las hojas, proceso clave de la cadena aprovechamiento del cultivo a nivel industrial. La esencia del proceso es hacer pasar una corriente de aire a través de una capa de tabaco que presente un grosor mínimo, controlando las condiciones de temperatura, presión y humedad relativa de dicha corriente. El proceso de curado pasa por tres etapas fundamentales: fase de amarilleado, fase de secado de la mayor parte de las hojas, y fase de la vena central de las mismas. Durante el amarilleado, la hoja de tabaco permanece viva, y hay que mantener una humedad elevada y aireación escasa, para evitar un secado rápido, produciéndose una gran pérdida de azúcares y de agua. En la

segunda fase se aumenta la temperatura del secadero hasta los 38°C, se reduce la humedad y se mantiene constante el flujo de aire. Durante esta fase siguen teniendo lugar algunas transformaciones químicas y la hoja adquirirá su color definitivo. En la fase de secado de la vena central de las hojas, debido a su naturaleza leñosa, es necesario aumentar la temperatura y disminuir la humedad ambiente. El agua, en el caso de no ser eliminada, podría provocar la putrefacción de las hojas de tabaco en la posterior fase de fermentación. La primera transformación que experimentan las hojas de tabaco en los secaderos es la pérdida del agua, que llega en ocasiones hasta el 67 % del peso total de las mismas.(Lázaro, 2000).

A lo largo de la historia del cultivo de tabaco, y según las áreas de cultivo, se han desarrollado diferentes tipos de secaderos, de forma que ha variado el tipo de material empleado para su construcción: secaderos de paja (quedan pocos ya), secaderos de palos (secadero clásico: tradicionales, pero todavía quedan bastantes en pie), secaderos de ladrillos, secaderos de hormigón armado y secaderos de estructura metálica.

2.3.7 Rendimientos

Son varios los aspectos que según el “Manual de buenas prácticas agrícolas para el cultivo del tabaco” (MARM, 2007) pueden mejorar el rendimiento de un cultivo de tabaco, algunos no son del todo controlables por el agricultor, como el clima, pero otros si están relacionados con el manejo y gestión del propio cultivo y es en estos en los que hay que poner especial atención:

- El clima, la temperatura del aire y del suelo, la disponibilidad de agua en el suelo, la humedad relativa del aire y la intensidad de la luz
- Un buen riego proporcionara mejores rendimientos y disminuirá costes
- El correcto control de patógenos puede mejorar el rendimiento
- Tener unas instalaciones y secaderos adecuados y un buen mantenimiento se traduce en un ahorro de costes, y lo que es más importante, permite conseguir mayor rendimiento y mayor calidad del producto

Si atendemos a la serie histórica de datos sobre el rendimiento del cultivo de tabaco del Anuario de estadística (2010) se puede observar que la producción total para el territorio español ha disminuido en este periodo (1999-2009), en parte debido a la retirada de las

subvenciones, sin embargo, la mejora en las prácticas de cultivo ha dado lugar a que el rendimiento, o la producción por hectáreas haya aumentado desde las 2.8 t/ha en 1999 a las 3.4t/ha registrada en 2009.

Tabla 2.5 Rendimiento en España de los cultivos de Chumbera

Años	Superficie (miles de hectáreas)	Rendimiento (Kg/ha)	Producción (miles de toneladas)	Precio medio por agricultores (euros/100 kg)
1999	14,2	2850	40,4	237,03
2000	14,1	3040	42,9	49,71
2001	13,0	3130	40,7	44,76
2002	13,6	3050	41,5	45,38
2003	13,7	2920	40,2	83,46
2004	13,2	3090	40,6	53,21
2005	12,9	3110	40,3	53,16
2006	10,1	3220	32,6	51,79
2007	10,0	2930	29,2	55,34
2008	9,8	3180	31,1	64,29
2009	10,1	3440	34,8	95,16

2.4 Características y condiciones agroclimáticas del cultivo de la chumbera

La chumbera posee una serie de adaptaciones fisiológicas, tales como su reproducción asincrónica, presencia de cutícula serosa en tallos, almacén de agua en el parénquima esponjoso de los tallos, sistema radicular adaptado al uso eficiente del agua y metabolismo del ácido crasuláceo, que le permiten crecer con una elevada eficiencia bajo condiciones limitadas de agua. Se considera que el límite de humedad ambiental para esta especie está en torno al 40%, pues se ha apreciado que su presencia se reduce en zonas donde la humedad relativa se mantiene por debajo de este valor durante largos periodos. Aunque las necesidades de agua sean mínimas (aproximadamente 200 mm/año), se requieren precipitaciones anuales de 400-600 mm para un desarrollo óptimo.

Esta especie soporta fuertes vientos y heladas (hasta -12°C) en condiciones de baja humedad atmosférica siempre y cuando no sean prolongadas. Sin embargo, para el

cultivo de la chumbera es necesario que no se produzcan períodos de tiempo largos con temperaturas inferiores a los 3° C, pues si la temperatura llega a bajar de los -4° C se pueden producir daños importantes en la plantación.

Como especie heliófila, este cultivo necesita climas donde haya buena y abundante insolación, soportando temperaturas por encima de 50°C sin problemas. No obstante hay que tener en cuenta que temperaturas nocturnas por encima de 30°C o por debajo de 0°C disminuyen la eficacia de absorción del CO₂ y por ello el desarrollo de la chumbera (Nobel, 1994) .

Debido a su rusticidad y baja demanda tecnológica comparada con otros productos la chumbera es un cultivo perenne que requiere un cuidado mínimo. El cultivo de la chumbera puede ser promovido en zonas semiáridas o áridas con un pequeño aporte de agua de riego. Se sugiere la plantación solo en tierras semiáridas, usando tierras secundarias donde existe un bajo potencial para otras especies. Los sitios iniciales de expansión deben ser cuidadosamente localizados, con acceso todo el año y proximidad a los mercados para reducir costes de transporte. Las chumberas pueden también complementar el cultivo de cereales de secano usando los bordes de las parcelas agrícolas, proporcionando protección del ganado y un ingreso adicional para el agricultor.

2.4.1 Características edáficas

La chumbera habita en taludes, laderas soleadas, cultivos abandonados, bordes de caminos y zonas degradadas. Se adapta a casi todo tipo de suelos si bien no tolera los suelos hidromorfos, requiriendo sustratos porosos y bien drenados. Los mejores suelos para las plantaciones son los de origen ígneo o calcáreo con textura arenosa (no debe exceder del 15-20% de arcilla), profundidad media (40-70 cm) y con un pH neutro o ligeramente alcalino. Pimienta (1990) documentó que en México la mayor superficie destinada al cultivo de chumbera coincide con suelos tipo vertisol, luvisol y feozem.

La chumbera puede desarrollarse en suelos pobres en materia orgánica, si bien la adición de enmiendas orgánicas puede aumentar significativamente la producción. A diferencia de otras plantas xerófitas, la chumbera no es especialmente tolerante a la presencia de sales disueltas en la zona radicular, considerando normalmente que el límite para su desarrollo normal se encuentra en una conductividad de 5 dS m⁻¹ en el extracto de saturación del suelo. En otras palabras, a la chumbera le afecta seriamente la salinidad, no desarrollándose adecuadamente en suelos salinos, apreciando incluso que el

crecimiento prácticamente se detiene cuando a niveles de sales tolerados por la mayoría de cultivos tolerantes o incluso por debajo de esos valores.

2.4.2 Ciclo Vegetativo, Siembra y plantación

La chumbera se reproduce tanto por semillas como asexualmente gracias a la capacidad de las palas de enraizar y formar un nuevo individuo. La polinización es entomófila (llevada a cabo por insectos), fundamentalmente por abejas. Las semillas pueden permanecer en estado de letargo conservando su capacidad germinativa durante mucho tiempo. Las plántulas se desarrollan rápidamente en verano con tasas de viabilidad altas. Los animales contribuyen a la dispersión de las semillas por endozoocoria. Si no se podan, las palas continúan creciendo hasta el otoño, diferenciando flores al inicio de la primavera siguiente. El desarrollo de yemas florales se observa principalmente en palas maduras de al menos seis meses de edad (Pimienta, 1990).

Generalmente la propagación se realiza por reproducción asexual, mediante esquejes o por medio de la micropropagación. Las plantas obtenidas por micropropagación (*in vitro*) generalmente vienen enraizadas y requieren un suelo mejor preparado para su establecimiento (Sudzuki y col., 1993). Los esquejes se obtienen separando un segmento de la planta madre, el cual cicatriza y se suberiza por la zona de corte sellando los sitios de pérdida de humedad adicional, estimándose en hasta seis meses el tiempo durante el que puede mantener la viabilidad si se almacena en un sitio sombreado y seco. El establecimiento puede mejorarse y reducirse el período antes de la primera cosecha plantando ramas con más de una pala en lugar de pencas individuales. También se pueden usar fracciones de palas cuando el material de plantación es escaso, pero cuanto más pequeñas sean las fracciones para propagar, el tiempo para que los brotes alcancen tamaño normal será más largo. La porción más pequeña para propagación debe tener al menos una areola (yema axilar de tejido meristemático) en cada cara de la pala. El material para plantación debe provenir de plantas robustas, productivas y sanas, recolectando palas de tamaño medio a grande, libres de manchas oscuras o decoloraciones.

Las palas inician el proceso de enraizamiento rápidamente tras ser plantados, siendo importante para el enraizamiento que exista una humedad mínima en el suelo, si bien este hecho no es limitante debido a que las raicillas utilizan el agua almacenada en la

pala. También es importante evitar un exceso de humedad tras el trasplante pues puede limitar el desarrollo radicular.

Las plantaciones comerciales utilizan dos sistemas de producción: el sistema tradicional y el sistema de microtúneles o sistema intensivo. El sistema tradicional utiliza densidades de plantación de 15000-40000 plantas/ha, plantando las pencas maduras (2-3 años de edad) en hileras a una distancia de 30-40 cm entre plantas y 80-100 cm entre hileras. La altura de las plantas es de 1 a 1,5 metros. El sistema intensivo utiliza mayor densidad de plantación 120000-160000 plantas/ha, utilizando camas de 1,2 a 2 m de ancho y de 40 a 47 m de largo, con una separación de 1-1,5. Las pencas se plantan a 20 cm entre ellas y a 20-30 cm entre hileras. Este sistema permite altos rendimientos, especialmente durante los meses de invierno debido a la posibilidad de cubrir las camas.

La forma y la distancia de plantación, dependen del hábito de crecimiento de la variedad y de la posibilidad de efectuar riego. Lo más común en la actualidad es la plantación en hileras sobre caballones dando posibilidad a la entrada de luz a la planta, facilitando la cosecha, la limpieza de malezas y la práctica conocida como «*scozzolatura*», consistente en el raleo de flores y pencas (Sudzuki y col., 1993; Inglese, 1999).

2.4.3 Labores y operaciones de cultivo

Según va creciendo la planta debe de ir formándose, para lo cual es necesaria la poda de formación, que consiste en ir recortando los segmentos que broten lateralmente, con objeto de darle forma más arbustiva y con ello facilitar las labores y la recolección. La poda de fructificación debe realizarse a la vez que se lleva a efecto la operación denominada «tirado de los frutos», que se describirá más adelante. Esta poda de fructificación consiste exclusivamente en eliminar los segmentos que alteren la forma arbustiva que se quiere dar a las plantas y suprimir algunas inflorescencias en el caso de un número excesivo de ellas. En áreas libres de heladas la poda puede ser efectuada en cualquier época, y además las plantas pueden ser inducidas a brotar continuamente si se provee de alguna protección, además de fertilización y riego. Las fincas dedicadas a la producción de fruta son podadas después de cosechar, al final de la estación de crecimiento, pues la emergencia de yemas es mayor.

Los sistemas de producción que mantienen las plantas a corta altura y a bajas densidades son más productivos (sobre la base de rendimiento por planta) que las

plantaciones a alta densidad con plantas bajas. Además, Las altas densidades de plantación toleran una poda más severa.

Tras el invierno se debe dar un pase de cultivador, incorporando en este momento pequeñas cantidades de abono (por ha): de 60 a 65 unidades fertilizantes de N, 50 de P_2O_5 y 25 de K_2O .

La operación de cultivo más importante es la del «tirado» de los frutos de la floración de primera, que consiste en quitar los higos chumbos procedentes de esta primera floración cuando la mayor parte de ellos (90% aproximadamente) tengan secos sus pétalos, lo que normalmente sucede en la segunda o tercera semana de junio. Si se «tira» demasiado pronto la primera floración los frutos de la segunda son más abundantes, pero al adelantarse su maduración no aguantan hasta Navidad, que es la fecha de máxima demanda y cotización en España. Por el contrario cuando se «tiran» demasiado tarde, la producción es más reducida, aunque su calidad se ve mejorada. Ante estas circunstancias, y si las posibilidades de mano de obra lo permiten, se recomienda «tirarlos» escalonadamente.

2.4.4 Control de plagas

Para controlar los patógenos que puedan disminuir los rendimientos, se siguen los principios del control integrado, anteponiendo los métodos físicos, culturales, biológicos y genéticos a los químicos, eligiendo, así, los métodos menos nocivos para el entorno. El control integrado se basa en la identificación de la causa de los daños y en su control cuando se alcance el umbral económico de los daños que justifique la intervención. Se utilizan productos biológicos, o en su defecto, productos fitosanitarios autorizados que respeten los insectos beneficiosos.

Las enfermedades del cultivo se pueden clasificar en infectivas o bióticas y no infectivas o abióticas. Las primeras son causadas por patógenos como bacterias, hongos, fitoplasmas y virus. Los insectos y patógenos que crecen dentro de las palas son los más destructivos y difíciles de controlar. Sin embargo, la poda selectiva puede ayudar a mantener la plantación sana. Las plagas que viven en la superficie de las palas, tales como los trips y las chinches, pueden ser controladas con insecticidas de contacto. En Méjico las enfermedades más importantes de este cultivo son las denominadas «engrosamiento del cladodio» y «proliferación de brotes», las cuales son causadas por un micoplasma y un espiroplasma, respectivamente. Otras plagas importantes son el gusano cebra (*Olycella*

nephelasa), la palomilla del nopal (*Cactoblastis cactorum*), el gusano blanco (*Lanifera cyclade*) e insectos que causan daño en las areólas como el *Cylindrocopturus biradiatus* y el amarillamiento del tejido por la cochinilla (*Dactylopius* sp.). Otra plaga ocasional de las chumberas es la mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*), que puede ser un factor limitante para la producción de fruta en las zonas de invierno suave, o podredumbres producidas por mohos (*Phyllosticta opuntiae*), hongos (*Phytophthora cactorum* y *P. omnívora*), caracoles (*Helix hortensis*, *H. aspera*, *H. nemoralis*) y ocasionalmente las babosas (*Agrestis agriolimax* y *Empiricorum arion*). Los caracoles y las babosas son fáciles de controlar mediante la fumigación de las palas con cal. Las enfermedades no infectivas corresponden generalmente a daños producidas por agentes atmosféricos o del suelo, a anomalías genéticas o causadas por el uso incorrecto de pesticidas.

2.4.5 Fertilización

En el sistema tradicional de producción, los cultivos se fertilizan con grandes cantidades de estiércol bovino (>100 ton/ha) cada dos o tres años y en algunos casos se utilizan fertilizantes minerales como sulfato de amonio.

En el sistema intensivo se puede utilizar fertilización inorgánica N-P-K, siendo una aplicación común 150 N, 100 P₂O₅ y 50 K₂O kg/ha/año, repartiéndose su adición mensualmente a lo largo del ciclo de cultivo en función de las necesidades de la especie. No obstante, se recomienda el uso de fertilización combinada orgánica-inorgánica, pues produce mayores rendimientos. Normalmente el fertilizante orgánico se añade primero como fertilización de fondo y el inorgánico mediante fertirrigación a lo largo del ciclo del cultivo. Así, una aplicación común podría ser: estiércol vacuno, nitrógeno y fósforo en cantidades de 100 a 200 kg/ha, 100 a 200 kg/ha y 80 kg/ha respectivamente (Flores-Valdez, 2003). Un aspecto a tener en cuenta es la baja eficiencia de aprovechamiento de los fertilizantes nitrogenados por parte de la chumbera (5-15%), llegando en el mejor de los casos al 30%.

En el cultivo de la chumbera como verdura, *Opuntia ficus-indica* cv. C-69 bajo condiciones de riego por goteo, se recomiendan dosis de 161-60,7-91,4 kg/ha de nitrógeno, fósforo y potasio, respectivamente (Orona-Castillo y col., 2004). También es importante la adición de calcio debido a que la chumbera lo consume en grandes cantidades, por lo que se puede añadir cal apagada o yeso en el caso de cultivos sobre suelos pobres en calcio.

2.4.6 Recolección y Conservación

Es necesario tener en cuenta que los frutos son «no climatéricos» (no maduran una vez cosechados), por lo que es importante cosecharlos en el punto de madurez óptima de consumo. En España la primera recolección de los frutos tiene lugar hacia el mes de agosto, en el caso de no haber «tirado» la floración de primavera. Hay que señalar que normalmente no tienen importancia económica y únicamente se recogen pequeñas cantidades de higos. La recolección propiamente dicha comienza con la maduración de los primeros frutos «de retallo», hacia el mes de octubre, y termina prácticamente en Navidad al cosecharse los últimos.

La recolección es una operación delicada debido a las espinas que el fruto presenta en su exterior. Se han ideado diversos elementos que facilitan la recolección, constituidos normalmente por una lanza larga acabada en una jaula adecuada, o bien por unas tenazas de mango muy largo con los que alcanzar los frutos. Al recolectar los frutos puede ser recomendable cortar junto con el higo chumbo un trozo de pala, pues con esto aumenta considerablemente el tiempo de conservación y los frutos pueden llegar a mantener su turgencia y sus características organolépticas más allá de tres o cuatro semanas. La fruta, una vez desespina debe embalarse a la mayor brevedad posible y llevarse a un lugar fresco o refrigerado para un almacenaje más prolongado, evitando la deshidratación y el inicio de un posible desarrollo de hongos. Los principales problemas de poscosecha lo constituyen las pudriciones y la deshidratación (Berger y col., 1978). Las técnicas usadas para reducir las pudriciones y pérdidas de peso incluyen la aplicación de fungicidas y ceras y envoltorios plásticos. Almacenar la fruta a baja temperatura es un método muy efectivo para reducir la pérdida de agua. Sin refrigeración, los frutos senescen rápidamente y comienzan a ser susceptibles a infecciones de microorganismos, especialmente *Penicillium* sp y *Alternaria* sp.

El uso de tallos tiernos de chumbera para consumo como verdura fresca requiere de un estricto seguimiento, pues este material es un tejido vivo y está sujeto a cambios continuos entre el momento de la cosecha y su consumo. Estos cambios afectan a su calidad y reducen su vida poscosecha, causando pérdidas considerables. Con relación al nopalito, la cosecha se realiza manualmente cortando la base de la penca. Se recomienda realizar esta operación de dos a tres horas después de la salida del sol con el fin de evitar un contenido alto de acidez, así como efectuarla de una forma cuidadosa para evitar daños al material, que pueden ser vías de entrada de microorganismos e incrementar la pérdida de peso durante el manejo posterior.

2.4.7 Rendimientos

El rendimiento de las producciones de chumbera son variables en función de las prácticas agrícolas y de las características agroclimáticas, si bien un valor medio estimativo puede ser 5-6 tm/ha/año bajo condiciones de humedad limitante (Nobel, 1994). En condiciones óptimas de humedad, temperatura y nutrientes la productividad de materia seca es de unas 50 tm/ha/año. En el sistema tradicional los rendimientos oscilan entre 30 y 80 tm/ha (Pimienta, 1990) mientras que en el intensivo se consiguen mayores valores (263 tm/ha con variedad COPENA V1; Blanco-Macías y col., 2002). En casos muy excepcionales y con aplicación de fertilización orgánica e inorgánica, altas densidades de plantación y la poda son los responsables de la alta producción observadas en zonas como Milpa Alta (Méjico), la cual puede alcanzar 400 ton/ha/año (Nobel, 1994). En las producciones españolas de chumbera los rendimientos oscilan entre los 1,777 y 6,298 tm/ha/año en los cultivos de secano y regadío respectivamente. En los individuos diseminados la producción ha sido estimada en 3 kg/árbol/año. Los datos del Anuario de estadística 2010, para el total de la superficie de cultivo de chumbera en España, se muestran en la Tabla 2.6

Tabla 2.6 Rendimientos del cultivo de chumbera en España (Anuario estadístico, 2010)

Rendimiento			Producción (toneladas)		
De la superficie en producción (kg/ha)		De árboles diseminados (kg/árbol)	En plantación regular	Árboles diseminados	Producción total
Secano	Regadío				
1.777	6.298	3	747	643	1.390

2.5 Aplicaciones convencionales de ambos cultivos

2.5.1 Tabaco

El uso convencional del cultivo de tabaco está estrechamente ligado a su aplicación industrial: la producción de tabaco para fumar. Entre los productos que se elaboran a partir del cultivo del tabaco, el de mayor densidad de producción es el tabaco en cigarrillos, pero se fabrican otros como el tabaco para liar, el tabaco en puros y el tabaco para pipa.

Una vez ha tenido lugar el curado de las hojas recolectadas, éstas se clasifican en función de su posición en la planta, color y calidad. Después se almacenan a modo de fardos, para trasladar estos fardos a un centro de compra o de subasta de tabaco.

Posteriormente, el tabaco experimenta un tratamiento, que puede ser de dos clases: “fermentación” o “procesado”. En términos generales, puede afirmarse que las variedades de tabaco Burley F y Havana, se “fermentan”, mientras que las variedades Burley E y Virginia se “procesan”. En el caso de la “fermentación”, se distinguen a su vez, dos tipos de tratamientos del tabaco: el tratamiento de fermentación tradicional, y la fermentación especial. En el proceso de fermentación tradicional, primero se deshacen los fardos de tabaco para posteriormente disponer el tabaco en capas homogéneas, en unas estructuras de encofrado denominadas pilones. Cuando la temperatura del pilón supera los 60-65°C, durante un adecuado periodo de tiempo, se procede al cambio del pilón, cambiando a su vez la estructura de capas uniformes, para que toda la masa de tabaco fermente. Este paso, se puede llegar a repetir hasta 3 o 4 veces. Se trata de un proceso natural, en el que tienen lugar, además de cambios físicos, bioquímicos y organolépticos en las hojas, se aprecia una pérdida de humedad y materia seca. Puede llevarse a cabo un proceso de “fermentación” especial, más ligero o atenuado, con una regulación más estricta de las condiciones de humedad y temperatura, de forma que se obtiene un tabaco fermentado en menor tiempo y a menos temperatura. El tratamiento tiene lugar en el propio fardo de tabaco.

En el **tabaco** se han encontrado también diversos compuestos de interés industrial, tales como:

- Productos biofarmacéuticos, por ejemplo anticuerpos, hasta un 0,5% solanesol y nicotina
- Ácido p-hidroxibenzoico
- Enzimas, al menos 5%.
- Otras proteínas, hasta un 47% (peso seco).

2.5.2 Chumbera

De la chumbera se aprovechan distintas partes (flores, palas, palas jóvenes o nopalitos, frutos, tallos e incluso raíces) que pueden ser destinadas a múltiples fines, de los que a continuación se recogen los más relevantes.

- **Alimentación.** La chumbera ha contribuido tradicionalmente tanto a la alimentación animal como humana, en especial en tiempos de sequía. El fruto posee un valor nutritivo superior al de otras frutas en varios de sus componentes. Aporta unas 65 calorías por cada 100 g de fruta, 3 g de proteínas, 0,2 g de grasas, 15,5 g de carbohidratos, 30 g de calcio, 28 g de fósforo y vitaminas (niacina, tiamina, riboflavina y ácido ascórbico). Además de consumirse fresco puede consumirse en conserva (salmuera o escabeche) y también se utiliza para la fabricación de mermeladas, jaleas, néctar, alcoholes, vinos, vinagres y colorantes. Las paletas jóvenes son utilizadas como verdura en numerosos platos, especialmente en Méjico (Tabla 2.7).

Tabla 2.7 Principales productos alimenticios obtenidos de los frutos y palas de la chumbera (Sáenz, 2000; Corrales y Flores, 2003).

Productos	
Higos	Palas
Zumos y néctares	Jugos
Mermeladas, geles y jaleas	Encurtidos y salmueras
Fruta y lámina deshidratada	Mermeladas y jaleas
Edulcorantes	Harinas
Vinos, vinagres y licores...	Alcohol, salsas, verdura...

- **Medicinal.** A partir de las palas se preparan tisanas y cataplasmas que se utilizan eficazmente contra el catarro, tos, cistitis, abscesos o gastroenteritis. Además, las palas por su alto contenido en mucílago son demulcentes. A partir de los frutos se preparan jarabes antitusivos, mientras que las flores tienen acción astringente, vitamínica, diurética y antidiarreica. En las flores encontramos flavonoides y también algo de mucílago, mientras que en el jugo de los frutos abundan pectinas, taninos, vitamina C y azúcares. A partir de las palas se obtienen complementos alimenticios, tales como cápsulas y tabletas de polvos de nopal, polvos para licuados, otros productos formulados por mezcla con otras fibras vegetales, los cuales se consumen como medicamentos fundamentalmente en Méjico.
- **Forrajes.** La chumbera ha sido tradicionalmente utilizada como planta forrajera en zonas áridas y suelos donde difícilmente pueden asentarse otras especies. Así en el norte de África, Sudáfrica, Méjico, Brasil o ciertas zonas de Estados Unidos suponen una fuente importante de alimento para el ganado tanto rumiante como porcino, debido a su riqueza en agua, carbohidratos fácilmente digeribles, calcio y vitaminas. Sin embargo, la chumbera debe ser combinada con otros alimentos para completar la dieta diaria debido a su escasez en proteína. Esta especie

posee un especial interés debido a que la conversión del CO₂ en materia seca es más eficiente que la de pastizales y otras plantas forrajeras.

- **Productos Industriales.**

La **chumbera** también ofrece un amplio abanico de posibilidades en cuanto a productos industriales derivados:

- Carmín de cochinilla (una plaga de la chumbera): Se utiliza como colorante alimentario.
 - Aceite de las semillas: Este proceso de extracción tiene un bajo rendimiento y sólo tiene sentido asociado a una industria de elaboración de jugo de frutos de chumbera.
 - Mucílago, del cladodio y de las cáscaras de los frutos: Estos productos son hidrocoloides, y tienen utilidad como espesantes en la industria alimentaria, y también como estabilizantes de espumas y emulsiones.
 - Pigmentos: betalaínas de las cáscaras de variedades rojas o púrpuras, carotenoides de las chumberas anaranjadas.
 - Harina de chumbera, a partir del cladodio: Estas harinas son un ingrediente de las industrias de aditivos alimentarios y farmacéutica. El uso farmacéutico de la harina de chumbera está extendido en América Latina, principalmente en Méjico.
 - Productos cosméticos y complementos alimenticios: Existe una gran variedad de este tipo de productos elaborados a partir de chumbera o de jugo de chumbera.
- **Permacultura.** La chumbera es utilizada como planta pionera en zonas áridas, puesto que además de reducir directamente la erosión en estas áreas, crea ambientes sombreados más favorables para el asentamiento de otras plantas y es una muy buena planta como barrera contra incendios debido a su elevado contenido en agua (si bien no rebrota tras el fuego). Además, esta especie es utilizada habitualmente para crear cercas y muros que sirven de protección para ganado y fincas. Por otro lado, ciertos individuos pueden tener interés ornamental.

Un aspecto a tener en consideración es que debido a su elevada capacidad de adaptación y expansión pueden causar problemas en ciertas zonas, tal y como ha

ocurrido en Australia, donde la ausencia de enemigos naturales puede convertir a esta especie en un problema debido a su desarrollo incontrolado.

2.6 Utilización en digestión anaerobia por biometanización

2.6.1 Tabaco

El tabaco es una planta muy atractiva como fuente de biocombustible porque la creciente tendencia actual es emplear cultivos que no se utilicen en la producción de alimentos (Fernández, 2010), a fin de evitar la competencia del sector agrícola.

Se han realizado varios ensayos de biometanización de residuos de tabaco que provienen de la industria de fabricación de cigarrillos. Así, Meher y col. (1995) obtuvo producciones de 169 a 282 l kg ST⁻¹ de biogás en digestores a 30°C y tiempo de retención hidráulica (TRH) de 15 días, con riquezas del 60% en CH₄ y reducciones de DBO del 80%. Sun (2012) obtuvo rendimientos algo más bajos, de 100 l kg ST⁻¹, para la fermentación mesófila a 30°C de residuos de hoja de tabaco con un TRH de 30 días y aunque el rendimiento de la producción de gas se mostró inferior al de otros materiales; si encontró que a los 22 días de TRH se alcanzaba el máximo de producción de gas, característica que puede ser interesante teniendo en cuenta la eficiencia económica en una planta de producción de biogás.

El curado implica la pérdida de azúcares, por lo que un tabaco curado tendrá, previsiblemente, menor potencial de producción de biometano que uno recién recolectado. Igualmente, el tratamiento de fermentación, en el que se alcanzan temperaturas de hasta 65°C y se produce una pérdida de masa, es contraproducente para la posterior biometanización del material. Se desaconseja, por tanto, realizar las operaciones de procesado con fines de aprovechamiento para biometanización del tabaco siempre que no lo exijan las necesidades de conservación del material.

Dentro del Proyecto “Desarrollo de sistemas sostenibles de producción y uso de biogás agroindustrial en España” (PROBIOGAS). Se realizó un ensayo de biometanización con las dos variedades de planta de tabaco más abundantes en España: Virginia y Burley. Se observó una mayor producción en las hojas de tabaco Virginia que en la variedad Burley, siendo la productividad de biogás de Virginia un 25% superior a la productividad de

Burley si se expresa por unidad de sólido volátil. Sin embargo, al tener mayor humedad la variedad Burley, la productividad en peso fresco es un 10% superior en el caso de Burley respecto de Virginia.

Un aspecto a destacar es la rápida biodegradación de este material; la producción máxima se alcanza en 15 días, un tiempo muy inferior al requerido por los cultivos energéticos “tradicionales” (maíz, cebada, etc.).

Tabla 2.8 *Producción de biogás para las variedades de tabaco Burley y Virginia.*

	Virginia	Burley
Biogás, L/kg SV	725	580
Biogás, L/kg	53	58

2.6.2 Chumbera

Uno de los posibles usos de la chumbera es su empleo como cultivo energético, destinado de forma específica a la producción biomasa para su transformación en energía con el fin de aumentar la autosuficiencia energética y obtener un rendimiento económico. Estudios realizados con esta especie indican que las palas de la chumbera no constituyen por si solos un buen material metanogénico (Varnero y col., 1992; Varnero y García de Cortázar, 1998). Sin embargo, la incorporación de un porcentaje adecuado de palas en la digestión anaeróbica de estiércoles animales influye positivamente en el tiempo de inicio del proceso de digestión y favorece la fermentación metanogénica (Uribe y col., 1992; Varnero y col., 1992). Esto se atribuye a la fuente energética y carbonada que proporciona la chumbera, que favorece el desarrollo de bacterias acidogénicas que generan el sustrato que requieren las bacterias metanógenas, lo que acelera el proceso de producción de biogás de forma considerable.

La eficiencia de fermentación de estas mezclas con diferentes proporciones de palas y estiércol demostró que el punto crucial para la obtención de biogás con un contenido de metano superior al 60%, es mantener el pH de las mezclas en valores iguales o mayores a 6. La composición del biogás que se produce en la fermentación metanogénica está estrechamente relacionada con el pH de las materias primas que se digieren. Por lo tanto, con valores de pH <5,5 el biogás se concentra en CO₂, disminuyendo su calidad combustible; en cambio, con pH neutro a básico, se enriquece en metano. Este valor es

más fácil de obtener a medida que aumenta la proporción de estiércol animal en la mezcla y que la edad de la palas utilizadas sea mayor de un año. El tamaño del troceado del material no tiene mayor influencia en la eficiencia del proceso de fermentación (Varnero y López, 1996; Varnero y García de Cortázar, 1998).

Las experiencias con chumbera dentro del proyecto PROBIOGAS mostraron que la producción de biogás a partir del fruto es superior a la del cladodio, debido a su mayor contenido en sólidos volátiles. Por causa de su elevada humedad, la productividad de biogás en peso fresco es mucho menor que los cultivos energéticos tradicionales, aunque su rápida degradación (inferior a 10 días) podría hacer este, un sustrato interesante para su co-digestión con residuos ganaderos.

Tabla 2.9 *Producción de biogás para el cladodio y los frutos de chumbera.*

	Cladodio	Frutos
Biogás, L/kg SV	320,8	492,2
Biogás, L/kg	30,1	61,7

3. OBJETIVOS

La sostenibilidad de un modelo de producción y uso de biogás agroindustrial requiere una adecuada gestión de los materiales digeridos generados en el proceso. Su utilización en suelos agrícolas es una opción viable de gestión, que sin embargo precisa de un adecuado manejo, ajustando su dosificación según los requerimientos nutricionales del cultivo en cuestión. Este trabajo presenta un modelo de producción sostenible de biogás, para ello, se ha empleado un modelo integrado de biorrefinería, en el que a partir de la co-digestión de cultivos energéticos no alimentarios se obtengan recursos de interés, como biogás (energía) y el digerido (material fertilizante), reciclado para la fertilización del propio cultivo, minimizando así la generación de residuos en el proceso de producción de biogás. Además, se han considerado los subproductos que se pueden generar en una planta industrial, en función de la instalación disponible para la gestión del digerido: sin tratamiento (digerido en forma semi-líquida), un sistema de centrifugación (fracciones sólida y líquida), o una instalación de compostaje (compost).

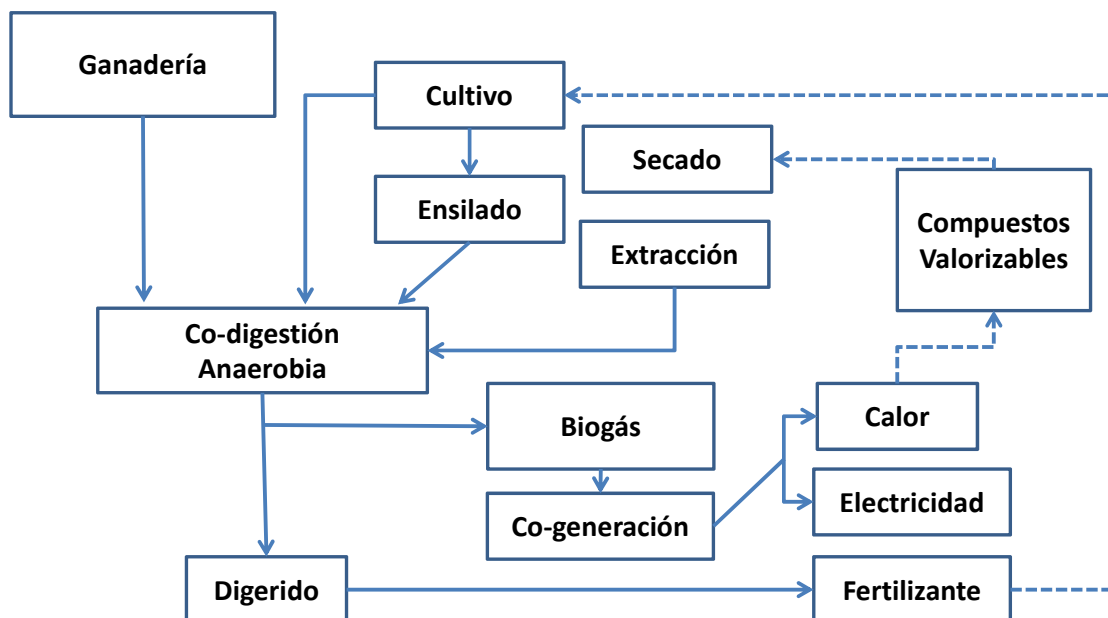


Figura 3.1. Diagrama de flujo de la biorrefinería de tabaco y chumbera.

El objetivo principal del trabajo es determinar las posibilidades de utilización y revalorización agronómica de los productos residuales de la planta de generación de biogás, para ello se llevó a cabo un estudio agronómico en el cual se aplicaron las distintas fracciones de los materiales digeridos como abono de fondo en un cultivo de tabaco (*Nicotiana tabacum*) y chumbera (*Opuntia ficus-indica*). ,

Este objetivo a su vez se ha desglosado en los objetivos parciales que a continuación se describen:

- Analizar la composición y características específicas de los materiales digeridos brutos resultantes de procesos de codigestión anaerobia
- Profundizar en el conocimiento de los cultivos de tabaco y chumbera: rendimientos, posibilidad de efectuar varios cortes a lo largo del año, logística de aprovisionamiento, necesidades de nutrientes, etc
- Estudiar el aprovechamiento agronómico del digerido en los cultivos de tabaco y chumbera, de forma que se cierre el ciclo de materia orgánica y de nutrientes.
- Identificar las opciones de utilización agrícola del digerido, estableciendo formas de utilización y aprovechamiento de nutrientes por los cultivos.
- Evaluar el desarrollo de nuevos productos fertilizantes mediante compostaje de las fracciones sólidas de digeridos.
- Identificar aspectos limitantes en cuanto a un uso potencial de los digeridos o de sus fracciones sólida y líquida como abonos orgánicos
- Estudiar la posibilidad de uso del digerido como abono orgánico en sustitución de la fertilización inorgánica en cultivos energéticos
- Analizar los efectos de los diferentes tratamientos en las propiedades del suelo que condicionan su fertilidad

La utilización del digerido como abono orgánico pretende aportar un valor añadido a los materiales residuales digeridos, demostrando la viabilidad de su aplicación agronómica como fertilizante.

Los tratamientos aplicados en el experimento fueron: control sin fertilización; digerido bruto; fracción sólida del digerido; fracción líquida del digerido; compost preparado a partir de la fracción sólida del digerido y fertilización inorgánica. Los materiales digeridos fueron caracterizados previamente a su aplicación en el suelo.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Caracterización y procedencia de los materiales

4.1.1 Suelo

El suelo utilizado en el experimento procede de la finca experimental del CEBAS-CSIC localizada en Santomera. Es un suelo agrícola, con una textura arcillosa, que resulta poco adecuada para el crecimiento de estas especias. Así, con el fin de adaptar su textura a las necesarias para el cultivo de las especias a ensayar, se mezcló con arena en proporción tal que se lograra un contenido en arena del 40 %, pasando su textura a ser franco-arcillosa. Para ello, el suelo recogido de la capa arable (20 cm) se homogeneizó y se separaron las piedras antes de mezclarlo con la arena. Ambos cultivos requieren un suelo ligero, debido a que el tabaco es una planta con raíces blandas y escaso poder penetrante (Manual de buenas prácticas agrícolas del cultivo de tabaco (MARM, 2007) y la chumbera es una planta que requiere un buen drenaje del suelo en el que se cultiva. Algunas de las principales características del suelo se pueden observar en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Características físico-químicas del suelo (sobre materia seca)

pH	8,6
CE (dS/m)	0,2
Humedad (%)	3,2
COT (g/kg)	5,1
N total (g/kg)	1,4
N-NH ₄ (mg/kg)	10
P asimilable (mg/kg)	26,8
CRH (%)	31,5
Arena, limo, arcilla (%)	40 – 31 – 29
Textura	Franco-arcillosa

4.1.2 Materiales orgánicos de digeridos

El digerido proviene de unos ensayos de simulación a escala piloto en AINIA centro tecnológico, previos a la simulación a escala industrial. El digerido es una mezcla de la co-digestión de estiércol de vacuno y restos vegetales de tabaco en proporción 33- 66 % estiércol-tabaco respecto a sólidos volátiles, que expresado en peso fresco supone una proporción 80-20%.

Una fracción del digerido bruto recibido se separó en dos fracciones sólida y líquida en el laboratorio, mediante centrifugación a 3500 g simulando una centrífuga industrial.

El material digerido y sus fracciones sólida y líquida se caracterizaron químicamente previamente a su aplicación en el suelo para establecer su valor como abono orgánico, según la normativa vigente sobre productos fertilizantes (Real Decreto 824/2005).

Para caracterizar los materiales orgánicos se realizaron diversos análisis, en los que se evaluaron aspectos biológicos (demanda biológica de oxígeno), químicos (pH y CE) así como contenido en carbono orgánico total, nitrógeno total, nitrógeno en forma amónica (N-NH_4^+) y relación C/N. Los resultados correspondientes a los materiales muestreados aparecen recogidos en la Tabla 4.2.

La riqueza principal de los materiales digeridos, fracción sólida y fracción líquida utilizados en el experimento agronómico, estriba en el contenido de nitrógeno que se presenta en forma amónica mayoritariamente. En la fracción líquida este supone un 70 % del N-total y un 45 % del N-total en la fracción sólida. Junto a la importante presencia de nitrógeno, también son destacables los contenidos de fósforo y potasio (Tabla 4.2), lo que en conjunto supone un importante potencial fertilizante de los materiales estudiados. El proceso mecánico de separación del material digerido supone un efecto de concentración de los nutrientes y de la materia orgánica en la fracción sólida. Así, se aprecia como dicha fracción presenta mayores concentraciones de nutrientes que los materiales líquidos. Además, es de destacar que el proceso mecánico de separación implementado no consigue una eficacia de separación elevada, encontrando valores significativos de materia seca y un elevado contenido en compuestos orgánicos lábiles en la fracción líquida, lo cual produce en su conjunto que este material presente una importante inestabilidad biológica.

También se determinó la concentración de micronutrientes (Cu, Fe, Mn, Zn) y metales pesados (Cd, Ni, Cr, Pb) en las distintas fracciones del digerido analizado (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Caracterización química de los materiales digeridos. Materia orgánica: valores expresados en base a peso seco. CE: conductividad eléctrica. COT: carbono orgánico total. NT: nitrógeno total. COT, NT y N-NH₄⁺ expresados en base a material fresco (m.f.).

	Digerido Bruto	Fracción Sólida	Fracción Líquida
Ph	8,1	8,7	7,9
CE (dS m ⁻¹)	35,6	6,1	29,2
Humedad (%)	90,7	82,6	96,8
MO ⁺ (%)	67,3	69,4	60,3
COT (g kg ⁻¹)	28,9	53,1	10,8
NT (g kg ⁻¹)	4,4	3,9	3,1
N-NH ₄ ⁺ (g kg ⁻¹)	3,1	1,8	2,2
C/N	6,5	13,4	3,4
Macronutrientes (g kg⁻¹)			
P	0,7	8,5	0,1
K	7,1	23,9	4,7
Ca	5,5	64,0	0,7
Mg	1,4	11,7	0,4
Na	0,8	3,2	0,7
Micronutrientes y metales pesados (mg kg⁻¹)			
Cu	17	117	7,9
Fe	181	4717	126
Mn	40	507	6,7
Zn	87	584	46
Cd	0,1	1,7	0,4
Ni	<0,01	<0,01	<0,01
Pb	1,7	10,2	1,3

La normativa de utilización de materiales orgánicos en agricultura establece específicamente los niveles de metales pesados como criterio para su uso (BOE, 2005) Así, la concentración de metales pesados fue baja en todos los materiales, con valores inferiores a los establecidos en la legislación española como límite para su uso agrícola

(Pb 200; Cd 3,0; Cr 300; Ni 100 mg kg⁻¹ para materiales sólidos o mg l⁻¹ para líquidos; BOE, 2005). Los valores encontrados en estos materiales son similares a los obtenidos en digeridos sólidos y líquidos por Siebert y col. (2008) procedentes de residuos agropecuarios. Tal y como se observó con los nutrientes vegetales, el proceso de separación produce un efecto de concentración de los metales en la fracción sólida, si bien los valores encontrados son bajos y compatibles con el uso de este material como fertilizante

4.1.3 Compost

El compost utilizado se realizó en la planta piloto de la UMH situada en Orihuela, para ello se preparó una mezcla con una proporción de 75 % de fracción sólida de digerido de purín vacuno y 25% de poda de vid como agente estructurante, lo que equivale a una proporción 90:10 en peso húmedo, en una pila con forma trapezoidal de unos 1800 kg (1,5 metros de altura y 2 metros x 3 metros de base). Se utilizó el sistema de pila estática con aireación forzada a demanda de temperatura, sistema Rutgers. La etapa biooxidativa tuvo una duración de 95 días y la fase de madurez de aproximadamente un mes. El resultado fue un compost estable e higienizado. Los datos analíticos del compost pueden observarse en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Caracterización química del compost, valores de COT, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, macronutrientes, micronutrientes y metales pesados expresado sobre peso seco

pH	6,9
CE (dS m ⁻¹)	6,2
Humedad (%)	66,8
MO [†] (%)	69,1
COT (g kg ⁻¹)	346
NT (g kg ⁻¹)	29
N-NH ₄ ⁺ (g kg ⁻¹)	0,1
N-NO ₃ ⁻ (g kg ⁻¹)	1,8
C/N	11,9
Macronutrientes (g kg ⁻¹)	
P	7,0
K	16,4
Ca	73,6
Mg	9,14
Micronutrientes y metales pesados (mg kg ⁻¹)	
Cu	54,3
Fe	2,01
Mn	128
Zn	200
Cd	0,16
Ni	5,86

4.1.4 Material vegetal

Las plantas de tabaco fueron suministradas por un semillero del norte de Cáceres, (Navalmoral de la Mata), son de la variedad Virginia y subtipo K326. Se decidió usar esta variedad ya que es la que mayor presencia tiene en el mercado español. Además presenta unas buenas características en cuanto a resistencia a plagas (MARM, 2007).

Las plántulas se desarrollaron durante 55 días en semillero por una empresa especializada, posteriormente se trasplantaron a los maceteros para el experimento.

Las plantas utilizadas en el experimento de chumbera fueron suministradas por la fundación CAJAMAR, en Almería, Proceden de Cabo de Gata y pertenecen a una plantación antigua en líneas separadas entre si unos 11 metros, que es eventualmente aprovechada para alimentación del ganado. Las líneas de plantación son densas, bien formadas, con una altura variable de entre 2-4 m, las palas tienen forma un poco alargada, de dimensiones 28-32cm x 17-20cm y son inermes (carecen de pinchas), las plantas una vez maduras presentan areolas grisáceas y muy pocos gloquidios. Se recogieron en forma de esquejes de palas jóvenes y se dejaron 15 días extendidos a la sombra para que cicatrizasen y se creara una capa de suberina en la herida antes de su plantación.

4.2 Diseño experimental

4.2.1 Ensayo de tabaco

El experimento se llevó a cabo en macetas en un invernadero de la finca experimental propiedad del CEBAS situada en Santomera (Murcia). Las plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) variedad Virginia K326 utilizadas en el experimento se plantaron en maceta (35 cm de diámetro y 35 cm de alto) con 23 kg de suelo por macetero. Se trasplantaron dos plantas por macetero.

Los tratamientos aplicados en el experimento fueron: control sin fertilización; fertilización inorgánica; digerido bruto; fracción sólida del digerido; fracción líquida del digerido; compost preparado a partir de la fracción sólida del digerido en dos dosis de aplicación: dosis baja calculado en base al contenido de N total y dosis alta calculada en base al N asimilable en el primer año de cultivo.

La aplicación de cada uno de los tratamientos se realizó como abonado de fondo tras la homogeneización manual de los materiales con el suelo de la parte superficial (10 cm) de las macetas. La dosificación de los materiales se fijó en base a los requerimientos de nitrógeno del cultivo del tabaco, 120 kg N ha⁻¹ (MARM, 2007), de forma que todos los tratamientos fertilizantes suministraran una cantidad equivalente de nitrógeno a las plantas. Según el “Manual de buenas prácticas agrícolas para el cultivo de tabaco” (MARM, 2007) la primera aportación de fertilizantes se aplica, como máximo, un tercio del

total del nitrógeno a aportar (33%), la totalidad del fósforo (100%) y la mitad del potasio (50%), y se realizará lo más cerca posible del trasplante.

La dosificación de los materiales se realizó en función de las necesidades nutricionales indicadas, pero también se tuvo en cuenta que en los materiales orgánicos, todo el N aportado no se encuentra disponible para las plantas inmediatamente tras su aplicación, puesto que la fracción orgánica debe ser mineralizada. Así se establecieron las siguientes cantidades (por maceta) a aplicar para cada uno de los tratamientos (peso fresco): 1 kg de digerido bruto; 0,50 kg de la fracción sólida del digerido; 550 ml de la fracción líquida del digerido; 0,16 kg de compost (en peso seco) en la dosis baja y 0,765 kg en la dosis alta.

El tratamiento con fertilización inorgánica consistió en 13,8 g NH_4NO_3 ; 1,85 g KH_2PO_4 ; 18 g K_2SO_4 por maceta, aplicados de forma fraccionada (1ª aplicación 33 % de N, 100 % de P y 50 % de K; 2ª aplicación 30 % de N y 25 % K y 3ª aplicación 30 % de N y 25 % de K)

La fertilización adicional en los tratamientos orgánicos se realizó con NH_4NO_3 durante el desarrollo del cultivo. El N disponible del compost se calculó en función de N inorgánico + N mineralizable (20 % del N orgánico) y se procedió a suplementar con fertilización mineral a lo largo del cultivo para igualar la cantidad de N disponible aplicado al tratamiento de fertilización inorgánica. La fertilización adicional fue de 2,37 g para el tratamiento con fracción sólida, 8,92 g para la fracción líquida y 10 g para el compost (dosis1).

El riego se realizó por goteo, tres veces por semana y la dosis de riego aplicada durante el desarrollo del cultivo fue de 20,8 l/m². La distribución de los tratamientos fue al azar en el invernadero (Figura 4.3). La duración del cultivo fue de 97 días, una vez que las plantas se encontraban en floración



1- Control	7- Compost	13- Compost	19- Líquido	25- Bruto	31- Compost(2)
2- Líquido	8- Líquido	14- Fert. Inorg.	20- Fert. Inorg.	26- Control	32- Bruto
3- Fert. Inorg.	9- Bruto	15- Sólido	21- Bruto	27- Sólido	33- Compost(2)
4- Control	10- Fert. Inorg.	16- Compost	22- Sólido	28- Líquido	34- Compost(2)
5- Sólido	11- Compost	17- Bruto	23- Líquido	29- Fert. Inorg.	35- Compost(2)
6- Bruto	12- Control	18- Control	24- Compost	30- Sólido	36- Compost(2)

Figura 4.3 Distribución de los maceteros de tabaco

4.2.2 Ensayo de Chumbera

El experimento con chumbera también se llevó a cabo en invernadero, en la finca experimental propiedad del CEBAS situada en Santomera (Murcia). Las plantas de

chumbera (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller) utilizadas en el experimento fueron recogidas de plantaciones de Nijar. Se recogieron y se cicatrizaron como se indicó anteriormente. Las palas se plantaron en macetas de 20 cm de diámetro, utilizando 4,5 kg suelo por maceta.

Transcurridos 80 días tras la plantación de los esquejes en las macetas, y una vez observada la producción de raíces nuevas, se aplicaron los tratamientos definidos para el experimento: control sin fertilización; digerido bruto; fracción sólida del digerido; fracción líquida del digerido; compost preparado a partir del digerido y fertilización inorgánica.

La dosificación de los materiales se fijó en base a los requerimientos de nitrógeno de la chumbera, 60 kg N ha⁻¹ (MARM, 2007), para que todos los tratamientos fertilizantes aportaran una cantidad equivalente de nitrógeno a las plantas. Las cantidades por maceta para cada uno de los tratamientos fueron: 40 g de digerido bruto; 10 g de la fracción sólida del digerido; 70 ml de la fracción líquida del digerido y 15 g de compost. El tratamiento con fertilización inorgánica consistió en 0,56 g NH₄NO₃ y 0,31 g KH₂PO₄ por maceta.

Se llevaron a cabo cinco repeticiones de cada uno de los tratamientos, que se incorporaron al suelo tras la homogeneización manual de los materiales con la parte superficial del suelo (5 cm) de las macetas. En cuanto al riego, al tratarse la chumbera de una especie adaptada a la falta de humedad, se realizó de manera manual semanalmente, añadiendo a cada macetero la misma cantidad de agua en cada riego.



Figura 4.4 Aplicación de materiales digeridos a las plantas de chumbera.

La distribución de las macetas fue al azar, cambiando su localización semanalmente. Las palas jóvenes de chumbera se muestrearon a los 290 días de desarrollo vegetativo.

4.3 Toma de muestra y procesado

El muestreo del material vegetal se realizó una vez finalizado el cultivo (97 días en tabaco y 290 días en chumbera). Se determinó la producción de biomasa con cada uno de los tratamientos aplicados, determinando el rendimiento en peso fresco y seco, así como también las concentraciones de los macronutrientes nitrógeno, fósforo y potasio.

En el caso de las plantas de tabaco también se determinó el contenido en clorofila de las hojas, distinguiendo entre hoja "vieja", las de los 5 primeros pisos foliares y hoja "joven", las hojas que estaban completando su desarrollo. Después se cortaron las plantas lo más cerca del suelo posible, se pesaron para obtener el peso fresco, se lavaron primero con agua corriente para separar la mayor parte de las sustancias extrañas y después con abundante agua destilada. Posteriormente se secó en estufa de aire forzado a 60 °C y se pesó para obtener el peso seco. Por último se molió utilizando un molinillo la cantidad de muestra suficiente para realizar las determinaciones analíticas correspondientes.

Para el ensayo con chumbera, al tratarse de una planta perenne, la producción de biomasa de la chumbera con cada uno de los tratamientos se referenció como el peso de las palas nuevas desarrolladas durante el experimento, ya que éste será el material vegetal utilizable en la co-digestión para la producción de biogás. Además, también se registró el crecimiento vegetativo de la pala original como indicador del estado fisiológico de la planta.

El muestreo de material vegetal consistió en la recogida de material de las palas nuevas, que se lavaron siguiendo el mismo procedimiento que en el cultivo de tabaco, se congelaron en cámara a -18°C y se liofilizaron, el material así obtenido se pesó para determinar el rendimiento en materia seca. Las muestras se procesaron de igual manera que en el anterior cultivo, se molieron en molinillo con fin de homogeneizar la muestra para la realización de las diferentes determinaciones analíticas.

En el cultivo de tabaco se realizó también el análisis del suelo. Tras recogida del cultivo del tabaco se tomó muestra del suelo en toda la profundidad del macetero, y se secó al aire. Una vez seca la muestra, se rompieron los agregados con un rodillo y se tamizó el suelo con un tamiz de 2 mm de luz de malla. Tras este procedimiento, las muestras fueron conservadas en bolsas de plástico de cierre hermético para su posterior análisis. Los parámetros físico-químicos cuantificados fueron los siguientes: pH, CE, carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (NT), N-NO_3^- , N-NH_4^+ , fósforo asimilable y potasio asimilable.

También se determinaron parámetros biológicos y bioquímicos como la biomasa microbiana y la respiración microbiana. Para ello, una parte de la muestra original se tamizó en fresco a 2 mm, y se conservó en una cámara frigorífica a 4 °C hasta su análisis.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Cultivo de tabaco

5.1.1. Producción vegetal

Los resultados productivos obtenidos tras aplicar distintas condiciones de cultivo a las plantas de tabaco mostraron diferencias entre los tratamientos aplicados. El desarrollo vegetal del cultivo tratado con fertilización inorgánica fue significativamente mayor al resto de los tratamientos aplicados en el estudio agronómico (Figura 5.1). Asimismo, la biomasa de las plantas de tabaco conseguida tras la aplicación de los materiales digeridos (digerido bruto, fracción sólida del digerido y fracción líquida del digerido: 3475 kg ha⁻¹, 2630 kg ha⁻¹ y 2840 kg ha⁻¹ respectivamente) fue significativamente superior a la biomasa de las plantas control (no fertilizadas), equivalente a 1390 kg ha⁻¹. En cuanto a los tratamientos fertilizantes con compost, las producciones obtenidas son muy parecidas a la de los materiales digeridos de 2422 kg ha⁻¹ para el compost (dosis1) y 2724 kg ha⁻¹ para el compost (dosis 2) sin diferencias estadísticas significativas entre ellos pero también superiores a las del control sin fertilización. A pesar de que el experimento no se llevó a cabo en la época del año más idónea para esta especie, recordemos que el “Manual de buenas prácticas agrícolas para el cultivo de tabaco” (MARM, 2007) recomienda realizar el trasplante desde semillero en abril-mayo y la cosecha en septiembre- octubre, al mantenerse el experimento en condiciones de invernadero, las temperaturas máximas y mínimas se mantuvieron durante este periodo en un rango (T^a max 35° C ; T^a Min 13,5°C) que se puede considerar óptimo para el crecimiento de esta especie. Por lo que se puede asumir que el clima no ha sido un factor limitante en el crecimiento del cultivo. Además, al tratarse de una planta de ciclo corto, se decidió cosechar con la aparición de las flores en la mayoría de las plantas del ensayo, para que el envejecimiento de estas, no supusiera una merma en los datos de producción o en el estado nutricional de las mismas.

Así, los resultados de productividad obtenidos en el experimento tienen valores cercanos a las medias de producción obtenidas en los cultivos españoles de tabaco (Anuario estadística, 2009) y ponen de manifiesto el valor agronómico como abono orgánico de los materiales digeridos obtenidos en el proceso de biometanización (Alburquerque y col., 2012; Bernal y col., 2009). El uso de estos materiales digeridos favoreció el rendimiento agronómico del cultivo, lo que presenta gran interés desde el punto de vista de la revalorización de residuos del proceso de biometanización y el posterior uso del tabaco como cultivo energético (Meher y col., 1995; Bermejo y Ellmer, 2010). Sin embargo, la mayor producción se obtuvo con la fertilización mineral, seguido del digerido bruto. Quizás el aporte suplementario de N se debería haber efectuado en las primeras etapas del crecimiento, para obtener una mejor respuesta de la planta. No obstante, se aprecia que el digerido sin separar se puede considerar un buen material fertilizante. Estos resultados coinciden con Alburquerque y col (2012) que en un experimento agronómico de campo indica que el digerido proporciona nutrientes a corto plazo, debido a la rápida disponibilidad de su N para el cultivo. No se han encontrado estudios previos sobre la utilización de digeridos en el cultivo de tabaco u otros cultivos no alimentarios. Sin embargo, los estudios agronómicos encontrados cubren cultivos hortícolas y cereales. Diversos autores encuentran rendimientos similares a la fertilización mineral y superiores al suelo sin fertilizar en cultivos de lechugas y espinacas (Montemurro y col., 2010) , de col china (Wang y col., 2008) de arroz (Lu y col., 2012; Debnath y col., 1996). En lo que coinciden la mayoría de los autores, es en la necesidad de combinar la fertilización con digerido como fertilizante de fondo, con la fertilización mineral durante el desarrollo del cultivo para obtener rendimientos similares a la fertilización mineral única.

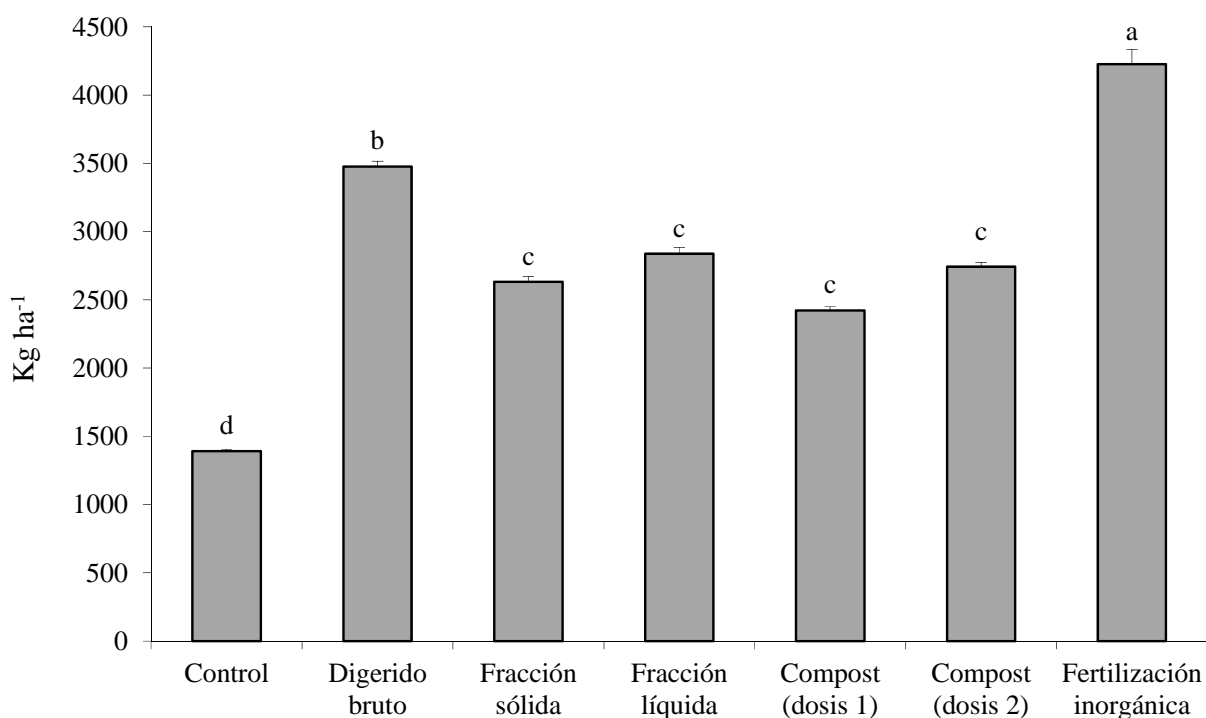


Figura 5.1. Biomasa de las plantas de tabaco cultivadas sin tratamiento (control), con materiales digeridos obtenidos en el proceso de biometanización (digerido bruto, fracción sólida y fracción líquida), compost (d1), compost (d2) y fertilización inorgánica. Las barras de error indican la desviación estándar. Valores con distintas letras indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey a $P < 0,05$.

5.1.2. Macro y micronutrientes

Con respecto a los valores foliares de clorofila determinados, la concentración en las hojas jóvenes de las plantas tratadas con la fracción líquida, compost (dosis1) y fertilización inorgánica fueron similares, registrándose valores en torno a 60 unidades SPAD (Figura 5.2). A su vez, los valores de clorofila medidos en las hojas de estas plantas tratadas fueron significativamente mayores que los determinados en las hojas de las plantas control (39 unidades SPAD), lo que indica el óptimo estado de las plantas bajo todas las condiciones de cultivo aplicadas. Solo uno de los tratamientos fertilizantes, el Compost (d2), mostró valores de clorofila en sus hojas inferiores a los del tratamiento control. Esto, puede ser debido a la alta concentración de sales solubles que el compost en dosis tan altas puede aportar al suelo, de hecho (Saalem y col., 2012) encontró que para el cultivo de Okra (especie de fanerógama tropical de fruto comestible), con el aumento en el gradiente de salinidad en el suelo, descendían considerablemente los niveles de clorofila en hoja, así como de los pigmentos relacionados con su funcionamiento. La concentración de macro y micronutrientes también afecta a los niveles

de clorofila (Mengel y Kirkby, 2001). Los niveles de clorofila de las hojas viejas no presentaron diferencias significativas según el test de Tukey, entre el tratamiento control, los tratamientos con materiales digeridos (bruto, fracción sólida y fracción líquida) y el compost (d2), siendo en todos los casos inferiores a los resultados en hoja joven (Fig 5.2). En condiciones de cultivo normales, estas hojas se habrían cosechado de la planta en su momento de total desarrollo, antes de su senescencia.

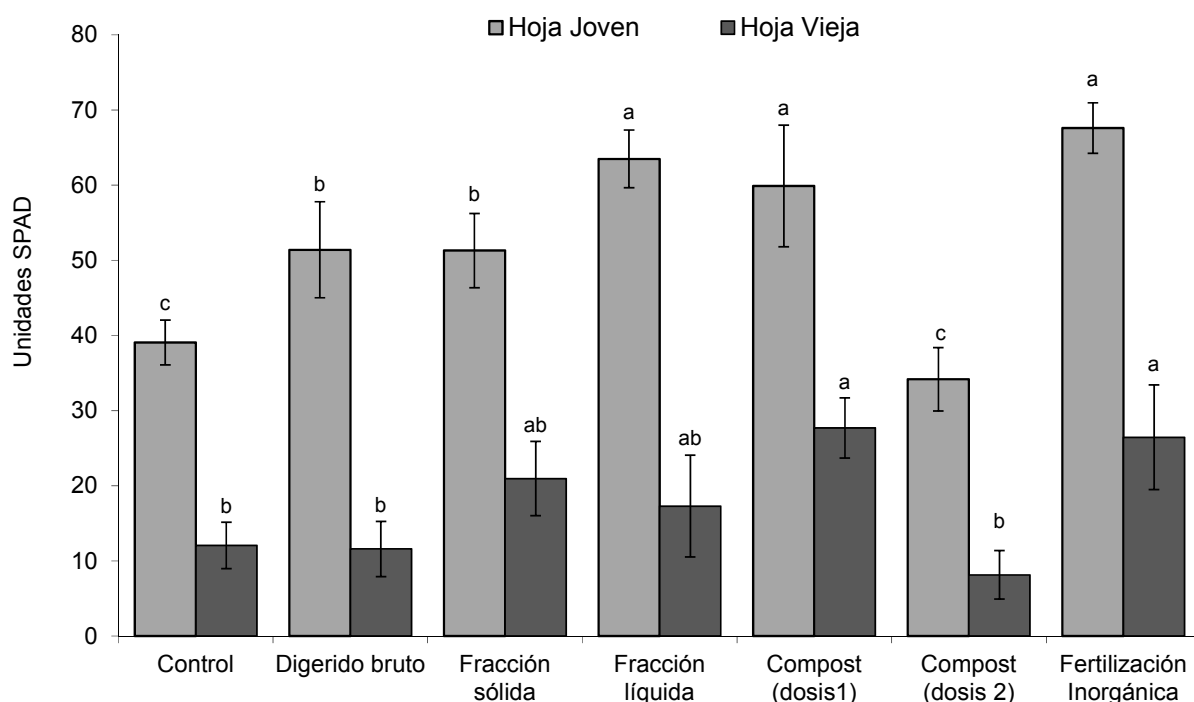


Figura 5.2. Concentración foliar de clorofila en plantas de tabaco cultivadas sin tratamiento (control), con materiales digeridos obtenidos en el proceso de biometanización (digerido bruto, fracción sólida y fracción líquida), compost (d1), compost (d2) y fertilización inorgánica. Las barras de error indican la desviación estándar. Valores del mismo tipo de hoja con distintas letras indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey a $P < 0,05$.

La concentración foliar de macronutrientes (N, P, K) en hojas jóvenes sí mostró diferencias significativas entre los distintos tratamientos aplicados, los niveles de N determinados en las hojas de las plantas tratadas con la fracción líquida del digerido, con compost (dosis 1) y con fertilización inorgánica, fueron significativamente mayores que los registrados en las plantas control y los tratamientos hechos con el digerido bruto y la fracción sólida. Aunque estos últimos, sorprendentemente, no resultaron estadísticamente mayores que el control, que obtuvo las menores concentraciones de N. El tratamiento con compost en dosis altas, mostro una concentración foliar de N estadísticamente igual que el tratamiento control, la baja eficiencia del N para este tratamiento podría deberse a la ocurrencia de pérdidas por lixiviación durante el riego, o

por desnitrificación. Las concentraciones de N determinadas en las hojas viejas fueron más bajas que las determinadas en las hojas jóvenes de las plantas, y se encontró que la concentración en los tratamientos con compost y fertilización inorgánica fue significativamente mayor que en los demás tratamientos, que, a su vez, fueron mayores que el tratamiento control.

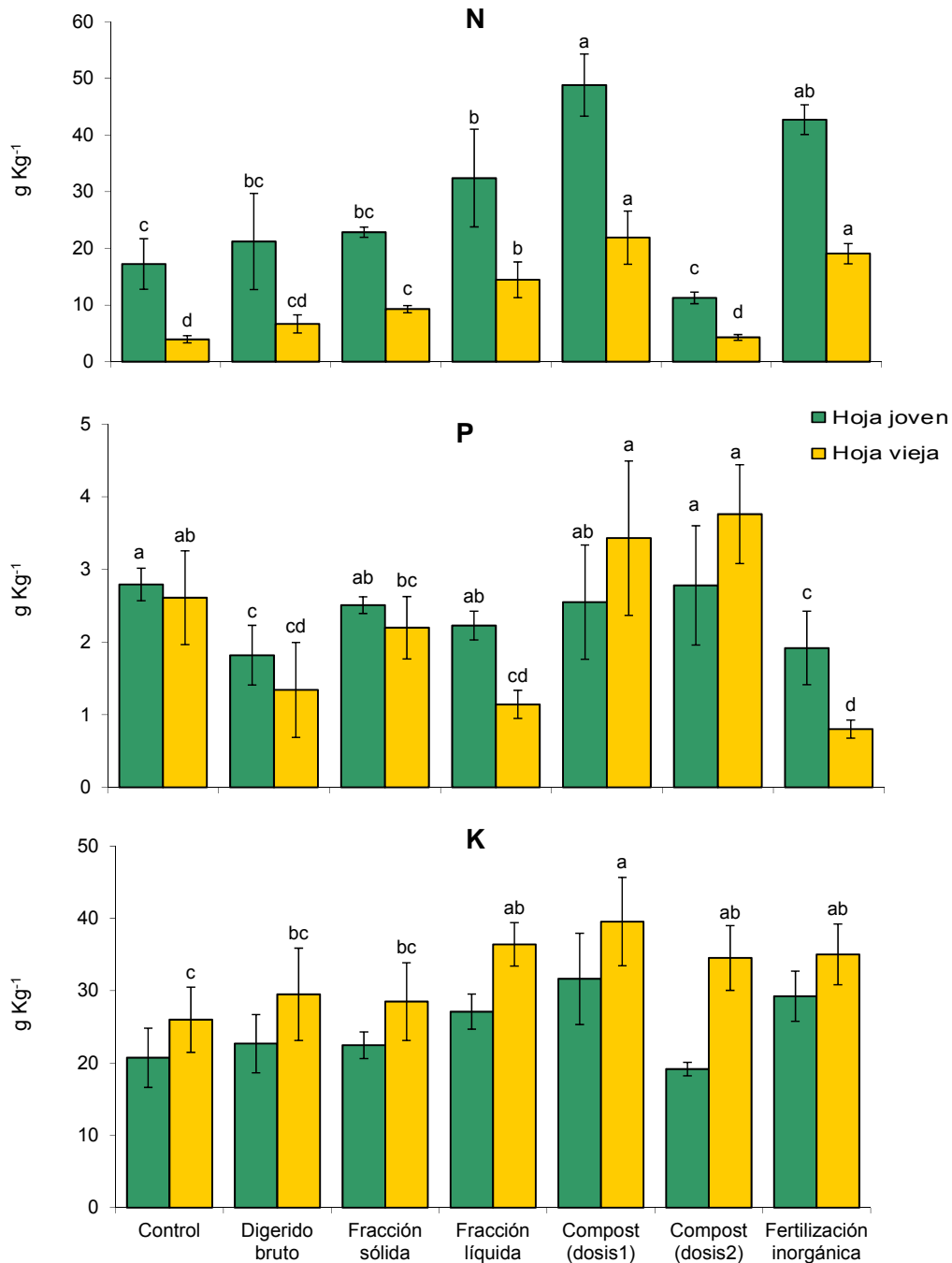


Figura 5.3 Concentración foliar de macronutrientes (N, P, K) en plantas de tabaco cultivadas sin tratamiento (control), con materiales digeridos obtenidos en el proceso de biometanización (digerido bruto, fracción sólida y fracción líquida), compost y fertilización inorgánica. Las barras de error indican la desviación estándar. Valores del mismo tipo de hoja con distintas letras indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey a $P < 0,05$

Teniendo en cuenta la biomasa total de planta, la biomasa muestreada y la composición nutricional, se ha realizado una estimación de la eficiencia fertilizante de cada material con respecto a N. La eficiencia del fertilizante inorgánica resultó la superior con el 54,6 % del N aplicado utilizado por las plantas. De los materiales digeridos, el líquido resultó el más eficaz, con el 30 % de aprovechamiento, seguido del compost con el 25 % (del N asimilable) y el bruto, con el 20 % de aprovechamiento. La fertilización con el sólido resultó la menos eficaz, con sólo el 7,8 % de eficacia de utilización por las plantas. Estos resultados están en concordancia con los logrados en el estudio de mineralización de laboratorio, donde el material sólido resultaba con la menor eficiencia en producción de nitratos en el suelo (Albuquerque y col., 2012).

Diversos estudios agronómicos destacan la eficiencia fertilizante del digerido en cuanto al N, que puede ser similar a la de los fertilizantes minerales. Birkmose (2009) encontró que la utilización de N del digerido en cebada y trigo puede llegar al 80 % del N total aplicado, similar a la concentración del $N-NH_4^+$ presente en el material. Además, cuando la dosificación del digerido se basa en la concentración de su N total, el valor fertilizante es menor que la misma cantidad de n pero aplicada mediante fertilizante inorgánico (Quakerhack y col., 2011). No hay que olvidar que una fracción del N del digerido se encuentra en forma orgánica, que debe ser mineralizada para poder ser asimilada por los cultivos. Así, cuando la dosificación del digerido se basa en el contenido de $N-NH_4^+$, se puede obtener recuperaciones de N similares a las que se producen con fertilizantes inorgánicos (de Boer, 2008; Gunnarsson y col., 2010). Sin embargo se han encontrado con frecuencia pérdidas de N en el suelo tras la utilización de digeridos, asociados a:

- 1- Volatilización como amoníaco, debido al pH alcalino del digerido y principalmente en suelos calizos cuando su aplicación se realiza de forma superficial, sin incorporación al suelo.
- 2- Por lixiviación como nitratos, debido a su alta solubilidad en el suelo (Loria y col., 2007; Rochette y col., 2004). Así Loria y col. (2007) en un ensayo con digerido de purín de cerdo sobre cultivo de maíz destacaron que la disponibilidad del N del digerido varía en función de las condiciones climáticas y de la mayor o menor exposición a las pérdidas. Ortenblad (2000) destacó la necesidad de minimizar las pérdidas de N del digerido por volatilización mediante la incorporación al suelo tras su aplicación, indispensable para obtener una buena eficacia fertilizante.

En cuanto a los niveles de P en hojas jóvenes del tabaco, se puede observar que en todos los tratamientos, exceptuando el tratamiento realizado con el digerido bruto y la fertilización inorgánica, la concentración de este elemento fue similar, sin diferencias significativas con el tratamiento control. Además, ninguna de las plantas de tabaco de los diferentes tratamientos del ensayo presentó síntomas por deficiencia de fósforo como hojas verdeazuladas o retraso en la aparición de las flores (Guardo, 2010). La concentración de P en las plantas cultivadas con el digerido bruto y con la fertilización inorgánica fue estadísticamente inferior al resto de los tratamientos. Quizás el P en forma inorgánica en el fertilizante inorgánico se inmovilizó rápidamente en el suelo, hecho que sucede mayoritariamente en suelos altamente calizos como el utilizado en el experimento, formando fosfatos de calcio insolubles (Mengel y Kirkby, 2001). Las formas orgánicas proporcionadas por la fracción sólida y el compost pudieron evitar o ralentizar dicha precipitación/insolubilización, debido a su lenta mineralización. La concentración de P en hojas viejas, cumple un patrón parecido aunque con diferencias más marcadas entre tratamientos, siendo el tratamiento con compost y la fertilización inorgánica los que presentaron mayor concentración P foliar.

Los niveles foliares de K en hojas viejas sí mostraron diferencias significativas, siendo el tratamiento con compost (d1) el que mostró concentraciones de K significativamente mayores que el resto de tratamientos. Todos los tratamientos mostraron concentraciones significativamente mayores que el tratamiento control sin fertilización.

En las Tablas 5.1 y 5.2 se presentan los resultados de los nutrientes Ca y Mg y de los micronutrientes Fe, Cu, Mn y Zn. Destaca el hecho de la menor concentración de estos elementos en las plantas crecidas con digerido bruto, principalmente en hoja joven, con valores menores a las plantas del suelo control. Quizás el gran crecimiento de las plantas en este tratamiento provocó una cierta deficiencia en ciertos elementos. Así se aprecian valores de Mg excesivamente bajos (concentración normal de 9 mg/kg materia seca en tabaco; Mengel y Kirkby, 2001) que pudo ser el responsable de las bajas de los bajos contenidos en clorofila en las hojas viejas. Según Mengel y Kirkby (2001) la deficiencia de Mg restringe la producción de clorofila, apareciendo frecuentemente a valores ≤ 2 mg / kg de materia seca. Bajo estas circunstancias, el Mg se transporta por el floema de los tejidos viejos a los jóvenes, para intentar compensar dicha deficiencia en las hojas en crecimiento. Así se aprecian los valores más bajos de Mg en las hojas viejas que en jóvenes de las plantas tratadas con digerido bruto, con valores similares en el resto de tratamientos. Hay que destacar las concentraciones superiores en el tratamiento compost (d1), principalmente en hoja vieja, que corresponde con los mayores valores de clorofila (Fig 5.2).

Tabla 5.1 Concentración de macronutrientes Ca y Mg y de micronutrientes Fe, Mn, Cu y Zn en hoja joven de plantas de tabaco según tratamientos

Tratamiento	Ca (g kg ⁻¹)	Mg (g kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
Control	23,4 ab	3,7ab	73 a	6,6 a	91 bc	38 a
Dig. Bruto	16,8 c	2,7 c	40 c	2,8 c	69 d	23 c
F. Liquida	20,2 ab	3,4 ab	56 ab	3,5 ab	87 bc	24 c
F. Solida	26,5 a	4,3 a	57 ab	3,7 ab	123 a	21 c
Compost (d1)	22,8 ab	4,4 a	67 a	6,0 a	114 ab	21 c
Compost (d2)	21,2 ab	3,8 ab	35 c	2,5 c	78 bc	29 ab
F. Inorgánica	18,6 c	3,8 ab	58 ab	4,0 ab	93 bc	17 c
ANOVA	***	***	***	***	***	***

Para un mismo parámetro, valores seguidos distintas letras indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey a un nivel de significación $P \leq 0,05$. NS : No Significativo, *** Significativo a un nivel de significación $P \leq 0,001$.

Respecto al resto de micronutrientes, es de destacar la baja concentración de Fe en el tratamiento compost (d2), principalmente en hoja joven. En otros experimentos también ha sucedido este mismo hecho, indicando que el Fe del compost no está en formas muy disponible para las plantas, bien debido a un alto pH en el compost o por encontrarse precipitado en formas insolubles o formando quelatos muy estables con la materia orgánica humificada (de la fuente y col., 2011; Albuquerque y col., 2007).

En el Cu se aprecia una tendencia similar al Fe en las plantas jóvenes, con los menores valores en el digerido bruto y compost (d2). Esos valores resultan muy bajos y pueden indicar deficiencia en dicho nutriente (< 5 mg /kg materia seca, Mengel y Kirkby, 2001). Sin embargo en las hojas viejas la nutrición del Cu de las plantas fue similar a la del resto de tratamientos (excepto digerido bruto), pero la deficiencia se observó en el fertilizante inorgánico. Según Mengel y Kirkby (2001) un exceso de N por sobrefertilización puede llevar a deficiencias de Cu. Así, por un lado la alta aplicación de N en compost (d2) pudo causar la baja concentración de Cu en hoja joven de dicho tratamiento, mientras que la aplicación del digerido bruto en una sola vez al inicio del cultivo, pudo causar la deficiencia en ambos tipos de hoja.

Tabla 5.2 Concentración de macronutrientes Ca y Mg y de micronutrientes Fe, Mn, Cu, y Zn en hoja vieja de plantas de tabaco según tratamientos

Tratamiento	Ca (g kg ⁻¹)	Mg (g kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
Control	25,4 bc	3,3 bc	27 ab	7,2 b	179 ab	52 a
Dig. Bruto	14,6 c	2,1 c	21 b	2,6 b	123 c	20 c
F. Liquida	30,1 ab	4,5 ab	43 a	6,5 b	185 ab	32 ab
F. Solida	19,7 bc	3,0 bc	32 ab	4,5 b	164 ab	28 ab
Compost (d1)	38,6a	6,7 a	46 a	12,4 a	255 a	50 a
Compost (d2)	27,6 ab	4,5 ab	28 ab	6,9 b	230 ab	49 a
F. Inorgánica	29,2ab	4,8 ab	32 ab	2,3 b	148 ab	20 c
ANOVA	***	***	***	***	***	***

Para un mismo parámetro, valores seguidos distintas letras indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey a un nivel de significación $P \leq 0,05$. NS : No Significativo, *** Significativo a un nivel de significación $P \leq 0,001$.

Los resultados de Mn muestran un comportamiento similar al Fe, con los mayores valores en compost (d1) y digerido sólido en hoja joven y los valores más bajos con el digerido bruto. Los valores fueron mayores en las hojas viejas, ya que este elemento no se transporta como el Mg al tejido joven en caso de deficiencia.

Las concentraciones de Zn se pueden considerar normales para las plantas, con valores más altos en el control (Mengel y Kirkby 2001; Kabata-Pendias 2001).

Por tanto, se puede decir que el compost actuó como un buen fertilizante orgánico, obteniendo una correcta nutrición de las plantas. Los materiales digeridos no resultaron tan eficientes en la nutrición de N de las plantas de tabaco, y aunque el digerido bruto llevó a una mayor producción de planta, su estado nutricional fue inferior al tratamiento con compost y la fertilización mineral. Ello indica que los materiales digeridos por biometanización pueden sustituir a los fertilizantes inorgánicos en el cultivo de tabaco, pero de una forma parcial. Su utilización debe realizarse como fertilización de fondo antes de plantar, complementando con fertilización inorgánica durante la etapa de mayor desarrollo vegetal., tal y como reflejaron los resultados de producción.

5.2 Cultivo de Chumbera

5.2.1 Producción vegetal

Los resultados obtenidos tras aplicar distintas condiciones de cultivo a las plantas de chumbera mostraron que la producción de biomasa, expresada como peso de palas nuevas desarrolladas durante el experimento, fue significativamente superior en las chumberas tratadas que en las plantas control (Tabla 5.3), sin diferencias significativas entre los tratamientos fertilizantes. La biomasa de la pala original no resultó modificada por el tratamiento fertilizante, ya que la planta destinó sus recursos a la generación de nuevas palas. El mayor desarrollo vegetal de las plantas tratadas con respecto al control pone de manifiesto el efecto positivo de la utilización de materiales digeridos como fertilizante en cultivos energéticos destinados a la producción de biomasa para generar biogás.

Tabla 5.3. Datos de crecimiento y producción de la chumbera

Tratamiento	Crecimiento (cm ²)	Biomasa (g palas jóvenes/planta)
Control	16,23	23,76 b
Digerido bruto	8,81	50,92 a
Fracción sólida	19,66	48,72 a
Fracción líquida	15,61	56,68 a
Compost	15,05	55,38 a
Fertilización inorgánica	28,46	50,32 a
ANOVA	NS	**

Para un mismo parámetro, valores seguidos distintas letras indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey a un nivel de significación $P \leq 0,05$. NS : No Significativo, *** Significativo a un nivel de significación $P \leq 0,001$.

4.2.2 Macro y micronutrientes

La aplicación de materiales digeridos, de compost y la fertilización inorgánica se dosificó en función de los requerimientos de nitrógeno del cultivo, y garantizando suficiente aporte de P y K, para asegurar un aporte nutricional equivalente con cada uno de los tratamientos. El elevado valor nutricional de los digeridos, debido fundamentalmente a su contenido en N, P, K, no se tradujo en diferencias significativas entre el estado nutricional de las plantas tratadas y las plantas control (Figura 5.4).

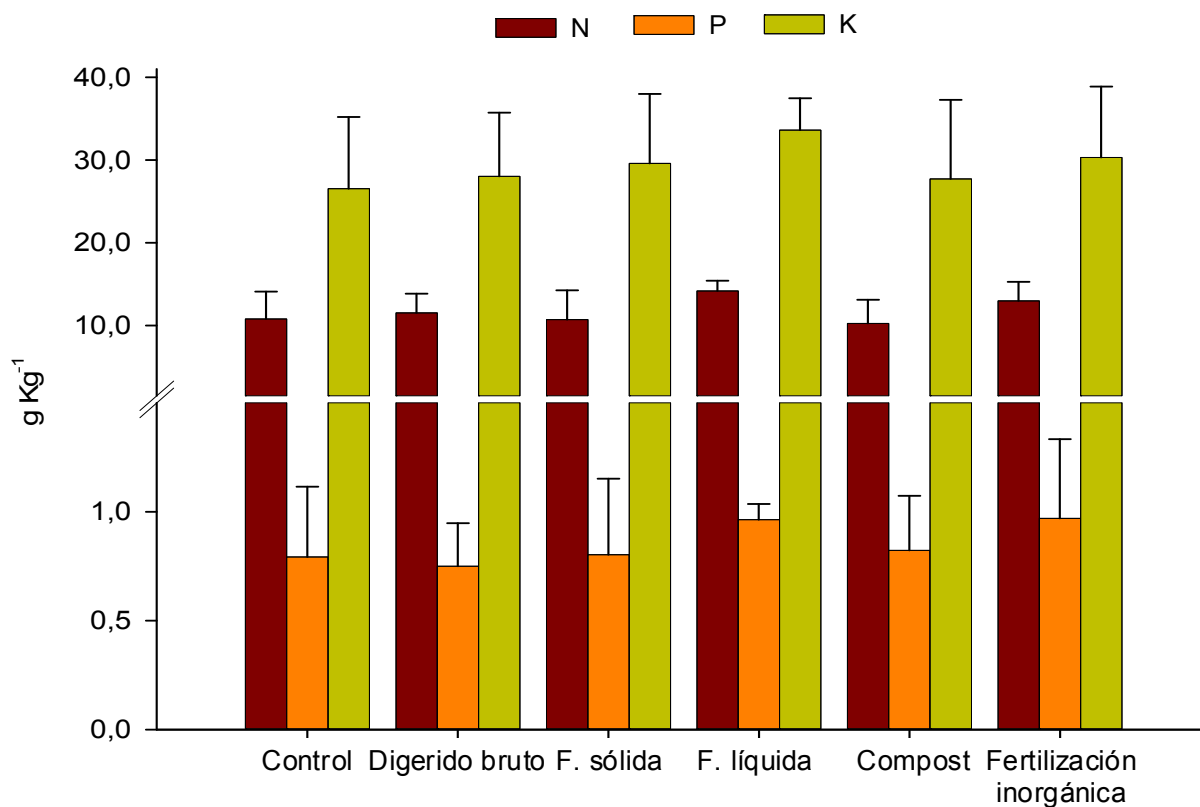


Figura 5.4 Concentración foliar de nitrógeno, fósforo y potasio en plantas de Chumbeira cultivadas sin fertilización (control), con materiales digeridos obtenidos en el proceso de biometanización (digerido bruto, fracción sólida y fracción líquida), compost y fertilización inorgánica. Las barras de error indican la desviación estándar.

La concentración de macronutrientes (N, P, K) de las palas nuevas no mostró diferencias significativas entre los distintos tratamientos aplicados. Dichos valores se pueden considerar adecuados para la chumbeira, estando cercanos a los indicados por Fernández González y Saiz Jarabo (1990) en palas de chumbeira (3-6 % en proteínas, lo que equivale a 4,8-9,6 g N/kg, 0,26 % de P y 5,71 % de K en cenizas). Por tanto, los materiales digeridos y el compost pueden sustituir a la fertilización inorgánica en el cultivo de chumbeira para la producción de biogás, con un óptimo estado nutricional de las plantas. Se ha calculado la extracción de N por las partes jóvenes de la chumbeira y se ha determinado el aprovechamiento de N de cada material fertilizante. Sin embargo, ha existido una gran variabilidad en los datos que no permiten obtener una conclusión en este sentido. Ello se debe a que pudo ocurrir que la pala nueva se nutriera de la palera “madre” propagada, por lo que no se puede discernir el N de la hoja joven que proviene de la palera “madre” y la que realmente ha absorbido y transportado desde el suelo, procedente de la fertilización.

La concentración de nutrientes Ca y Mg y de micronutrientes de las palas jóvenes no resultó

afectada por el tratamiento fertilizante aplicado, observándose gran variabilidad entre repeticiones de un mismo tratamiento. Los resultados de Ca son similares a los citados por Fernández González y Saiz Jarabo (1990) (23 % sobre cenizas) pero resultan inferiores para el Mg (14% sobre cenizas) , lo que podría indicar la necesidad de aportar o mejorar la nutrición de Mg en este cultivo. No se han encontrado referencias sobre la concentración de micronutrientes en este cultivo, pero los resultados obtenidos no parecen indicar deficiencias en ninguno de ellos, según los valores generales de concentraciones “normales” en planta (Mengel y Kirkby, 2001; Kabata-Pendias, 2001).

Teniendo en cuenta las necesidades fertilizantes de éste cultivo y los resultados obtenidos en el presente experimento, se puede estimar la cantidad de digerido que se puede reciclar por hectárea. Así, se estima que anualmente se puede reciclar 13,6 m³ de digerido bruto por hectárea de cultivo de chumbera. Debido al bajo requerimiento de nutrientes de esta especie, la cantidad a utilizar es baja y por lo tanto deben plantearse una alternativa complementaria de gestión en el caso de optar por el presente cultivo energético.

Una alternativa factible es alternar ambos cultivos estudiados, es decir, disponer de superficie para establecer una zona de cultivo de tabaco, y otra zona de cultivo de chumbera, que al ser una especie perenne, no habría que propagar todos los años. Además se ha visto que la especie admite podas intensas en el otoño, lo que permitiría plantear una estrategia de cultivo basada en alternar las podas anuales en diferentes hileras del cultivo, permitiendo el desarrollo de la planta durante 2 años hasta la siguiente poda. El suministro de sustrato para digestión anaerobia estaría garantizado durante el otoño-invierno con la poda de chumbera. Mientras que el desarrollo del cultivo de tabaco en primavera aseguraría el suministro de sustrato para digestión anaerobia durante el verano.

Tabla 5.4 Concentración de macronutrientes Ca y Mg y de micronutrientes Fe, Cu, Mn y Zn en pala de chumbera según tratamientos

Tratamiento	Ca (g kg⁻¹)	Mg (g kg⁻¹)	Fe (mg kg⁻¹)	Cu (mg kg⁻¹)	Mn (mg kg⁻¹)	Zn (mg kg⁻¹)
Control	23,0	6,42	22	3,8	269	17
Dig. Bruto	19,2	5,75	16	3,5	239	30
F. Liquida	18,7	6,27	24	5,0	243	21
F. Solida	21,9	6,01	17	4,0	249	18
Compost	27,1	6,94	17	4,1	338	36
F. Inorgánica	18,8	5,63	18	3,1	301	18
ANOVA	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Para un mismo parámetro, valores seguidos distintas letras indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey a un nivel de significación $P \leq 0,05$. NS : No Significativo, *** Significativo a un nivel de significación $P \leq 0,001$.

5.3 Efectos en el suelo

5.3.1 Propiedades químicas

Los parámetros determinados en el suelo una vez realizado el muestreo del tabaco (tras 97 días de desarrollo vegetativo de las plantas), indicaron que el pH de los suelos (ligeramente alcalinos) no se vio significativamente afectado por los tratamientos aplicados (Tabla 4.5), probablemente debido a la capacidad tamponante del suelo calizo utilizado en el experimento. La aplicación de compost y de la fracción líquida del digerido provocó un aumento significativo de la conductividad eléctrica del suelo, al igual que la fertilización inorgánica, aunque los valores fueron bajos, se situaron en un rango apropiado para un óptimo crecimiento y desarrollo vegetal y no implican riesgo de salinización. Esto indica que las sales solubles del material digerido permanecen principalmente en la fracción líquida tras el proceso de separación.

Los resultados mostraron un aumento significativo en el COT en los tratamientos con los materiales digeridos y compost, lo que debe favorecer la fertilidad del suelo a través de la mejora de las características hidrofísicas del suelo (Ingelmo y Rubio, 2008). El efecto del digerido sobre la materia orgánica y el COT depende de la estabilidad biológica del digerido (Alburquerque y col., 2012a). Lo que repercute directamente en los ciclos de C y N en el suelo. Los resultados obtenidos demuestran que la aplicación de compost a altas dosis aumenta principalmente el COT del suelo, debido a la alta estabilidad de la materia orgánica presente en compost maduros (Bernal y col., 1998a). Sin embargo, el compost aplicado en función de su N total (dosis 1) solo aumentó ligeramente el COT del suelo y de forma similar al digerido bruto ya que el digerido proporciona también un COT relativamente estable, quizás de materiales lignocelulósicos (fibras) no degradados en el proceso de biometanización (Tambone y col., 2010). No obstante hay que tener en cuenta el bajo contenido de COT del digerido, por lo que el aporte en una fertilización de ciclo corto es baja y además la brevedad del experimento, con una sola aplicación. Así, Alburquerque y col. (2012c) no encontraron cambios significativos en el COT de un suelo calizo tras la aplicación de digerido durante dos años. Sin embargo, Lopodota y col. (2013) encontraron aumentos significativos de COT en el suelo tras tres años de aplicación del digerido a un cultivo de melón. Por tanto, el efecto del digerido en el COT del suelo va a depender de la estabilidad biológica del mismo, su contenido, pero además las dosis de aplicación, duración del tratamiento y las condiciones edafoclimáticas, que afectan a los procesos de mineralización en el suelo.

Tabla 5.5 Parámetros determinados en el suelo tras el cultivo de tabaco tratado con materiales digeridos obtenidos en el proceso de biometanización (digerido bruto, fracción sólida y fracción líquida), compost y fertilización inorgánica

	pH	CE (dS m ⁻¹)	COT (g kg ⁻¹)	NT (g kg ⁻¹)	N-NO ₃ ⁻ (mg kg ⁻¹)	N-NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)	P _{Disponible} (mg kg ⁻¹)	K _{Disponible} (mg kg ⁻¹)
Control	7,81	0,276 d	3,9 bc	0,75 c	0,8 c	42 b	1,15 d	169 e
Dig. bruto	7,79	0,283 cd	4,5 b	0,95 c	5,2 b	44 b	4,33 c	463 b
F. Líquida	7,45	0,416 ab	4,2 c	1,02 bc	100 a	380 a	1,62 d	245 cd
F. Sólida	7,80	0,248 d	4,2 b	0,87 c	8,8 b	84 b	5,53 bc	201 de
Compost (d1)	7,44	0,482 a	4,5 b	1,03 bc	137 a	299 a	5,10 bc	278 c
Compost (d2)	7,81	0,337 c	6,6 a	2,00 a	5,4 b	65 b	23,1 a	552 b
F. Inorgánica	7,66	0,380 ab	3,4 c	1,96 ab	5,3 b	72 b	9,11 b	812 a
ANOVA	NS	***	***	***	***	***	***	***

Para un mismo parámetro, valores seguidos distintas letras indican diferencias significativas entre tratamientos según el test de Tukey a un nivel de significación $P \leq 0,05$. NS : No Significativo, *** Significativo a un nivel de significación $P \leq 0,001$

El N total del suelo aumentó significativamente respecto al control con el uso del compost a las dosis más elevada (dosis2). Se observaron además elevados niveles de N-NH₄⁺ en los suelos tras los tratamientos con el compost (dosis1) y con la fracción líquida del digerido, que pueden estar asociados a la fertilización mineral suplementaria aportada en dichos tratamientos durante el cultivo y que enmascara el verdadero efecto sobre la nutrición nitrogenada de la aplicación de los diferentes residuos orgánicos como abonado de fondo. Quizás la fertilización complementaria se realizó demasiado cerca del final del experimento, por lo que el N-NH₄⁺ añadido no pudo ser totalmente nitrificado en el suelo ni absorbido por el cultivo de hecho también se encuentran valores altos de N-NO₃⁻ en estos tratamientos. El efecto en la dinámica del nitrógeno resulta lógico en el suelo que fue tratado con el digerido bruto, ya que a pesar de que la riqueza principal como fertilizante de este material estriba de su contenido en nitrógeno en forma amoniacal, la aplicación del mismo al suelo no provocó que al final del ensayo se observase un aumento significativo de la concentración en el mismo con respecto al tratamiento control, sin embargo, si se determinó una concentración de nitratos significativamente superior al control. Esto demuestra que ocurrió el proceso de nitrificación, además los resultados fueron similares en los suelos tratados con digerido bruto que en los tratados con fertilización mineral (que fue aplicado de forma fraccionada). Esta dinámica de las formas del nitrógeno podría ser indicativo de que este material se ha comportado como una fuente de nitrógeno de liberación lenta, idea que además explicaría los buenos resultados productivos obtenidos con este tratamiento

En este sentido la utilización de residuos orgánicos digeridos podría suponer una gran ventaja, por un lado su utilización proporcionaría un suministro regulado de nitrógeno para el cultivo y por otro su uso reduciría el potencial de contaminación por nitratos al liberarse estos de manera más progresiva, evitando que se produzcan grandes concentraciones localizadas de nitrógeno mineral (fundamentalmente nitratos) que facilitan las pérdidas por lixiviación.

Con respecto a otros nutrientes, el fósforo disponible aumentó significativamente en el suelo con todos los tratamientos fertilizantes, excepto con la fracción líquida, que al estar en formas muy solubles pudo ser precipitado como fosfato de calcio (Mengel y Kirkby, 2001). El compost en alta dosis produjo un aumento muy acusado en la cantidad de fósforo asimilable en el suelo, lo que es indicativo de un exceso de fertilización por lo que el compost aplicado en tan altas cantidades puede llegar a suponer un riesgo para la salud del cultivo y para las características fertilizantes del propio suelo. Se debe tener en cuenta que repetidas aplicaciones de compost ricos en fósforo pueden conllevar la acumulación de este nutriente en el suelo, produciéndose una disminución de otros nutrientes como el S y micronutrientes disponibles para la planta, con la consecuente aparición de elementos que actúen como “limitantes de producción” (al no alcanzar la tasa de necesidad) y por el contrario puedan actuar de la misma forma al alcanzar la tasa de toxicidad para un cultivo determinado (Moral y Muro, 2008).

El K asimilable también aumentó respecto al control en el suelo tratado con los materiales digeridos, pero en menor proporción que en los suelos en los que se usó la fertilización mineral. El digerido bruto provocó un alto aumento de $K_{\text{disponible}}$ en el suelo, pero esto no se reflejó con un mayor contenido a nivel foliar. Makádi y col. (2012) refieren aumentos de K disponible en el suelo por el uso de digeridos. Por tanto según indican los resultados todos los tratamientos, y en especial la fertilización inorgánica y el digerido bruto aportaron cantidades excesivas de K según las necesidades nutricionales del cultivo. Ello indica la necesidad de realizar una fertilización en base a NPK en lugar de centrar la dosificación únicamente en el aporte de N, complementando la necesidad del mismo mediante aportes sucesivos de fertilizantes.

Por otro lado se observa que el incremento de conductividad eléctrica en los suelos tratados con F. Líquida y Compost (dosis1) se asocia con el incremento de $N\text{-NO}_3^-$ y $N\text{-NH}_4^+$, pero no al aumento de K, por lo que dichos aumentos fueron consecuencia de la fertilización complementaria, en lugar de un exceso de aplicación de dichos materiales. De hecho la dosis más alta de compost que sí provocó un aumento destacado en $K_{\text{disponible}}$, pero no produjo un aumento en la CE tan destacado como los anteriores materiales.

5.3.2 Propiedades biológicas

En cuanto a los parámetros de biomasa microbiana del suelo, la adición de los materiales digeridos, del compost, así como el tratamiento con la fertilización inorgánica provocó un aumento de la respiración y del carbono y el nitrógeno de la biomasa en comparación con el suelo control (Tabla 5.6). Sin embargo no todos los incrementos resultaron estadísticamente significativos. En particular la adición de compost en dosis altas produjo un incremento de la biomasa microbiana del suelo excesivamente elevados, por esta razón y al ser los valores claramente más altos que en el resto de tratamientos, se ha decidido excluir estos valores del análisis estadístico, con el fin de poder estudiar si existen diferencias significativas entre los demás tratamientos. De este modo se puede observar como la adición del digerido bruto y de la fracción sólida del digerido al suelo dio lugar a valores significativamente más altos en el carbono y nitrógeno de la biomasa, así como una mayor producción de C-CO₂ que en los suelos control. Esto puede ser indicativo de una cierta inestabilidad biológica de estos materiales, pues este aumento de la actividad microbiana del suelo es una característica de la aplicación de materiales inestables en los que el proceso anaerobio no logra degradar en su totalidad la fracción más lábil de la materia orgánica y que dicha degradación sucede rápidamente tras su adición al suelo, con el desarrollo de la población microbiana.

La fracción líquida, al contener menor materia orgánica, su efecto en la respiración del suelo fue menor que con los materiales anteriores, sin cambios significativos en el B_C y el B_N con respecto al control. El compost a dosis baja tampoco mostró un efecto significativo en la respiración con respecto al suelo control, debido a su alto grado de madurez (Bernal, 1998b). Sin embargo, si fue capaz de aumentar el B_C a valores similares al digerido y el B_N de forma similar a la fracción sólida. El compost usado en el ensayo se trata de un material estabilizado e higienizado, que cumple con los parámetros de madurez comúnmente utilizados por diversos autores. Según Vargas y Suárez (2008) son tres los factores a través de los cuales el compost ejerce ese efecto estimulante sobre la población microbiana del suelo:

- 1) El aporte de materia orgánica estabilizada contribuye a mejorar las características estructurales del suelo, incrementando de este modo su disposición para actuar como hábitat idóneo para la microbiota edáfica;
- 2) La importante aportación nutricional que supone la incorporación del compost.;
- 3) La propia riqueza microbiana que el compost puede aportar.

Es interesante destacar el efecto que tiene el fertilizante inorgánico, aumentando la respiración del suelo y el B_C como respuesta microbiana al aporte de nutrientes.

Tabla 5.6 Parámetros biológicos determinados en el suelo tras el cultivo de tabaco

Tratamiento	Respiración (mg C-CO ₂ /kg)	B_C (mg/kg)	B_N (mg/kg)
Control	16,3 c	93 d	17 c
F. Líquida	48,6 bc	170 cd	26 bc
F. Sólida	87,3 a	264 bc	33 ab
Compost (dosis 1)	41,4 bc	313 ab	39 ab
Compost (dosis 2)	128 *	1096	118
F. Inorgánica	78,8 ab	201 bc	20 c
ANOVA	*	**	***

NS : No Significativo, *** Significativo a P< 0,001 , ** P<0,01, * P<0,05

*: No incluido en el análisis estadístico

La adición del digerido al suelo promueve una estimulación general de los microorganismos del suelo, con un aumento del metabolismo microbiano, debido al contenido en nutrientes y materia orgánica (Petersen y col., 2003), así como a la presencia de promotores y hormonas (Makádi y col., 2007). La utilización agronómica de dichos digeridos estabilizados se ha demostrado que incrementa la biomasa microbiana del suelo y las actividades enzimáticas, tales como deshidrogenasa, fosfatasa alcalina y β-glucosidasa, aunque el efecto del digerido es menos intenso que con el estiércol sólido, que proporciona mayor cantidad de materia orgánica al suelo (Albuquerque y col., 2012c; Albuquerque y col., 2012a).

Fuchs y col. (2008) y Odlare y col. (2008) también obtuvieron efectos positivos sobre la actividad biológica del suelo después de la adición de un digerido, mientras que de la Fuente y col. (2013) detectaron aumentos significativos de la concentración de carbono y de nitrógeno de la biomasa microbiana tras la adición de la fracción sólida de un digerido procedente de purín vacuno, especialmente a corto plazo. Al final del experimento los distintos tratamientos no mostraron diferencias significativas, lo que sugiere que las poblaciones microbianas recuperaron su equilibrio inicial tras degradar las fracciones orgánicas más lábiles. Similares resultados fueron observados por Johansen y col. (2013), quienes detectaron cambios en la biomasa microbiana de suelo, estructura de la comunidad microbiana y funcionalidad tras la adición de un digerido procedente de purín vacuno y restos vegetales, aunque estos fueron pequeños y transitorios (durante los primeros 9 días tras la aplicación).

El aumento significativo de la biomasa microbiana del suelo tras la adición de enmiendas orgánicas con respecto a los suelos control repercute positivamente en la calidad y productividad del suelo, favoreciendo un óptimo desarrollo del cultivo debido al efecto positivo de las poblaciones microbianas del suelo asociadas a la rizosfera (Fuchs y col., 2008) así como la mejora en las condiciones físico-químicas que permiten el correcto desarrollo de las funciones edáficas.

6. CONCLUSIONES

El estudio realizado mostró que la aplicación de materiales digeridos obtenidos en el proceso de biometanización (digerido bruto, fracción sólida y fracción líquida), tuvo un efecto positivo para el cultivo del tabaco y chumbera, ya que consiguió un mayor desarrollo vegetal de los cultivos que el tratamiento control. Esta mayor producción de biomasa lograda pone de manifiesto las posibilidades de revalorización de los digeridos como fertilizante del tabaco y chumbera destinado a cultivo energético.

Por tanto, desde el punto de vista de un modelo de producción sostenible de producción de biogás, la aplicación como fertilizante de digeridos en un cultivo energético es una opción de gestión viable que permite minimizar los residuos generados en los procesos de co-digestión anaerobia en las plantas de producción de biogás.

En cuanto a la caracterización de los materiales orgánicos digeridos se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Tanto el digerido como sus fracciones sólida y líquida contienen importantes cantidades de nutrientes para las plantas, si bien su principal valor como fertilizante estriba de su contenido en nitrógeno en forma amoniacal. Su reciclado mediante la aplicación a suelos agrícolas es una opción viable y su concentración en nutrientes debe ser tenida en cuenta en los planes de fertilización.
- El proceso mecánico de separación del material digerido supone un efecto de concentración de los nutrientes y de la materia orgánica en la fracción sólida, sin embargo se aprecia como las sales solubles permanecen principalmente en la fracción líquida, provocando un aumento en la CE de la misma.

- La concentración de metales pesados fue baja en todos los materiales analizados, con valores inferiores a los establecidos en la legislación española como límite para su uso agrícola. Se observa que el proceso de separación provoca un efecto de concentración de estos metales en la fracción sólida.
- La composición y grado de estabilidad de los materiales digeridos presentó variabilidad. El digerido Bruto y la fracción sólida del digerido mostraron menor estabilidad microbiológica que la fracción líquida o el compost. Desde el punto de vista agrícola, la aplicación de estos materiales puede provocar diferencias en su potencial fertilizante, condicionado por la estabilidad de su materia orgánica. De este modo, materiales altamente biodegradables no resultan adecuados para su uso agrícola de forma directa, ya que provocan una elevada producción de CO₂, inmovilización de nitrógeno y desnitrificación en el suelo.

En cuanto a su aplicación como abonado de fondo en cultivos energéticos se concluye:

- La aplicación de todos los materiales digeridos, así como del compost de la fracción sólida del digerido provocaron en mayor o menor medida un aumento de la productividad del cultivo con respecto al control, pero en ningún caso comparable a la producción obtenida con la fertilización mineral, por tanto el uso de estos materiales como fertilización de fondo, debe ser complementado con fertilización inorgánica a fin de equilibrar la adicción de nutrientes
- En todos los casos la fertilización orgánica con los diferentes materiales digeridos fue capaz de mantener un correcto desarrollo de las plantas, así como una correcta nutrición a nivel foliar y de macronutrientes (NPK). En este sentido el compost se comportó como el mejor fertilizante seguido del digerido bruto. Sin embargo, estos materiales no son fertilizantes equilibrados, por lo que se produjeron deficiencias en ciertos nutrientes, principalmente de Mg cuando se aplicó el digerido bruto. La fracción líquida del digerido supuso un aporte de nutrientes, principalmente N y K, directamente asimilables por el cultivo, pero su aporte de sales solubles fue superior al resto de los materiales. La aplicación de compost de digerido en alta dosis (en función únicamente de su N asimilable) debe evitarse, ya que supone un aporte excesivo de otros nutrientes, pudiendo producir desequilibrios nutricionales. Todo ello pone de manifiesto la necesidad de conocer la composición de los diferentes materiales digeridos antes de su utilización agrícola y ajustar la dosis de aplicación en

función de esta y de los requerimientos del cultivo, mediante su aplicación como fertilizante de fondo y complementando con fertilizante inorgánico a lo largo del cultivo, evitando así deficiencias de ciertos nutrientes.

En cuanto al efecto de los diferentes tratamientos fertilizantes en las propiedades del suelo que condicionan su fertilidad, y a la vista de los resultados obtenidos, se puede concluir que:

- La adición del digerido y del compost aumentan el COT del suelo, mejorando la biomasa del mismo. Ello va a tener un efecto tanto en las características hidrofísicas como en las propiedades químicas y una mejora de la fertilidad del suelo
- Todos los tratamientos, excepto la fracción líquida del digerido, incrementaron la cantidad de P y K asimilable en el suelo, por lo que su utilización agronómica no solo debe basarse en la cantidad de N aplicada sino también en la cantidad de todos los nutrientes que se suministra.

Por último, la utilización de materiales digeridos para la fertilización de cultivos energéticos como el tabaco y chumbera es una opción factible que permite sustituir los fertilizantes minerales en la fertilización de fondo. Su uso adecuado debe basarse en la concentración de nutrientes que aportan, tanto respecto a su N total y asimilable como en el resto de macro y micronutriente. Esto exige una fertilización complementaria de cobertura durante el desarrollo del cultivo para obtener una óptima nutrición vegetal.

7. BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- Albuquerque, J.A., de la Fuente, C., Bernal, M.P. 2012a.** Chemical properties of anaerobic digestates affecting C and N dynamics in amended soils. *Agric. Ecosyst. Environ.* 160: 15– 22.
- Albuquerque, J.A., de la Fuente, C., Campoy, M., Carrasco, L., Nájera, I., Baixauli, C., Caravaca, F., Roldán, A., Cegarra, J., Bernal, M.P. 2012c.** Agricultural use of digestate for horticultural crop production and improvement of soil properties. *Eur. J. Agronomy* 43: 119-128.
- Albuquerque, J.A., de la Fuente, C., Ferrer-Costa, A., Carrasco, L., Cegarra, J., Abad, M., Bernal, M.P. 2012b.** Assessment of the fertilizer potential of digestates from farm and agroindustrial residues. *Biomass Bioenergy*, 40: 181-189.
- Álvarez, J.A., Otero, L., Lema, J.M., 2010.** A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. *Bioresour. Technol.* 99, 8631-8636
- Anuario de Estadística, 2010.** Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Cap 13. Superficies y producciones de cultivos.
- Bermejo, G. and Ellmer, F. 2010.** Use of dry and wet digestates from biogas plants as fertilizer in the agriculture. *Modern Agriculture in Central and Eastern Europe (MACE)*. In: *Proceedings of Green Week Scientific Conference 2010. Challenges of Education and Innovation*, Berlin, Germany
- Bernal, M.P., Albuquerque, J.A., Bustamante, M.A., Clemente, R. 2011.** Guía de utilización agrícola de los materiales digeridos por biometanización. PROBIOGAS CSIC, España.
- Bernal, M.P., Paredes, C., Sánchez-Monedero, M.A., Cegarra, J. 1998a.** Maturity and stability parameters of compost prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresource Technology* 63, 91-99.
- Bernal, M.P., Albuquerque, J.A. and Moral, R. 2009.** Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource Technology* 100: 5444-5453
- Bernal, M.P., Sánchez-Monedero, M.A., Paredes, C., Roig, A. 1998b.** Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil. *Agriculture Ecosystems and Environment* 69, 175-189.

- Blanco.I. 2000.** Documento; Control integrado de plagas, enfermedades y otros daños en el cultivo de tabaco. CETARSA (Compañía española de tabaco en rama)
- BOE, 2005.** Real Decreto 824/2005, de 8 de Julio, sobre productos fertilizantes. BOE nº 171, de 19 de julio de 2005
- Burton, H. and Turner, C. 2003.** Manure Management. Treatment Strategies for Sustainable Agriculture (second ed.), Silsoe Research Institute, Lister and Durling Printers, Flitwick, Bedford, UK
- CETARSA, 2004,** Compañía española de tabaco en rama, Documento; Tabaco Virginia. Planificación de la cosecha.
- Cirne, D.G.,Lehtonaki, A.,Bjornsson L.2006** Hydrolysis and microbial community analyses in two-stage anaerobic digestion of energy crops. 103, 516-527
- de la fuente, C., Alburquerque J.A., Clemente, R., Bernal M.P. 2012** Soil C and N mineralisation and agricultural value of the products of an anaerobic digestion system. Biol. Fertil. Soils 49,313-322
- de la Fuente, C., Alburquerque, J.A., Clemente, R., Bernal, M.P. 2013.** Soil C and N mineralisation and agricultural value of the products of an anaerobic digestion system. Biology and Fertility of Soils 49, 313-322.
- De Meester, S.,Demeyer,J., Velghe,F.2012.** The enviromental sustainability of anaerobic digestión as a biomasa valorization technology. Bioresource Technology 121 396-403
- Engeli, H., Edelmann, W., Fuchs, J.,Rottermann, K.1993** Survival of plant-pathogens and weed seeds during Anaerobic-Digestion. Water Sciencie Technology.27 69-76
- ESYRCE, 2009.** Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- ESYRCE, 2012.** Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- FEGA-MAPA. 2009.** Fondo español de garantía agraria. Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino. Documento; Contratación del tabaco crudo. Cosecha 2009
- Flores-Valdez, C. 2003.** Importancia del nopal. En: C. A. Flores Valdez (Ed.). Nopalitos y tunas, producción, comercialización, poscosecha e industrialización. 1ª Ed. Univ. Autónoma Chapingo, CIESTAAM. Méjico. pp. 1-18
- Fuchs, J.G., Berner, A., Mayer, J., Schleiss, K., Kupper, T. 2008a.** Effects of compost and digestate on environment and plant production – results of two

research projects. Proceedings of the International Conference ORBIT 2008, 13th - 15th October 2008, Wageningen, The Netherlands, 12 pp.

González, J.A., Blanco, I., Cano, E.L., Gúzman, J.L. 2005. Documento; Guía técnica básica para mejorar la calidad y competitividad del tabaco Virginia español. Cultivadores de tabaco.

Guardo, N. 2008. Documento; Manejo de suelos y fertilización del cultivo. COPROTAB

Holm-Nielsen, J.B., Al Seadi, Toleskowicz-Popiel, P. 2009. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresour. Technol.* 100 5478-5484

IDAE. 2011. Instituto de la Diversificación y Ahorro de Energía. Plan de Energías renovables 2011-2020. Ministerio de Industria, Energía y Turismo

Ingelmo F., Rubio J.L. 2008, Efecto de la aplicación del compost sobre las propiedades físicas y químicas del suelo. Cap 13, 305-329

Inglese, P. 1999. Plantación y manejo de huertos. . Estudio FAO Producción y Protección Vegetal 132. Roma. pp. 82-96.

Johansen, A., Carter, M.S., Jensen, E.S., Hauggard-Nielsen, H., Ambus, P. 2013. Effects of digestate from anaerobically digested cattle slurry and plant materials on soil microbial community and emission of CO₂ and N₂O. *Applied Soil Ecology*, 63: 36- 44.

Lazaro, J. 2000, Documento; El curado del tabaco Burley en España. CETARSA

Lehtomaki, A., Huttunen, S., Rintala J.A. 2007. Laboratory investigations on co-digestion of energy crops and crop residues with cow manure for methane production: Effect of crop to manure ratio. *Resources, Conservation and Recycling*. 51, 591-609.

Llanos, M. 1981 . El tabaco: Manual técnico para el cultivo y curado. Ed. Mundi-prensa, Madrid.

Lopedota, O., Leogrande, R., Fiore, A., Debiase, G., Montemurro, F. 2013. Yield and soil responses of melon grown with different organic fertilizers. *Journal of Plant Nutrition*, 36: 415-428.

Makádi, M., Tomócsik, A., Orosz, V. 2012. Digestate: A new nutrient source – Review. En: S. Kumar (Ed.). *Biogas. InTech*, pp. 295-310.

Makádi, M., Tomócsik, A., Orosz, V., Lengyel, J., Biró, B. & Márton, Á., 2007. Biogázüzemi fermentlé és Phylazonit MC baktériumtrágya hatása a silókukorica zöldtömegére és a talaj biológiai aktivitására. (Effect of digestate and Phylazonit MC on the yield of silage maize and the biological activity of the soil) *Agrokémia és Talajtan* Vol. 56, No. 2, (December, 2008), pp. 367-378.

- MARM.2007.** Ministerio de agricultura, pesca y alimentación Documento;Manual de gestión de buenas prácticas agrícolas para la producción de tabaco en España.
- Meher, K.K.,Pancwagh, A.M., Rangrass, S., et al. 1995. Biomethanation of tobacco waste.** Environmental pollution 90,199-202
- Moral.R., Muro J. 2008.** Manejo,dosificación y gestión agrónomica del compost. Cap 15, 351-379 .COMPOSTAJE. Ed.Mundi-Prensa
- Nobel, P. S. 1994.** Remarkable agaves and cacti. USA Oxford University Ed.New York. pp. 180
- Odlare, M., Pell, M., Svensson, K. 2008.** Changes in soil chemical and microbiological properties during 4 years of application of various organic residues. Waste Management, 28: 1246-1253.
- Orona-Castillo, I., Cueto-Wong, J.A., Murillo-Amador, B., Santamaría-César, J., Flores-Hernández, A., Valdez-Cepeda, R., García-Hernández, J. L., Troyo-Diéguez, E. 2004.** Extracción nutrimental de nopal verdura bajo condiciones de riego por goteo. J. Profess Assoc. Cactus Develop. 6, 90-101.
- Peipei,S, Yang,. B.Yang,. W. Zhang.2012** Experimental study on mesophilic biogas fermentation of tobacco leaf residues.Energy Education Science and Technology. 30 287-292
- Petersen, S.O., Henriksen, K., Mortensen, G.K., Krogh, P.H., Brandt, K.K., Sorensen, J., Madsen, T.,Petersen, J., Gron, C. 2003.** Recycling of sewage sludge and household compost to arable land: Fate and effects of organic contaminants, and impact on soil fertility. Soil Till. Res. 72, 139-152.
- Pimienta, E. 1990.** El nopal tunero. Universidad de Guadalajara. México.
- Sanhlstrom, L. 2003.** A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. Bioresour Technol. 87, 161-166
- Siebert, S., Thelen-Jungling, M. and Kehres, B. 2008.** Development of quality assurance and quality characteristics of compost and digestates in Germany. p. 1-12. In 6th International Conference ORBIT 2008. Moving organic waste recycling towards resource management and biobased economy. Wageningen, The Netherlands
- Smet E., Van-Langenhore H., De-Bo IZ. 1998** Theemissions of volatile compounds during the aerobic and the combine anaerobic/aerobic composting of biowaste. Atmos Environ. 33,1295-1303
- Sudzuki, F., Muñoz, C, Berger, H. 1993.** El cultivo de la tuna (Cactus Pear). Departamento de Reproducción Agrícola. Universidad de Chile

- Tambone, F., Scaglia, B., D'Imporzano, G., Schievano, A., Orzi, V., Salati, S., Adani, F. 2010.** Assessing amendment and fertilizing properties of digestates from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. *Chemosphere*, 81: 577-583.
- Uribe, J. M., Varnero, M. T., Benavides, C. 1992.** Biomasa de tuna (*Opuntia ficus-indica*. L. Mill) como acelerador de la digestión anaeróbica de guano de bovino. *Simiente* 62, 14-18.
- Varnero, M. T., García de Cortázar, V. 1998.** Energy and biofertilizer production: alternative uses for pruning-waste of cactus-pear (*Opuntia ficus-indica*. L.) Mill).(Proceedings. International Symposium «Cactus pear and nopalitos processing and uses». Santiago, Chile.
- Varnero, M. T., López, X. 1996.** Efecto del tamaño y edad de cladodios de tuna en la fermentación metanogénica de guano de bovino. *Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo* 11, 80-89.
- Varnero, M. T., Uribe, J. M., López, X. 1992.** Factibilidad de una biodigestión anaeróbica con mezclas de guano caprino y cladodios de tuna (*Opuntia ficus-indica*. L. Mill). *Terra Aridae* 11, 166-172.
- Varnero, M. T., Uribe, J. M., López, X. 1992.** Factibilidad de una biodigestión anaeróbica con mezclas de guano caprino y cladodios de tuna (*Opuntia ficus-indica* L. Mill). *Terra Aridae* 11, 166-172.
- Walsh,J.J., Davey ,L.J. 2012.** Replacing inorganic fertilizer with anaerobic digestate may maintain agricultural productivity at less enviromental cost. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 175,840-8454

ANEXOS

1. Métodos Analíticos en Suelos

Preparación de las muestras

Las muestras se recogen de la parte superficial del suelo, a una profundidad entre 0 y 20 cm (López-Ritas y López-Melida, 1978) y se dejan secar al aire. Una vez seca la muestra, romper los agregados con un rodillo y tamizar el suelo con un tamiz de 2 mm de luz de malla con el fin de separar los elementos gruesos de los finos. Envasar las muestras en bolsas de plástico de cierre hermético detalladamente etiquetadas, para su almacenaje y posterior análisis.

1.1 Humedad

Fundamento

Determinación del porcentaje de agua con respecto a la muestra húmeda por diferencia de pesadas

Procedimiento

Se pesan aproximadamente 10 g de muestra húmeda (secada al aire) en un pesa sustancias previamente pesado (precisión 0,0001) y se seca en una estufa a 105 °C durante 12 horas. Se deja enfriar en un desecador y se pesa. La pérdida de peso se da como humedad, expresada en porcentaje respecto a peso de muestra húmeda.

$$\%H_2O = \frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_1} \times 100$$

Donde:

- P1: peso del pesa-sustancias sin el suelo
- P2: peso del pesa-sustancias con el suelo fresco
- P3: peso del pesa-sustancias con el suelo seco

1.2 Determinación del pH

Fundamento

Determinación del pH en pasta saturada utilizando un pH-metro con electrodo de vidrio (US Salinity Laboratory Staff, 1954).

Procedimiento

En un frasco de orina/duquesita de 50 ml poner aproximadamente 40 g de suelo, e ir añadiendo lentamente agua destilada mientras se remueve con una varilla de vidrio hasta obtener una pasta lo más homogénea posible. Añadir tanta agua como sea necesaria. Dejar reposar la mezcla 2 horas. Transcurrido ese tiempo medir el pH en un pH-metro con un electrodo de vidrio. Antes de la determinación dejar estabilizar el pH-metro y calibrar con los correspondientes tampones.

1.3 Determinación de la Conductividad eléctrica

Fundamento

Determinación de la conductividad en extracto acuoso mediante un puente de conductividad (Bower y Wilcox, 1965).

Procedimiento

Pesar en un tubo 'falcon' 5 g de suelo y añadir 25 ml de agua destilada (relación 1:5 sólido/líquido). Agitar mecánicamente en un agitador durante 1 hora, centrifugar y filtrar el extracto con un papel de filtro. Determinar la conductividad del extracto con un conductímetro.

1.4 Análisis granulométrico y determinación de la textura

La determinación se basa en la relación entre concentración de partículas en una suspensión acuosa y la densidad de dicha suspensión a una temperatura y en un tiempo dado. Midiendo la densidad de la suspensión a diferentes tiempos de sedimentación, se determina la distribución de partículas, según tamaños. La concentración de sólidos totales en suspensión (g/L), indicada por la escala del densímetro a los cuarenta segundos después de la agitación, corresponde a partículas de diámetro $<20\mu\text{m}$ (arcilla+limo) y a las dos horas corresponde a partículas de diámetro $<2\mu\text{m}$ (arcilla)(Porta,1986).

Reactivos y material:

- Densímetro bouyoucos
- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Hexametáfosfato de sodio (calcón) (1L)

Pesar 37g de hexametáfosfato de sodio y 7,94 g de carbonato de sodio, disolver y enrasar a 1 L

- Carbonato de sodio
- Permanganato de potasio 0,1N (1L)

Pesar 15.083 g de permanganato de potasio, disolver y enrasar a 1L

Procedimiento

a) Destrucción de la materia orgánica

Pesar con exactitud de 30 a 40 gramos de suelo tamizado a 2 mm y seco al aire. Colocar en un vaso de precipitados de 800 ml y añadir 20 ml de agua oxigenada al 305 y 150 ml de agua desionizada, agitar frecuentemente con una varilla de vidrio. Cubrir el vaso con un vidrio de reloj. Verificar por efervescencia que se produce, que hay exceso de agua oxigenada, en caso contrario añadir otros 20ml. En el caso de que se producirse mucha espuma, romper ésta, añadiendo unas gotas de alcohol. Para suelos con mucha materia orgánica, dejar reaccionar toda una noche con el agua oxigenada, antes de aportar calor. Calentar a 80°C en placa calefactora o baño de arena. Durante éste tratamiento térmico, se debe evitar la ebullición y la consistencia pastosa, para ello, añadir agua si fuera necesario. Cuando ha cesado la efervescencia, eliminar el exceso de agua oxigenada calentando unas 2 horas más. La desaparición del agua oxigenada se comprueba mediante la coloración que experimenta el permanganato potásico 0.1N al añadir unas gotas de este reactivo. A continuación dejar enfriar.

b) Dispersión

Pasar la muestra contenida en el vaso, a través del embudo, a una botella de plástico de boca ancha, provista de tapón de rosca y de un litro de capacidad, lavando las paredes del vaso, con porciones de agua desionizada, no sobrepasando los 400-600ml y procurando arrastrar toda la muestra de suelo. A continuación, añadir exactamente 10 ml de disolución dispersante de hexametáfosfato sódico (calcón) y agitar durante 2 horas en un agitador rotativo.

c) Sedimentación

Transcurrido el tiempo de agitación, trasvasar el contenido de la botella a una probeta de 1000 ml provista de tapón, lavando bien las paredes con agua desionizada. Enrasar a un litro y agitar la probeta, con movimientos periódicos de inversión para la homogeneización completa de la suspensión. Dejar reposar la probeta sobre una mesa nivelada y mediante un cronómetro, medir los tiempos de sedimentación. Paralelamente, realizar un ensayo en blanco, consistente en colocar en otra probeta de 1000ml la misma cantidad de disolución dispersante de hexametáfosfato sódico que la añadida a la muestra (10ml) y agua desionizada hasta un litro

d) Medida de densidad

Agitar la probeta, con movimientos de inversión, durante 1 minuto y dejar reposar sobre una mesa nivelada. A continuación, accionar el cronómetro e introducir cuidadosamente, el densímetro en la dispersión. A los cuarenta segundos del cese de la agitación, tomar la primera lectura del densímetro y la temperatura de la suspensión. Seguir el mismo procedimiento para la muestra en blanco. Sacar el densímetro de la suspensión y dejar sedimentar ésta. A las dos horas del cese de la agitación, introducir de nuevo el densímetro y tomar la segunda lectura de la densidad y de la temperatura. Proceder de igual forma para la muestra en blanco. Para calcular los porcentajes de arena y arcilla se utiliza la siguiente ecuación:

$$x(\%) = \frac{(d - d_0) \times (T - 20) \times 0,36}{P} \times 100$$

$$y(\%) = \frac{(d' - d'_0) \times (T' - 20) \times 0,36}{P} \times 100$$

$$\% \text{ arena} = 100 - x$$

$$\% \text{ limo} = x - y$$

$$\% \text{ arcilla} = y$$

Donde:

P= peso de muestra de suelo seco y tamizado(g)

x = porcentaje de limo+ arcilla

y= porcentaje de arcilla

d= densidad de la suspensión (g/L) a los 40 segundos

d'=densidad de la suspensión (g/L) a las dos horas

d₀= densidad de la suspensión (g/L) en el blanco a los 40 segundos

d'₀= densidad de la suspensión (g/L) en el blanco a las dos horas

T= temperatura de la suspensión cuando se realiza la lectura del densímetro a los 40 segundos

1.5 Capacidad de retención hídrica

Fundamento

Determinación de la máxima cantidad de agua que queda retenida en el suelo bajo presión atmosférica (humedad máxima del suelo).

Procedimiento

En un recipiente con orificios en su base, se coloca en el fondo una malla de nylon (para evitar la pérdida de suelo) y se pesan unos 150 g de suelo. El recipiente se coloca en una bandeja y se añade agua destilada en ésta para que el suelo se sature desde su base por capilaridad. Una vez saturado el suelo transcurridas unas horas, se tapa la superficie con un vidrio de reloj o similar (para evitar el secado superficial) y se deja drenar durante aproximadamente 12 horas. Se pesa y se determina la humedad retenida por diferencia de pesadas.

$$CRH = \frac{P3 - P2}{P2 - P1} \times 100$$

Donde:

- P1: peso del recipiente + malla sin el suelo
- P2: peso del recipiente + malla + suelo antes de saturación
- P3: peso del conjunto tras su drenaje

Determinación del porcentaje de agua con respecto a la muestra húmeda por diferencia de pesadas. Para ello se pesan aproximadamente 10 g de muestra húmeda (secada al aire) en un pesa sustancias previamente pesado y se seca en una estufa a 105 °C durante 12 horas. La pérdida de peso se da como humedad, expresada en porcentaje respecto a peso de muestra húmeda. Todos los datos que fueron obtenidos en los distintos métodos analíticos se corrigieron con este valor para referirlos a peso seco.

1.6 Carbono orgánico total (COT), Nitrógeno total (NT).

Fundamento

Medida del CO₂ producido al quemar la muestra a 1020 °C en un analizador elemental, previa destrucción de carbonatos con ácido clorhídrico (Navarro y col., 1993).

Reactivo

- Patrón: 'Soil 1'
- HCl 1:20 y 1:10 v/v

Procedimiento

Se pesan alrededor de 15-20 mg de muestra (finamente molida en mortero de ágata) en una cápsula de estaño con una precisión de 0,001 mg. Eliminar los carbonatos mediante adiciones sucesivas de HCl (1:20, v/v o 1:10, v/v) con una pipeta hasta que no se observe burbujeo. Dejar

secar en estufa a 40 °C durante 12 horas, o hasta que la muestra esté totalmente seca. Se procede al análisis una vez calibrado el analizador con patrón soil1.

El porcentaje de materia orgánica se obtiene multiplicando el porcentaje de carbono orgánico total por el factor 1,724 (Nelson y Sommers, 1982).

1.7 Mineralización de la muestra

Fundamento

Digestión con *aqua regia* de la muestra seca al aire y tamizada a 2 mm en microondas Ethos-1 (Milestone).

Reactivos

- HCl
- HNO₃

Procedimiento

Se pesan 0,2 g de suelo finamente molido (con una precisión de 0.0001g) en un vaso de microondas, y se añaden con dispensador 9 ml de HCl y 3 ml de HNO₃ (relación 3:1 (v/v)). Mezclar cuidadosamente y dejar reposar unos minutos antes de cerrar los vasos. Colocar los vasos en sus respectivas estructuras y cerrar con la llave neumática. Colocar las estructuras dentro del microondas, engancharlas en los resortes y poner la tapa superior para asegurarlas. Las muestras se digieren mediante una rampa de temperatura de 100°C a 200°C 20 minutos, y a 200°C 15 minutos más. Una vez finalizado el programa, se abren cuidadosamente los tubos de microondas bajo campana. Filtran las digestiones en matraces aforados de 25 ml con papel de filtro lavado a ácidos y se enrasa con agua destilada. Guardar las digestiones filtradas en botes de orina de 50 ml.

1.8 Fósforo asimilable (P_{asim})

Fundamento

Extracción y determinación colorimétrica mediante la reducción del complejo fosfomolibdato de amonio con ácido ascórbico (Watanabe y Olsen, 1965).

Reactivos

- Hidróxido sódico 1M
- Bicarbonato sódico 0.5 M, pH = 8,5
- Carbón activo, exento de fósforo
- Molibdato amónico

- Tartrato de antimonio y potasio
- Ácido ascórbico
- Ácido sulfúrico 5M
- Ácido sulfúrico 0.5M
- Fósforo monopotásico

Preparación de disoluciones

- Reactivo A

Disolver 12 g de molibdato amónico en 250 ml de agua destilada. Disolver a por otro lado, 0,2908 g de tartrato de antimonio y potasio en 100 ml de agua destilada y llevar a 1 litro con H₂SO₄ 5 N. Mezclar estas dos disoluciones y completar con agua destilada hasta 2 litros. Conservar en botella de topacio en frigorífico.

- Reactivo B

Disolver 1,056 g de ácido ascórbico en 200 ml de reactivo A (hacerlo diariamente, no conservar más de 24 horas).

- Solución stock de 1000 ppm de P

Disolver 4,3937 g de fósforo monopotásico en 1 litro de agua destilada.

- Solución stock de 5 ppm de P

Diluir 5 ml de la disolución anterior y llevar a un litro con agua destilada.

Procedimiento

Se pesan 2,5 g de suelo, se añade 0,25 g de carbón activo y 25 ml NaHCO₃ 0,5M (relación 1:10 (p/v)). Se agita mecánicamente durante 30 minutos, se centrifuga y se filtra.

Recta de calibración

Prepara a partir de la disolución stock de 1000 ppm de P las disoluciones patrón con una concentración de 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 y 0,7 ppm, añadiendo 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2 y 1,4 ml en tubos de ensayo, 6 ml de agua destilada, 2 ml de reactivo B y enrasando a 10 ml con agua. Mezclar bien y dejar reposar un tiempo comprendido entre 15 minutos y 24 horas.

Determinación del fósforo

Se toman 2 ml del extracto, se añaden 4 ml de agua destilada y ajustar el pH con de H₂SO₄ 0,5N hasta alcanzar un pH 5. A continuación se añaden 2 ml de reactivo B recientemente preparado y agua destilada hasta 10 ml. Se deja reposar un tiempo superior a 15 minutos e inferior a 24 horas. Se mide la absorbancia a la longitud de onda de $\lambda = 696 \text{ nm}$.

1.9 Nitrógeno en forma amónica (N-NH₄⁺)

Fundamento

Medida espectrofotométrica de la intensidad de coloración verde del complejo producido al reaccionar con salicilato sódico en presencia de dicloroisocianurato sódico como fuente de cloro, nitroprusiato sódico como catalizador y citrato sódico como complejante de calcio y magnesio para evitar su precipitación como hidróxidos a valores de pH mayores de 12 (Kempers y Zweers, 1986).

Reactivos

- Salicilato sódico (RA)
- Nitroprusiato sódico (RA)
- Hidróxido sódico (NaOH)
- Dicloroisocianurato sódico
- Citrato sódico
- Cloruro potásico (KCl) 2 M
- Sulfato Amónico ((NH₄)₂SO₄)

Preparación de disoluciones

- Reactivo A
Disolver 7,183 g de salicilato sódico y 20 g de nitroprusiato sódico en agua destilada y enrasar hasta 100 ml. PREPARAR DIARIAMENTE.
- Reactivo B
Disolver 4,0 g de NaOH y 0,5 g de dicloroisocianurato sódico en agua destilada y enrasar a 100 ml.
- Reactivo C
Disolver 9,33 g de citrato sódico y enrasar con agua destilada hasta 100 ml.
- Disolución patrón de 400 ppm de N-NH₄
Pesar 1,880 g de (NH₄)₂SO₄ y llevar a 1000 ml con agua destilada.

Procedimiento

Pesar 3 g de suelo en un tubo 'falcon', añadir 30 ml de KCl 2 M (relación 1:10 p/v). Agitar mecánicamente en agitador durante 2 horas, centrifugar y filtrar con papel lavado a ácidos.

Recta patrón

Preparar en matraces de 200 ml a partir de la disolución patrón de 400 ppm de N-

NH_4^+ disoluciones que contengan exactamente 5, 10, 15, 20 y 25 ppm de nitrógeno en forma amónica echando 2,5 ml, 5 ml, 7,5 ml, 10 ml y 12,5 ml encada uno de ellos y enrasando con agua destilada.

En tubos de ensayo se añaden 0,4 ml de una de las disoluciones patrón, 1,6 ml de reactivo A, 6,4 ml de agua destilada, 0,8 ml de reactivo C y 0,8 ml de reactivo B. Agitar bien la mezcla y dejar reposar en oscuridad para que se produzca el desarrollo del color.

Determinación de nitrógeno en forma amónica

En tubos de ensayo de 10 ml se toman 0,2-2 ml del extracto (en función del amonio que contengan las muestras) y se añaden los mismos reactivos utilizados en la preparación de los patrones en las misas cantidades (1,6 ml de reactivo A, 6,6-4,8 ml de agua destilada, 0,8 ml de reactivo C y 0,8 ml de reactivo B). La mezcla se agita y se deja reposar 45 minutos en oscuridad. Pasado ese tiempo se mide en un espectrofotómetro la absorbancia longitud de onda de $\lambda = 660 \text{ nm}$ y se determina la concentración de N-NH_4^+ respecto a la recta patrón.

1.10 Nitrógeno en forma Nitratos (N-NO_3^-)

Fundamento

Determinación potenciométrica del N-NO_3^- soluble en extracto acuoso mediante electrodo selectivo.

Reactivos

- Ácido bórico (H_3BO_3) 1M
- Sulfato de plata (Ag_2SO_4) 0,05M
- Ácido sulfámico (HOSO_2NH_2) 0,1M
- Sulfato amónico ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) 2M. Electrolito base

Preparación de disoluciones

- Solución stock de 1000 ppm de N-NO_3^-
Pesar 7,128 g de KNO_3 (secado en la estufa a $110 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 horas) y llevar a 1 litro de agua destilada.

Procedimiento

Se pesan 6 g de muestra en un tubo 'falcon' de centrifuga. Añadir 30 ml de agua destilada (calidad miliQ) (relación 1:5 (p/v)) y agitar mecánicamente durante 2 horas, centrifugar y filtrar el sobrenadante con papel lavado a ácidos.

Recta patrón

Los patrones se preparan a partir de la disolución madre en matraces aforados de 25 ml, disoluciones que contengan exactamente 3, 10, 30, 50 y 100 de N-NO_3^- ppm cogiendo: 0,075, 0,25, 0,75, 1,25 y 2,5 ml y enrasando con agua destilada. Añadir 0,25 ml de H_3BO_3 1M y 0,5 ml del electrolito ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) y mezclar bien.

Determinación de nitrógeno en forma de nitrato

Se toman 25 ml de cada extracto y se añaden 0,25 ml de H_3BO_3 y 0,5 ml de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Hacer una prueba añadiendo con una pipeta pasteur unas gotas de Ag_2SO_4 0,05 M para ver si hay turbidez, en tal caso, para evitar interferencias se añaden a cada muestra 0,5 ml. Finalmente se determina el N-NO_3^- con el electrodo selectivo, previamente estabilizado durante 30-40 minutos con una solución de KNO_3 0,01M.

1.10 Potasio asimilable ($\text{K}_{\text{asimilable}}$)

El contenido en macronutrientes asimilables se determina mediante extracción del suelo con agitación, con una disolución de acetato de amonio 1N a pH 7 (Kundsen y col, 1982) y posteriormente, se determinan en el extracto obtenido, mediante espectrometría de absorción atómica.

Reactivos:

- Ácido clorídrico 1:1
- Acetato de amonio 1N pH 7

Pesar 77,08 g de acetato de amonio, disolver en 800 ml de agua desionizada. Ajustar el pH de la disolución hasta 7 mediante adición de Ácido clorhídrico 1:1, HCl, y enrasar a un litro con agua desionizada en matraz aforado. El pH de la disolución debe comprobarse cada vez que se realice el ensayo.

Procedimiento

a) Extracción

Pesar, con precisión de 1 mg, 2 g de suelo seco tamizado a 2 mm ϕ e introducirlos en un bote de plástico resistente de 50 ml . Añadir 20 ml de disolución extractora de acetato de amonio 1N y agitar durante treinta minutos, en un agitador rotativo . A continuación, centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos y filtrar usando doble filtro. Los macronutrientes asimilables se miden como se indica en el apartado 4.15. el contenido de macronutrientes asimilables en una muestra de suelo se calcula mediante la siguiente expresión:

$$M(\text{mg M/kg suelo}) = \frac{C \times 20 \times d}{P}$$

Donde:

C= concentración obtenida en la lectura espectrométrica de absorción atómica (mg/L)

d= factor de dilución

20= volumen de disolución extractora de acetato amonio

P = peso de la muestra de suelo(g)

1.11 Potasio asimilable ($K_{\text{asimilable}}$)

El contenido en macronutrientes asimilables se determina mediante extracción del suelo con agitación, con una disolución de acetato de amonio 1N a pH 7 (Kundsen y col, 1982) y posteriormente, se determinan en el extracto obtenido, mediante espectrometría de absorción atómica.

Reactivos:

- Ácido clorídrico 1:1
- Acetato de amonio 1N pH 7

Pesar 77.08 g de acetato de amonio, disolver en 800 ml de agua desionizada. Ajustar el pH de la disolución hasta 7 mediante adición de Ácido clorhídrico 1:1, HCl, y enrasar a un litro con agua desionizada en matraz aforado. El pH de la disolución debe comprobarse cada vez que se realice el ensayo.

Procedimiento

b) Extracción

Pesar, con precisión de 1 mg, 2 g de suelo seco tamizado a 2 mm ϕ e introducirlos en un bote de plástico resistente de 50 ml . Añadir 20 ml de disolución extractora de acetato de amonio 1N y agitar durante treinta minutos, en un agitador rotativo . A continuación, centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos y filtrar usando doble filtro. Los macronutrientes asimilables se miden como se indica en el apartado 4.15. el contenido de macronutrientes asimilables en una muestra de suelo se calcula mediante la siguiente expresión:

$$M(\text{mg M/kg suelo}) = \frac{C \times 20 \times d}{P}$$

Donde:

C= concentración obtenida en la lectura espectrométrica de absorción atómica (mg/L)

d= factor de dilución

20= volumen de disolución extractora de acetato amonio

P = peso de la muestra de suelo(g)

1.12 Carbono y nitrógeno de la biomasa (B_C y B_N)

Determinación mediante el método de fumigación-extracción según la técnica propuesta por Vance y col. (1987).

Primero se preincuba el suelo (conservado a 4°C con su humedad original y tamizado a 2 mm) para reestablecer su actividad microbiana. Para ello se ajusta la humedad del suelo con agua destilada al 60 % de su capacidad de retención hídrica teniendo en cuenta la humedad del suelo, y se incuba en una cámara de incubación durante 7 días a 26 °C. Una vez realizada la preincubación, se hace una extracción de una parte del suelo con K_2SO_4 0,5 M en relación 1:4 (p/v) agitando mecánicamente durante 2 horas. Se centrifuga, el extracto se filtra por malla sintética y se conserva en congelador hasta su posterior análisis.

La otra parte del suelo preincubado se introduce en un desecador para su fumigación. Para ello se pesan 10 g de suelo en pesa sustancias y se introducen en el desecador junto a un vaso de precipitado con unos 30 ml de cloroformo con unas bolitas de vidrio y cerámica (para controlar la ebullición). El desecador se conecta a vacío y se mantiene durante el tiempo necesario para asegurar que se ha creado una atmósfera saturada de cloroformo. El desecador se deja durante 24 horas en oscuridad. Pasado este tiempo se elimina todo el cloroformo por succión a vacío hasta que no pueda ser detectado. Posteriormente se realiza una extracción con K_2SO_4 0,5 M del mismo modo que para la muestra no fumigada.

En un analizador elemental automático para muestras líquidas se determinan el C orgánico y el N total extraído en las muestras fumigadas y sin fumigar. De acuerdo con Wu y col. (1990) y Jenkinson (1988) el valor de C y N de la biomasa se obtienen según las siguientes expresiones:

$$B_C = 2.22 \times (\mu\text{g C/g suelo fumigado} - \mu\text{g C/g suelo no fumigado})$$

$$B_N = 2.22 \times (\mu\text{g N/g suelo fumigado} - \mu\text{g N/g suelo no fumigado})$$

1.13 Respiración basal

Determinación del CO_2 desprendido durante la respiración de los microorganismos presentes en el suelo tras 10 días de incubación.

Para ello, primeramente se preincuba el suelo conservado a 4°C y con su humedad original (tamizado a 2 mm) para reestablecer su actividad microbiana, procediendo del mismo modo que en la reactivación realizada para la determinación del C y N de la

biomasa (apartado 1.3.1). Posteriormente, se introducen 10 g de suelo (preincubado) en un recipiente de vidrio de cierre hermético de 500 ml de capacidad. En dicho recipiente se introduce además un vial con NaOH de concentración conocida como trampa del CO₂ desprendido. Se incuba en oscuridad a 26 °C durante 10 días. Transcurrido ese tiempo se calcula el CO₂ desprendido mediante la valoración del NaOH presente en los viales con HCl factorado en exceso de BaCl₂ utilizando fenolftaleína como indicador.

2.Métodos Analíticos en Materiales Orgánicos

Preparación de la muestra

La muestra recogida se homogeneiza y se divide en dos porciones. Una de esta submuestra es almacenada y conservada a una temperatura de -16 °C. La otra porción es secada al aire y molida en un molino a través de una malla de 0,5 mm de luz (si existe la posibilidad, en lugar de secar al aire, liofilizar). Sobre la muestra así preparada se realizan los diferentes análisis. La otra fracción fresca de la muestra recogida se muele y homogeneiza en un mezclador Robot-Coupe para análisis del nitrógeno amónico.

2.1 Humedad

Fundamento

Determinación del porcentaje de agua con respecto a muestra húmeda, por diferencia de pesadas, del mismo modo que para las muestras de suelo

Procedimiento

Para su determinación se pesa una cantidad de muestra fresca homogeneizada, generalmente entre 50 y 100 g, en un crisol de peso conocido (secado previamente). Calentar a 105 °C en una estufa durante 24 horas. Dejar enfriar en un desecador y pesar. La pérdida de peso experimentada se acepta como humedad, expresando el porcentaje respecto a peso de muestra húmeda.

Esta misma operación se repite con las muestras liofilizadas (previamente molida)

tomando entre 3 y 6 g de muestra en crisoles de peso conocido para calcular su humedad residual (Humedad operativa) y poder así expresar los resultados analíticos sobre peso seco.

Fundamento

Se toma como cenizas el residuo obtenido de la calcinación de la muestra a 550 °C durante 24 h según el método modificado de Navarro y col. (1993). El contenido en cenizas se expresa en porcentaje respecto de muestra seca.

Procedimiento

Una vez que la muestra ha sido secada a 105 °C para calcular su humedad operativa, se calcina durante 24 horas a 550 °C. Dejar enfriar en un desecador y pesar. El contenido en cenizas se expresa en porcentaje respecto de muestra seca.

2.3 Materia orgánica

Fundamento

Se considera como materia orgánica la pérdida de peso por calcinación a 550 °C de la muestra previamente seca a 105 °C (Navarro y col., 1993).

Procedimiento

Se procede igual que en el apartado anterior. La pérdida de peso se expresa como porcentaje en peso de la muestra seca.

$$100 = \% \text{ cenizas} + \% \text{ MO}$$

2.4 pH

Fundamento

Determinación del pH en extracto acuoso utilizando un pH-metro con electrodo de vidrio (US Salinity Laboratory Staff, 1954).

Procedimiento

En un tubo de centrífuga pesar 2 g de muestra y añadir 20 ml de agua destilada (relación 1:10 p/v). Agitar mecánicamente durante 2 horas. El pH se mide en el sobrenadante con un electrodo de vidrio.

En el caso de purines o digeridos medir el pH directamente sobre la muestra fresca homogeneizada.

2.5 Conductividad eléctrica

Fundamento

Determinación de la conductividad en extracto acuoso mediante un puente de conductividad.

Procedimiento

Se determina sobre el extracto anterior (extracto acuoso 1:10 p/v), previamente centrifugado y filtrado, con un puente de conductividad. En el caso de residuos líquidos se determina directamente sobre la muestra fresca homogeneizada.

2.6 Carbono orgánico total (COT) y Nitrógeno total (NT)

Fundamento

Medida del CO₂ producido al quemar la muestra a 1020°C en un analizador elemental, previa destrucción de carbonatos con ácido clorhídrico (Navarro y col., 1991).

Procedimiento

Se utiliza el mismo procedimiento que para suelos. Se pesan 1–2 mg de muestra (finamente molida en mortero de ágata) en una cápsula de estaño con una precisión de 0,001 mg. Eliminar los carbonatos mediante adiciones sucesivas de HCl (1:20, v/v o 1:10, v/v) con una pipeta hasta que no se observe burbujeo. Dejar secar en estufa a 40 °C durante 12 horas, o hasta que la muestra esté totalmente seca. Se procede al análisis una vez calibrado el analizador con patrón atropina.

En el caso de residuos líquidos introducir entre 100-200 µl en una cápsula de estaño a la que se le ha adicionado previamente un absorbente inerte de tierra sílicea y se procede del mismo modo que con los materiales sólidos.

2.7 Nitrógeno en forma de nitratos (N-NO₃⁻)

Se procede de igual forma que para suelos. (Apartado 1.9)

2.8 Nitrógeno en forma amónica (N-NH₄⁺)

Fundamento

Extracción con cloruro potásico y determinación colorimétrica del N-NH₄⁺ del extracto (Sommers y col, 1992). En el caso de los materiales líquidos el N-NH₄⁺ se determina mediante destilación de NH₃ en medio alcalino (MgO) mediante corriente de vapor, recogién dose en una solución de ácido bórico y valorándose con H₂SO₄.

* MATERIALES SÓLIDOS: determinación colorimétrica

La determinación se realiza mediante medida espectrofotométrica de la intensidad de coloración del complejo producido por la reacción de Berthelot, usando salicilato sódico en presencia de dicloroisocianurato sódico como fuente de cloro, nitroprusiato sódico como catalizador y citrato sódico como complejante de calcio y magnesio, para evitar su precipitación como hidróxidos a valores de pH mayores de 12 en que sucede la reacción (Kempers y Zweers, 1986).

Reactivos

- KCl 2 M.
- (NH₄)₂SO₄.
- Reactivo A (se prepara el mismo día):
 - Salicilato sódico 7,813 g.
 - Nitroprusiato sódico 20 mg.
 - Agua destilada hasta 100 ml.
- Reactivo B:
 - Dicloroisocianurato sódico 0,5 g.
 - NaOH 4,0 g.
 - Agua destilada hasta 100 ml (pH 13).
- Reactivo C:
 - Citrato sódico 9,33 g/100 ml.

Procedimiento

Se realiza una extracción de la muestra fresca con KCl 2 N en proporción 1:20, sólido/líquido. Se agita mecánicamente durante 2 horas, se centrifuga y se filtra con papel lavado a los ácidos.

Curva patrón

Se pesan 1,88 g de sulfato amónico, se disuelven y se llevan a 1000 ml con agua destilada. Esta disolución contiene 400 ppm de nitrógeno en forma amónica. Se preparan

nuevas disoluciones que contengan exactamente 5, 10, 15, 20 y 25 ppm de nitrógeno en forma amónica, respectivamente. En matraces aforados de 25 ml se toma 1 ml de las disoluciones anteriores, 4 ml de reactivo A, 2 ml de reactivo C, agua destilada hasta aproximadamente 20 ml, 2 ml de reactivo B y se enrasa hasta 25 ml con agua destilada. Estas disoluciones contienen 5, 10, 15, 20 y 25 µg de nitrógeno en forma amónica.

Los matraces se mezclan bien y se dejan en reposo en la oscuridad durante 45 minutos, para un adecuado desarrollo del color. Pasado este tiempo, se mide la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 660 nm.

Determinación del N-NH₄⁺

Se toman de 0,2-2 ml del extracto de cloruro de potasio, dependiendo de la concentración de nitrógeno en forma amónica que se espera contenga la muestra, se añaden los mismos reactivos que para la recta patrón y en el mismo orden y se completa con agua destilada hasta 25 ml en matraz aforado. Se mezcla bien y se procede de igual forma que para la recta patrón. La concentración de N-NH₄⁺ se calcula según su absorbancia respecto de la recta patrón.

* MATERIALES LÍQUIDOS

Destilación de NH₃ en medio alcalino (MgO) mediante corriente de vapor.

Reactivos

- MgO
- Ácido bórico al 2%
- HCl

Procedimiento

Se pesan de 2 a 4 g del residuo fresco con una precisión de 0,0001 g en matraces Kjendahl de destilación. Se añade 0,2 g de alcalinizante MgO y 20 ml de agua destilada. Se destila con arrastre de vapor recogándose sobre 50 ml de ácido bórico hasta aproximadamente 200 ml. Valorar con ácido clorhídrico factorado hasta un pH = 4,8.

2.9 Mineralización de la muestra

Fundamento

Digestión del material con peróxido de hidrógeno y ácido nítrico

Reactivos

- H₂O₂
- HNO₃

Procedimiento

Se pesan entre 0,100 y 0,200 g del material (con una precisión de 0,0001g) en un vaso de microondas, y se añaden con dispensador 2 ml de H₂O₂ esperar unos minutos y añadir 8 ml de HNO₃. Mezclar cuidadosamente y dejar reposar unos minutos antes de cerrar los vasos. Colocar los vasos en sus respectivas estructuras y cerrar con la llave neumática. Colocar las estructuras dentro del microondas, engancharlas en los resortes y poner la tapa superior para asegurarlas. Las muestras se digieren mediante una rampa de temperatura de 0 a 170°C durante 10 minutos y a 170°C 15 minutos más. Una vez finalizado el programa, se abren cuidadosamente los tubos de microondas bajo campana. Filtran las digestiones en matraces aforados de 25 ml con papel de filtro lavado a ácidos y se enrasa con agua destilada.

3. Métodos Analíticos en Plantas

Preparación de la muestra

Las plantas se cortan para separarlas de las raíces y se pesan para obtener el peso fresco. Se lavan primero con agua corriente para separar la mayor parte de las sustancias extrañas y después con agua destilada. Se secan en estufa de aire forzado a 60 °C, se pesan para obtener el peso seco y por último se muelen. Las muestras se guardan en desecador hasta su análisis.

En el caso de las raíces, se lavan bien con agua corriente, se dejan 10-15 minutos sumergidas en una disolución de CaCl₂ 5 mM para eliminar los cationes adsorbidos, se lavan con agua destilada y se secan y muelen de la misma forma que el resto de la planta.

3.1 Carbono orgánico total (COT) y Nitrógeno total (NT)

Determinación del carbono orgánico total y del nitrógeno total mediante analizador elemental empleando el mismo método que para residuos orgánicos (apartado 2.6).

3.2 Mineralización de la muestra

Fundamento

Digestión del material con peróxido de hidrógeno y nítrico. Se procede de igual forma que para residuos orgánicos.

Reactivos H_2O_2

- HNO_3

Procedimiento

Se pesan entre 0,1 y 0,2 g del material (con una precisión de 0,0001g) en un vaso de microondas, y se añaden con dispensador 2 ml de H_2O_2 esperar unos minutos y añadir 8 ml de HNO_3 . Mezclar cuidadosamente y dejar reposar unos minutos antes de cerrar los vasos. Colocar los vasos en sus respectivas estructuras y cerrar con la llave neumática. Colocar las estructuras dentro del microondas, engancharlas en los resortes y poner la tapa superior para asegurarlas. Las muestras se digieren mediante una rampa de temperatura de 0 a 170°C durante 10 minutos y a 170°C 15 minutos más. Una vez finalizado el programa, se abren cuidadosamente los tubos de microondas bajo campana. Filtran las digestiones en matraces aforados de 25 ml con papel de filtro lavado a ácidos y se enrasa con agua destilada. Guardar las digestiones filtradas en botes de orina de 50 ml.

3.3. Medida clorofila (SPAD)

El contenido en clorofila de las hojas se determinó mediante lectura directa con el medidor Minolta SPAD 502 plus



Fig A₁. Detalle de la medida de clorofila en hoja

4. Análisis Estadístico

Con el fin de evaluar la significación de las diferencias entre las medias de cada parámetro determinado, los resultados analíticos se sometieron a un ANOVA y al test de Tukey a $p < 0,05$. Cuando se contaba con más de un factor se realizó un ANOVA de dos vías (modelo lineal general univariante) para evaluar la significación del efecto de cada uno de los factores por separado así como de su intersección. Previamente a la aplicación del ANOVA, se evaluó la normalidad de cada variable mediante el test Kolmogorov-Smirnov, transformando los datos cuando era necesario para asegurar la normalidad de los mismos. Adicionalmente, se aplicó el test-t para muestras relacionadas con el fin de estudiar la evolución de las variables y poder cuantificar los incrementos producidos con el tiempo en dichas variables.

La relación entre las diferentes variables se realizó mediante correlaciones de Pearson. La integración de las variables y simplificación aportada por las distintas variables se realizó aplicando análisis de componentes principales (ACP) con rotación varimax. Todos estos análisis estadísticos se llevaron a cabo con el paquete estadístico SPSS 19.0 (SPSS Inc.).

estándar y los parámetros estadísticos de la media de los residuales (RMS) y el factor F de la ANOVA, con los que se obtuvo la bondad del ajuste del modelo.