

CRECIMIENTO, RENDIMIENTO, METALES PESADOS Y MICROORGANISMOS EN SUELO Y FRUTOS DE NOGAL PECANERO FERTILIZADOS CON BIOSÓLIDOS*

GROWTH, YIELD, HEAVY METALS AND MICROORGANISMS IN SOIL AND FRUIT OF PECANS FERTILIZED WITH BIOSOLIDS

Socorro Héctor Tarango-Rivero^{1§}, María Teresa Alarcón-Herrera² y Erasmo Orrantía-Borunda²

¹Campo Experimental Delicias. INIFAP. Carretera Delicias-Rosales, km 2. Delicias, Chihuahua, México. ²Centro de Investigación en Materiales Avanzados, A. C. Complejo Industrial Chihuahua, Miguel de Cervantes 120, Chihuahua, Chihuahua, México. (teresa.alarcon@cimav.edu.mx), (erasmo.orrantia@cimav.edu.mx). [§]Autor para correspondencia: starango@uach.mx.

RESUMEN

La aplicación de biosólidos digeridos anaeróbicamente como fuente de nutrientes para el nogal pecanero, *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch, cultivar Western, fue evaluado por tres años. Las yemas crecieron un 16% más y la producción de nueces por árbol fue 11.3% mayor en el tratamiento con biosólidos en un promedio de tres años. La acumulación de As, Cd, Cr, Hg, Ni y Pb en el suelo debido a los biosólidos fue muy baja y de acuerdo con la norma de EE.UU., la concentración máxima permitida se alcanzará en 34 años. Las cantidades de Cd, Cr, Ni y Pb en la nuez estaban debajo de los límites detectables. El As y Hg se detectaron en cantidades muy pequeñas y estuvieron por debajo de los límites permitidos para nueces en el Reino Unido. Durante la pre-cosecha, en suelos fertilizados con biosólidos y en las nueces que tuvieron contacto con biosólidos, no se detectó la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp.

Palabras clave: *Carya illinoensis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., metales pesados.

ABSTRACT

The application of anaerobically digested biosolids as a nutrient source for the pecan *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch, cultivar Western, during three years was evaluated. The bearing shoot grew 16% more and nut production per tree was 11.3% higher in the biosolid treatment, on a three-year average. The accumulation of As, Cd, Cr, Hg, Ni and Pb in soil due to biosolids was very low and according to the U.S. standard, the maximum allowable concentration would be reached in 34 years. Quantities of Cd, Cr, Ni and Pb in the kernel were below detection limits. As and Hg were found in very small quantities, and were below the limits allowed for nuts in the United Kingdom. During the preharvest, in soil fertilized with biosolids and in nuts which had contact with biosolids, the presence of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. were not detected.

Key words: *Carya illinoensis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., heavy metals.

INTRODUCCIÓN

El nogal pecanero, *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch, cultivar Western es el árbol frutal caducifolio más importante de México, en donde se cultivan 84 429 hectáreas (SAGARPA, 2009). Durante el cultivo, el fertilizante es el insumo más caro de la producción y constituye el 25% de los costos de cultivo (Sparks, 1991; FIRA, 2009). Para que un nogal pueda crecer y producir adecuadamente, debe suministrársele un conjunto equilibrado de nutrientes: N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Fe, Mn, B, Cl y Na (Sparks, 1989; Smith, 1991). En los huertos de nuez, el fertilizante convencional NPK (CF) puede ser parcial o totalmente remplazado por biosólidos (BS), un producto de muy bajo costo, derivado de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Los BS son una valiosa fuente de N, P, Zn, Cu, Mn y materia orgánica. La incorporación de BS en el suelo mejora las propiedades físicas, la actividad biológica y la fertilidad del suelo (Tester, 1990; Sullivan, 1998).

En México, una vez que el reglamento de agua potable (NOM-001-ECOL-96) se cumple a nivel nacional, alrededor de 650 000 t de BS secos se producen cada año (Jurado *et al.*, 2004). En el estado de Chihuahua, cuatro plantas de tratamiento de aguas residuales producen 2 930 t de BS secos por mes (Flores, 2007). Si este subproducto no es aprovechado o reciclado, al ser depositado en vertederos ocuparán espacio, atraerá roedores e insectos vectores; contaminará el suelo y mantos subterráneos con compuestos orgánicos, microbios patógenos, metales pesados, nitratos y sales y el aire con metano. La incineración de BS contribuye a la contaminación atmosférica por la emisión de CO₂, dioxinas y metales (USEPA, 1995; 1999).

Sin embargo, la aplicación de BS a suelos agrícolas tiene sus riesgos, que incluyen la acumulación de metales pesados, nitratos y sales y la contaminación por organismos patógenos y parásitos (Chaney *et al.*, 1992; McBride, 1995). Todo esto depende en gran medida de la calidad de los BS; los BS de alta calidad no suelen causar problemas (USEPA, 1995). En el presente estudio, los BS fueron evaluados como una fuente alternativa de nutrientes a los fertilizantes inorgánicos para nogales, que tiene como objetivo determinar el efecto de la aplicación de biosólidos en el contenido de metales pesados y microorganismos en el suelo calcáreo y en dos tejidos del fruto del nogal.

INTRODUCTION

The pecan *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch, cultivar Western, is the most important deciduous fruit tree in México, where 84 429 ha plantations are cultivated (SAGARPA, 2009). During cultivation, fertilizer is the most expensive input to production and constitutes 25% of cultivation costs (Sparks, 1991; FIRA, 2009). In order for a pecan to grow and produce appropriately, it should be supplied with a balanced set of N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Fe, Mn, B, Cl and Na nutrients (Sparks, 1989; Smith, 1991). In pecan orchards, conventional NPK fertilizer (CF) can be partially or completely replaced by biosolids (BS), a very low-cost by-product of wastewater treatment plants. BS is a valuable source of N, P, Zn, Cu, Mn, and organic matter. Incorporation of BS in soil improves the physical properties, biological activity, and fertility of the soil (Tester, 1990; Sullivan, 1998).

In Mexico, once the clean water regulations (NOM-001-ECOL-96) are fulfilled at a national level, around 650 000 t of dry BS will be produced each year (Jurado *et al.*, 2004). In the Chihuahua State, four wastewater treatment plants produce 2 930 t of dry BS per month (Flores, 2007). If this by-product is not taken advantage of or recycled, depositing it in landfills will occupy space, attract rodents and vector insects; pollute the soil and subsurface mantles with organic compounds, pathogenic microbes, heavy metals, nitrates and salts, and the air with methane. The incineration of BS contributes to atmospheric pollution by emitting CO₂, dioxins, and metals (USEPA, 1995; 1999).

Nevertheless, applying BS to agricultural soils has risks which include the accumulation of heavy metals, nitrates and salts, and contamination by pathogenic organisms and parasites (Chaney *et al.*, 1992; McBride, 1995). All of this depends to a great extent on the quality of the BS; high-quality BS does not typically cause such problems (USEPA, 1995). In the present study, BS were evaluated as an alternative nutrient source to inorganic fertilizer for pecans, which objective to determine the effect of biosolid application on heavy metal content and microorganisms in calcareous soil and in two tissues of the pecan fruit.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en Delicias, Chihuahua; en 2004, 2005 y 2006, en el huerto Rancho Trincheras. El material vegetal fue la variedad Western, en producción y con ocho años al inicio del estudio. Los árboles se encuentran a una distancia de 12*12 m y cada uno cuenta con 100 litros por hora para el riego con micro-aspersión. El suelo es de una textura grumosa, arenosa, muy pobre en materia orgánica (0.34%), pH= 8.4 y con baja salinidad (CE= 0.87 dS m⁻¹).

Diseño experimental. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Cada árbol de nuez fue una repetición y a cada uno se le asignó un tratamiento de acuerdo a la similitud del diámetro de su tronco. Los siguientes tratamientos fueron evaluados cada año: 1) la fertilización inorgánica convencional. Fue utilizada la fórmula 45-15-15 g cm⁻¹ del diámetro del tronco; el 15 de marzo, se aplicó el 50% del N y todo el P y K, y el 15 de mayo el 50% restante de N. Se utilizaron como fuente al nitrato de amonio, fosfato monoamónico y el nitrato de potasio; y 2) fertilizados con BS. Fue utilizado material de biosólidos de la planta del norte de la ciudad de Chihuahua.

Para calcular una dosis de biosólidos, igual a 45 gN cm⁻¹ de diámetro del tronco, se tomaron en cuenta el contenido de nutrientes y la humedad y, se asumió una mineralización del 50% de N para el primer año. Los biosólidos fueron esparcidos en la zona de riego por aspersión y se incorporaron con un rastrillo. El análisis de metales pesados de los biosólidos se presenta en el Cuadro 1. Durante los tres años, la dosis de fertilizante de biosólidos fue relativamente baja. Los árboles de 8, 9 y 10 años de edad recibieron una dosis seca-base de 2.41, 2.76 y 3.1 t ha⁻¹, respectivamente. Los BS se clasificaron como un “tipo excelente” por su baja concentración de metales pesados y de “clase C” por su contenido de microorganismos el primer y segundo año; el tercer año fueron clasificados como “clase A”, (SEMARNAT, 2002).

Variables

Crecimiento y rendimiento. La longitud de los brotes se evaluó en junio (una yema por cuadrante de nogal a una altura de 1.5 m). En octubre, el rendimiento fue pesado (kg de nueces por árbol).

MATERIALS AND METHODS

This study was carried out in Delicias, Chihuahua; during 2004, 2005 and 2006, in the Rancho Trincheras orchard. The plant material was the cultivar Western of pecan, in production and eight years old at the beginning of the study. The trees are planted at a distance of 12*12 m and with each one having a 100 liters per hour microsprinkler for watering. The soil is of a crumbly, sandy texture, very poor in organic matter (0.34%), pH= 8.4 and with low salinity (CE= 0.87 dS m⁻¹).

Experimental design. A completely random design was used with four replicates per treatment. Each pecan tree was a repetition and each tree was assigned to each treatment according to the similarity of trunk diameter. The following treatments were evaluated each year: 1) conventional inorganic fertilizing. The formula 45-15-15 g cm⁻¹ of trunk diameter was used. On March 15, 50% of the N and the entire P y K, and on May 15 the remaining 50% of the N were applied. Ammonium nitrate, monoammonium phosphate, and potassium nitrate were used as the source; 2) fertilized with BS. Biosolid material from the Northern plant of Chihuahua City was used.

In order to calculate a biosolid dose equal to 45 gN cm⁻¹ of trunk diameter, the nutrient content and humidity were taken into account and a mineralization of 50% N was assumed the first year. The biosolid was spread in the sprinkling area and incorporated with a rake. Heavy metal analysis of the biosolids are given in Table 1. During the three years, the biosolid fertilizer dose was comparatively low. Trees of 8, 9, and 10 years of age received a dry-base dose of 2.41, 2.76 and 3.10 t ha⁻¹, respectively. The BS were classified as an “excellent type” for their low heavy metal concentration and as “class C” for their microorganism content the first and second years; they were classified as “class A” the third year (SEMARNAT, 2002).

Variables

Growth and yield. The length of the bearing shoots was evaluated in June (one shoot per quadrant of pecan at a height of 1.5 m). In October, the yield was weighed (kg of nuts for tree).

Heavy metals (HM) concentration in soil. Each year and at the end of the vegetative cycle, soil samples were analyzed in order to measure its HM concentration. Soil samples

Cuadro 1. Salinidad, materia orgánica, nutrientes, metales pesados y concentración de microorganismos de biosólidos* utilizados en este estudio, en tres años.

Table 1. Salinity, organic matter, nutrients, heavy metals and microorganisms concentration of biosolids used in this study, in three years.

Element	2004	2005	2006
pH	7.3	7.2	7.4
EC (dS/m)	2.72	2.72	4.25
OM (%)	36.5	39.3	35.4
N	3.51	3.14	3.01
P	1.48	1.33	1.2
K	0.26	0.23	0.19
Ca	4.11	5.33	0.7
Mg	0.76	0.67	1.1
Zn (mg kg ⁻¹)	1706	2 250	1 170
Fe	6150	5 900	6 620
Cu	152	164	110
Mn	230	312	147
As (mg kg ⁻¹)	12	15.4	nd
Cd	0.79	2.2	1.99
Cr	69.4	129	32
Hg	1.17	0.67	1.51
Ni	16.9	16.7	14.9
Pb	109.1	67.4	42.7
FC (NMP g ⁻¹)	35 200	150 000	580
<i>Salmonella</i> sp.	5.7	nd	nd
HE (org g ⁻¹)	0	0.7	0

*=from the northern treatment plant of Chihuahua City; FC= fecal coliform; HE= helminth egg; nd= not detected.

Concentración en suelo de metales pesados (MP). Cada año y al final del ciclo vegetativo, las muestras de suelo fueron analizadas para medir su concentración de MP. Las muestras de suelo fueron tomadas a una profundidad de 0-30 cm en el centro de la zona de goteo de cada árbol; se hicieron tres muestras compuestas por tratamiento. Las muestras secas, tamizadas y homogeneizadas a 100 mallas, se digirieron con HNO₃. En el caso de Al, que es un elemento inerte en su forma oxidada, se usó la digestión asistida por microondas. Al, Cd, Cr, Ni y Pb se determinaron por espectrometría de absorción atómica (AAS). El As y Hg se determinaron con la misma técnica y usando un generador de hidruros (AA-HG) como un método de introducción de muestras (Briggs y Meier, 1999).

Concentración de MP en los tejidos vegetales. Cada año, durante la cosecha fueron recogidas 10 nueces por árbol, separando la cáscara y semilla en cada nuez. Se realizaron tres muestras compuestas de 40 semillas y 40 cáscaras por tratamiento. Las cáscaras se secaron a la sombra y su superficie exterior se limpió con un cepillo de cerdas de plástico. Fueron

were taken at a depth of 0-30 cm at the center of the dripping zone of each tree; three compound samples were formed per treatment. The dry samples, sieved and homogenized at 100 mesh, were digested with HNO₃. In the case of Al, which is an inert element in its oxidized form, microwave assisted digestion was used. Al, Cd, Cr, Ni and Pb were determined by atomic absorption spectrometry (AAS). As and Hg were determined by the same technique and by using a hydride generator (AA-HG) as a sample introduction method (Briggs and Meier, 1999).

HM concentration in plant tissues. Each year, during the harvest, 10 nuts per tree were gathered, and the shuck and its kernel were separated from each nut. Three samples composed of 40 kernels and 40 shucks per treatment were made. The shucks were dried in the shade and their outside surfaces were cleaned with a plastic bristle brush. They were ground with a Moulinex® grinder with stainless steel arms and a plastic cup and stored in wax-paper bags. The kernels were finely chopped with a stainless steel knife on a bond-paper-lined board and stored in wax-paper bags. The shucks and kernels were digested with HNO₃. Detection limits were estimated and Al, Cd, Pb, Hg, Cr, Ni, and As concentrations were determined by AAS. For the As and Hg analysis, the samples were introduced by the AA-HG method (Hageman and Welsch, 1996).

Microorganism determination in nut and soil. Each year, in October (before the harvest), two nuts from each tree were placed in the soil for two days, and put into sterilized glass jars (in an autoclave for 30 min at 120 °C) and hermetically sealed. The presence of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. affixed to the nut's shell and in the soil fertilized by BS was determined. The soil sample was taken at a depth of 0-3 cm in the center of the dripping zone of each tree. In both cases, three samples composed by treatment, in an area of the orchard 60 m away from the sites where biosolids were applied, were made. The analysis was done in accordance to the Official Mexican Standard NOM-114-SSA1-1994.

Statistical analysis. The data were analyzed by a t-test. When the heavy metals analysis in plant tissue and soil determined that an element was "not detected", it was given a value of zero for the variable analysis. Data of elements with values less than 1 and those which included zeros were transformed through the equation $\sqrt{X+0.5}$ before statistical analysis (Steel y Torrie 1985). The statistical packet SAS 8.2 was used (SAS Institute, 2001).

molidas con un molinillo de Moulinex® con aspas de acero inoxidable y un vaso de plástico y, se almacenaron en bolsas de papel de cera. Finamente, las semillas fueron picadas con un cuchillo de acero inoxidable sobre una tabla forrada con papel bond y se almacenaron en bolsas de papel de cera. Las cáscaras y los granos se digirieron con HNO₃. Se estimaron los límites de detección, se determinaron las concentraciones de Al, Cd, Pb, Hg, Cr, Ni, y As como se determina por AAS. Para el análisis de As y Hg, las muestras fueron introducidas por el método de AA-HG (Hageman y Welsch, 1996).

Determinación de microorganismos en la nuez y suelo.

Cada año, en octubre (antes de la cosecha), dos nueces de cada árbol se colocaron en el suelo durante dos días y se colocaron en frascos de vidrio esterilizados (en un autoclave durante 30 minutos a 120 °C) y se sellaron herméticamente. Se determinó la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. en la cáscara de la nuez y en el terreno abonado con BS. La muestra de suelo fue tomada a 0-3 cm de profundidad en el centro de la zona de goteo de cada árbol. En ambos casos se tomaron tres muestras compuestas, por tratamiento, en una zona de la huerta a 60 metros de donde se aplicaron los biosólidos. El análisis se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994.

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados por un test-T. Cuando el análisis de metales pesados en tejidos de la planta y el suelo determinaba que un elemento “no era detectado”, se le asignaba un valor de cero al análisis de las variables. Los datos de los elementos con valores inferiores a 1 y los que incluían ceros fueron transformados usando la ecuación $\sqrt{X+0.5}$ antes del análisis estadístico (Steel y Torrie 1985). Se utilizó el paquete estadístico SAS 8.2 (SAS Institute, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento y rendimiento

En dos de los tres años y en el promedio final, los nogales con BS tuvieron un tamaño de yema significativamente mayor que los árboles fertilizados; en promedio, los brotes de los nogales bajo el tratamiento orgánico crecieron 16% más (Cuadro 2). Debido que la fase de crecimiento de los brotes es muy corto en los nogales, el suministro adecuado de nutrientes tiene un efecto determinante sobre su vigor (Marquard, 1990). Esto significa que la mineralización de biosólidos es suficiente para proporcionar los nutrientes

RESULTS AND DISCUSSION

Growth and yield

In two out of three years and in the final average, pecans amended with BS had a bearing shoot size significantly higher than that of the fertilized trees; on the average, the shoot of pecans under the organic amendment grew 16% more (Table 2). Because the shoot growth phase is very short on bearing pecans, adequate supply of nutrients has a determinant effect on their vigor (Marquard, 1990). This means that the biosolid mineralization is enough to provide the nutrients demanded by the short but intense elongation period of the bearing shoot. The organic amendment favored shoot growth within the range for maximum productivity in the Western variety, which is between 15 and 30 cm length (Storey, 1990).

Cuadro 2. Largo de los brotes (LBS) de nogales fertilizados con fertilizantes NPK y con biosólidos durante tres años. Delicias, Chihuahua.

Table 2. Bearing shoot length (BSL) of pecans fertilized with NPK fertilizers and with biosolids during three years. Delicias, Chihuahua.

Treatment	BSL (cm)			\bar{X}
	2004	2005	2006	
Fertilizers	16.7	19.3	12.7	16.2
Biosolids	22.7	23.4	11.9	19.3
Pr> F	0.006	0.012	0.519	0.016

Nut production was statistically alike between pecans amended with BS and those receiving fertilizer (Table 3); nonetheless, yield was always bigger in the first group, an 11.3% more on the annual average. In an important way, annual productivity of a pecan tree depends on adequate N supply during the phenological phases of shoot growth and kernel filling (Wood, 2002). From the above it can be deduced that BS incorporated into an orchard soil can provide enough nutrients, particularly N, during the critical stages of pecan development to sustain an adequate production of pecan nuts every year.

Heavy metals in soil

Table 4 shows the degree of heavy metals accumulation with the most potential for toxicity to plants and herbivores after three years of applying BS. It was found that the accumulation

exigidos por el periodo de elongación-corto pero intenso del brote. El mejoramiento orgánico favoreció el crecimiento de brotes en el rango de máxima productividad en la variedad Western que se encuentra entre 15 y 30 cm de longitud (Storey, 1990).

La producción de nueces fue estadísticamente igual entre los nogales modificados con BS y los que recibieron fertilizantes (Cuadro 3); sin embargo, el rendimiento fue siempre mayor en el primer grupo, 11.3% más al año, en promedio. De manera importante, la producción anual de un árbol de nuez depende del aporte adecuado de N durante las fases fenológicas de crecimiento de los brotes y llenado de grano (Wood, 2002). De lo anterior se deduce que los BS incorporados a un suelo del cultivo proporcionan suficientes nutrientes, especialmente N durante las etapas críticas del desarrollo de la nuez, para mantener una producción adecuada de nueces pecanas cada año.

Cuadro 3. Rendimiento de nueces pecanas fertilizadas con NPK y biosólidos durante tres años. Delicias, Chihuahua.

Table 3. Nut yield of pecans fertilized with NPK fertilizers and biosolids during three years. Delicias, Chihuahua.

Treatment	Yield (kg tree ⁻¹)			\bar{X}
	2004	2005	2006	
Fertilizers	4.39	11.15	9.56	8.37
Biosolids	4.99	12.91	10.41	9.44
Pr> F	0.597	0.349	0.682	0.504

Metales pesados en el suelo

El Cuadro 4 muestra el grado de acumulación de metales pesados con mayor potencial de toxicidad, para plantas y herbívoros a los tres años de aplicar los BS. Se encontró que la acumulación de PM fue un proceso lento, debido que los BS utilizados tenían un bajo contenido de PM (Cuadro 1) y la dosis relativamente baja en la que se aplicaba. La tasa mediana anual de acumulación (mg kg⁻¹ de suelo), debido a los fertilizantes biosólidos fue de As 1.75, Cd 0.04, Cr 8.1, Hg 0.05, Ni 0.06 y Pb 4.3.

Con estos datos y usando la más estricta norma de referencia, que es de la Comunidad Europea (McGrath *et al.*, 1995), el número de años que se necesitan para alcanzar la concentración máxima admisible (CMA) en suelos agrícolas de cada PM, sería: Cd 25-75, Cr 12.3-18.5, Hg 20-30, Ni 500-1 250 y Pb 11.6-69.7. Si como referencia se usa la norma

of HM was a slow process, due to the fact that the BS used had a low HM content (Table 1) and the relatively low dose at which it was applied. The annual median accumulation rate (mg kg⁻¹ of soil) due to the biosolid fertilizer was: as 1.75, Cd 0.04, Cr 8.1, Hg 0.05, Ni 0.06 and Pb 4.3.

With this data and using the strictest standard as a reference, which is from the European Community (McGrath *et al.*, 1995), the number of years that it would take to reach the maximum allowable concentration (MAC) in agricultural soils for each HM would be: Cd 25-75, Cr 12.3-18.5, Hg 20-30, Ni 500-1 250 and Pb 11.6-69.7. If the reference were the U. S. standard (CFR 40, Part 503), the time (years) needed to get to the MAC is much longer: Cd 500, Cr 185, Hg 160, Ni 3 500 and Pb 34.8.

Cuadro 4. Concentración de metales pesados en el suelo (0-30 cm) de nogales fertilizados con NPK y biosólidos durante tres años.

Table 4. Heavy metals concentration in soil (0-30 cm) of pecans fertilized with NPK fertilizers and biosolids during three years.

Treatment	Heavy metals (mg kg ⁻¹)					
	As	Cd	Cr	Hg	Ni	Pb
	2004 ¹					
Fertilizers	2.6	nd	24.5	0.39	6.8	22
Biosolids	2.7	nd	25.6	0.23	7.2	23.9
Pr> F	0.886	--	0.87	0.096	0.662	0.627
	2005					
Fertilizers	0.74	0.44	6.9	0.01	6.6	10.6
Biosolids	0.8	0.56	8.1	0	8	16.6
Pr> F	0.013	0.105	0.057	0.237	0.0002	0.129
	2006					
Fertilizers	5.2	nd	39.4	nd	nd	4.7
Biosolids	10.1	nd	61.4	nd	nd	9.8
Pr> F	0.095	--	0.027	--	--	0.332

¹= at the end of each cultivation cycle; nd= not detected.

In accordance to the European standard, Cr and Pb are the elements that would limit safe use of BS in the short-term (12 years). However, in the alkaline soils of Chihuahua's pecan region both metals would precipitate as barely-soluble compounds and would be adsorbed by clay and organic matter (Davies and Jones, 1992; Rostagno and Sosebee, 2001). Furthermore, Pb is practically immobile in the root (Sommers and Barbarick, 1990). Since only a third of the pecan's feeding roots are localized in the cultivable layer in

de EE.UU. (CFR 40, Parte 503), el tiempo (años) necesario para llegar a la CMA es mucho mayor: Cd 500, Cr 185, Hg 160, Ni 3 500 y Pb 34.8.

De acuerdo a la norma europea, Cr y Pb son los elementos que limitan el uso seguro de los BS a corto plazo (12 años). Sin embargo, en los suelos alcalinos de la región nogalera de Chihuahua, ambos metales se precipitan como compuestos solubles, siendo absorbidos por la arcilla y la materia orgánica (Davies y Jones, 1992; Rostagno y Sosebee, 2001). Además, el Pb es prácticamente inmóvil en la raíz (Sommers y Barbarick, 1990). Dado que sólo una tercera parte de las raíces de alimentación de la nuez se localiza en la capa cultivable del suelo verdaderamente texturizado (Worley *et al.*, 1974) y, menos aún en suelos arenosos (Brison, 1976), estas condiciones reducirían la absorción y el efecto de los MP en los nogales.

Con base en los resultados de 2004, el Hg y Cd podrían acumular la CMA a mediano plazo (20 a 25 años); sin embargo, ya que éstos se detectaron sólo en uno de los tres años y en un suelo calcáreo, como el huerto en el presente estudio, el Hg se precipitaría como hidróxido o carbonato apenas soluble (Davies y Jones, 1992), lo que reduciría su disponibilidad para las plantas; además, este elemento prácticamente no se mueve en la raíz (Sommers y Barbarick, 1990). El Cd es muy móvil en el suelo y es fácilmente absorbido por las plantas (Breckle, 1991; Menzer, 1991), aunque este proceso es antagonizado por Mn, Fe, materia orgánica y más importante por el Zn y contenido de fosfato (Mengel y Kirkby, 1979; Allaway, 1986).

El níquel es un elemento común en el suelo, incluso en los tratamientos con CF. Los BS apenas contribuyeron este MP. Es el metal que requerirá más tiempo para alcanzar el límite de concentración en el suelo. En cuanto al As, los estándares de EE.UU. y Europa no establecen un CMA aunque, en Argentina el límite es de 20 mg kg⁻¹ de suelo (Lavado y Taboada, 2002). Este metaloide también fue común en el suelo y debido a su contribución por los BS, el límite del elemento se alcanzará sólo en 11.4 años según la norma argentina. En suelos calcáreos, el As se precipita en forma apenas soluble (Davies y Jones, 1992). Los tratamientos con CF también muestran la presencia de MP en el suelo, lo que ocurre debido a la contribución de los fertilizantes sintéticos (especialmente Cd, Ni, y Pb) y sobre todo fosfatos (Colomer y Sánchez, 2000).

truly-textured soil (Worley *et al.*, 1974), and even fewer in sandy soil (Brison, 1976), such conditions would reduce the absorption and effect of these HM in pecan trees.

Based on the results for 2004, Hg and Cd could accumulate to their MAC in the medium-term (20 to 25 years); however, since these metals were detected only in one out of the three years and since in a calcareous soil, like the orchard in the present study, Hg would precipitate as a barely-soluble hydroxide or carbonate (Davies and Jones, 1992), which would reduce its availability to plants; moreover, this element practically does not move in the root (Sommers and Barbarick, 1990). Cd is very mobile in soil and is easily absorbed by plants (Breckle, 1991; Menzer, 1991), although this process is antagonized by Mn, Fe, organic matter, and most importantly Zn and phosphate content (Mengel and Kirkby, 1979; Allaway, 1986).

Níquel was a common element in the soil, even in treatments with CF. BS hardly contributed this HM. It is the metal that would require the longest in order to reach a concentration limit in soil. In regards to As, U. S. and European standards do not establish a MAC, although in Argentina the limit is 20 mg kg⁻¹ of soil (Lavado and Taboada, 2002). This metalloid was also common in the soil, and because of its contribution by BS, the element's limit would be reached in just 11.4 years, according to the Argentinean standard. In calcareous soils, As precipitates in barely-soluble forms (Davies and Jones, 1992). Treatments with CF also show the presence of HM in the soil, which occurs because of the contribution of synthetic fertilizers (especially Cd, Ni, and Pb) and most of all, phosphates (Colomer and Sánchez, 2000).

Heavy metals in plant

HM accumulation in edible parts of plants is important because they are the entrance into the food chain (Chaney and Giordano, 1986). HM content in pecan fruit kernel fertilized with CF and BS is shown in Table 5. During the first year of the study, it was found that CF and BS furnish HM to the shuck and kernel. In general, BS tend to increase HM concentration in both tissues, although a statistically significant difference only occurred in the shuck for Ni and Pb. Apparently, the shuck does not function as a tissue-filter, which accumulates metals to reduce their passage into the kernel. In fact, a high As content in the edible part of the nut was determined. Cd was similar in both tissues and Cr and Hg higher in the shuck.

Metales pesados en las plantas

La acumulación de MP en las partes comestibles de plantas es importante, ya que son la entrada en la cadena alimentaria (Chaney y Giordano, 1986). El contenido de MP en las nueces pecanas fertilizadas con CF y BS se muestra en el Cuadro 5. Durante el primer año de estudio, se encontró que los CF y BS proporcionan MP a la cáscara y al grano. En general, los BS tienden a aumentar la concentración de MP en ambos tejidos, a pesar de esto, sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la cáscara para Ni y Pb. Al parecer, la cáscara no funciona como un filtro de tejido que acumule metales para reducir su paso hacia el grano. De hecho, se determinó un alto contenido de As en la parte comestible de la nuez. El Cd fue similar en ambos tejidos, el Cr y Hg fueron los más altos en la cáscara.

Cuadro 5. Concentración de metales pesados en el grano de la nuez fertilizados con NPK y biosólidos durante tres años.

Table 5. Heavy metals concentration in the kernel of pecan fruit fertilized with NPK fertilizers and biosolids during three years.

Treatment	Heavy metals (mg kg ⁻¹)					
	As	Cd	Cr	Hg	Ni	Pb
	2004 ¹					
Fertilizers	1.02	0.01	0.21	0.01	3.6	8.4
Biosolids	1.07	0.23	0.34	0	5.3	12
Pr>F	0.956	0.202	0.706	0.373	0.521	0.609
	2005					
Fertilizers	0.04	Nd	nd	0.75	nd	nd
Biosolids	0.24	Nd	nd	0.81	nd	nd
Pr>F	0.107	--	--	0.683	--	--
	2006					
Fertilizers	0.37	Nd	0	0.11	nd	nd
Biosolids	0.18	Nd	0.22	0	nd	nd
Pr>F	0.445	--	0.373	0.373	--	--

¹= at the end of each cultivation cycle; nd= not detected.

Durante el primer año, la concentración de As se mantuvo sin cambios y Cr casi sin cambios en el grano con CF y BS, mientras que el Hg prácticamente no se detectó en ambos tratamientos. El Cd en tratamientos con BS fue de 0.23 mg kg⁻¹, muy por debajo del máximo de 5 mg kg⁻¹ que un alimento vegetal puede tener para ser considerado seguro (Chaney *et al.*, 2001). El Ni llegó a 5.3 mg kg⁻¹, con la aplicación de los BS, 47% más que con CF. El Pb fue de 12 mg kg⁻¹ para los tratamientos con BS,

During the first year, As concentration was unchanged and Cr almost unchanged in the kernel when fertilized with CF and BS, while Hg was practically not detected in both treatments. Cd in treatments with BS was 0.23 mg kg⁻¹, much below the maximum 5 mg kg that a plant food can have in order to be considered safe (Chaney *et al.*, 2001). Ni reached 5.3 mg kg⁻¹ when BS were applied, 47% more than with CF. Pb was 12 mg kg⁻¹ for treatments with BS, barely 3.6 mg kg⁻¹ more than CF. In the United Kingdom (FSA, 2007), the MAC for fruits, vegetables, and nuts is (in mg kg⁻¹): As 1, Cd 0.05, and Pb 0.1-0.2. According to these levels, As concentration in the kernel was within the U. K. limit with CF as well as BS. Cd concentration was high with CF and very high with BS, and with Pb it was very high with both fertilizers.

A significant accumulation of Cd in plant tissue has been found to occur when high doses of BS are used (100 to 224 t ha⁻¹) (Allaway, 1986; Chaney and Giordano, 1986); which is equivalent to 10-25 times more fertilizer than what is applied to a orchard of pecan trees in production. In several studies in the medium-term, addition of biosolids has not increased Hg concentration in corn tissues *Zea mays* L. turnip *Brassica napus* L., and carrot *Daucus carota* L., but it has increased it in tomato fruit *Lycopersicon esculentum* Mill. (Allaway, 1986; Chaney and Giordano, 1986). Applying BS at 10 t ha⁻¹ for 5 years (Oliveira *et al.*, 2005) or incorporating BS at 30 and 60 t ha⁻¹ (Cuevas and Walter, 2004) did not significantly increase HM concentration in corn shoots and grains. This suggests that the low dose of the "excellent type" of BS applied to pecans in the first year, equivalent to 2.41 t ha⁻¹, should not increase HM concentration compared to treatments with CF.

During the second year, when the dose applied was 2.76 t ha⁻¹, the Cd, Cr, Ni, and Pb concentration in the shuck and kernel were below detection limits. As was only detected in the kernel, in treatments with CF as well as BS, in a quantity that was lower than the limit allowed by the FSA (2007). Hg was found in both tissues, and in the kernel the median concentration of treatments with BS barely was 0.06 mg kg⁻¹ higher than with CF. In all cases there was no statistical difference (Table 5).

During the third year, the amount of BS applied was equivalent to 3.1 t ha⁻¹, and again Cd, Cr, Ni, and Pb were not detected in the shuck or the kernel; As was found in the kernel, but in higher concentrations in treatments with CF. The 0.18 mg kg⁻¹ of As in treatments with BS are very much under the 1 mg kg⁻¹ that is allowed by the FSA (2007) for nuts. Hg was not detected in the kernel, and in the shuck it was almost equal

apenas 3.6 mg kg⁻¹ más que con CF. En el Reino Unido (FSA, 2007), el CMA para las frutas, verduras y frutos secos es (mg kg⁻¹): As 1, Cd 0.05, y Pb 0.1-0.2. De acuerdo a estos niveles, la concentración de As en la nuez estuvo dentro de los límites del Reino Unido con CF, así como con los BS. La concentración de Cd fue alta con CF y muy alta con los BS, y en cuanto al Pb, fue muy alto con ambos fertilizantes.

Se ha observado una importante acumulación de Cd en los tejidos de la planta cuando se utilizan altas dosis de BS (100 a 224 t ha⁻¹) (Allaway, 1986; Chaney y Giordano, 1986); lo que equivale a 10-25 veces más abono del que se aplica a un huerto de nogales en producción. En varios estudios a mediano plazo, la añadidura de biosólidos no ha incrementado la concentración de Hg en tejidos del maíz *Zea mays* L., el nabo *Brassica napus* L. y la zanahoria *Daucus carota* L., pero ha aumentado en tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. (Allaway, 1986; Chaney y Giordano, 1986). La aplicación de 10 t ha⁻¹ de BS durante 5 años (Oliveira *et al.*, 2005) o la incorporación de BS a 30 y 60 t ha⁻¹ (Cuevas y Walter, 2004) no aumentó significativamente la concentración de MP en los brotes y granos de maíz. Esto sugiere que, una dosis baja de BS del tipo “excelente” aplicada a las nueces en el primer año, equivalente a 2.41 t ha⁻¹, no debería incrementar la concentración de MP en comparación a los tratamientos con CF.

Durante el segundo año, cuando la dosis aplicada fue de 2.76 t ha⁻¹, la concentración de Cd, Cr, Ni, Pb en la cáscara y el grano estaban por debajo de los límites de detección. El As sólo se detectó en el grano, en los tratamientos con CF, así como BS, en una cantidad inferior al límite permitido por la FSA (2007). El Hg se encontró en ambos tejidos y en el grano, la concentración media en los tratamientos con BS apenas fue 0.06 mg kg⁻¹ mayor que con CF. En todos los casos no hubo diferencia estadísticamente significativa (Cuadro 5).

Durante el tercer año, la cantidad aplicada de BS fue equivalente a 3.1 t ha⁻¹ y de nuevo Cd, Cr, Ni, Pb y no se detectaron en la cáscara o el grano; el As se encontró en el grano, pero en concentraciones más altas en los tratamientos con CF. El 0.18 mg kg⁻¹ de As en tratamientos con BS están muy por debajo del 1 mg kg⁻¹ permitido por la FSA (2007) para nueces. El Hg no fue detectado en el grano y, en la cáscara fue casi igual en ambos tipos de fertilizantes. Los resultados del segundo y tercer año, en una situación de efecto acumulativo debido a la aplicación repetida de BS, indican que las concentraciones de metales pesados que los fertilizantes biosólidos, aportan al grano no son mayores que los que aportan los CF a corto plazo.

in both types of fertilizer. The results of the second and third years, in an accumulative effect condition due to the repeated application of BS, indicate that the heavy metal concentrations that biosolid fertilizers contribute to the kernel are not higher than what CF contribute; in the short-term.

Microorganisms in soil and nut

During the first two years, soil analysis before the nut harvest did not detect the presence of *Escherichia coli* or *Salmonella* sp. During the third year, with both treatments, the presence of *E. coli* was found, but not *Salmonella* sp. It is considered that *E. coli* did not come from the BS, but that it is due to an external contamination problem, given that it was also detected in the CF treatment and in a separate point 60 m from the trees that were treated with BS (Table 6).

Cuadro 6. Presencia de bacterias en la superficie del suelo (0-3 cm) y en las cáscara de nuez de nogales fertilizados NPK y biosólidos durante tres años y también durante la pre-cosecha, siete meses después de la aplicación de biosólidos.

Table 6. Presence of bacteria on the surface of soil (0-3 cm) and in nut's shell of pecans fertilized with NPK fertilizers and biosolids during three years, and also during the preharvest, seven months after biosolid application.

Treatment	DTB (m)	<i>Escherichia coli</i>		<i>Salmonella</i> sp.	
		Soil	Shell	Soil	Shell
2004					
Biosolids	0	-	na	-	na
Fertilizers	12	-	na	-	na
Orchard	60	-	na	-	na
2005					
Biosolids	0	-	-	-	-
Fertilizers	12	-	-	-	-
Orchard	60	-	-	-	-
2006					
Biosolids	0	+	-	-	-
Fertilizers	12	+	-	-	-
Orchard	60	+	-	-	-

DTB= distance of trees fertilized with biosolids; -= not detected; += detected; Orchard= trees from another zone of the orchard, as a reference; na= not available.

This illustrates how other activities in pecan orchards, like the defecation of workers among the trees or the presence of wild fauna (Zaleski *et al.*, 2005), can cause soil contamination

Microrganismos en el suelo y la nuez

Durante los dos primeros años, el análisis del suelo antes de la cosecha no detectó la presencia de *Escherichia coli* o *Salmonella* sp. Durante el tercer año, con ambos tratamientos, se encontró la presencia de *E. coli*, pero no de *Salmonella* sp. Se considera que la *E. coli* no provino de los BS, sino que se debió a un problema de contaminación externa ya que también se detectó en el tratamiento con CF y, en un punto alejado 60 m de los árboles tratados con BS (Cuadro 6).

Esto ilustra cómo otras actividades en los huertos de nuez, como la defecación de los trabajadores entre los árboles o la presencia de fauna silvestre (Zaleski *et al.*, 2005) pueden causar contaminación del suelo con microorganismos patógenos. Este hecho ha sido reportado por Montes *et al.* (2004), quienes encontraron bacterias coliformes en el orden de 300 NMP g⁻¹ en diferentes suelos agrícolas sin la contribución de las aguas residuales o BS.

En gran medida, no detectar bacterias patógenas en la pre-cosecha se puede explicar. Cuando se fertiliza con biosólidos, la mayoría de la supervivencia de tales microbios (primordialmente de *Salmonella* y coliformes fecales) en la superficie del suelo es a corto plazo, dado que los microbios son destruidos por el calor, la sequedad, la luz ultravioleta y microorganismos antagonistas (Menziez, 1986; Sommers y Barbarick, 1990; Epstein, 2001). El antagonismo entre grupos microbianos es especialmente intenso.

Las poblaciones de *E. coli* son considerablemente reducidas por la micro-flora nativa del suelo (Jiang *et al.*, 2002) donde pueden ser eliminadas rápidamente por las bacterias endoparásitos *Bdellovibrio bacteriovorus* (Martin y Focht, 1986). Tras la incorporación de BS en el suelo, en las dos primeras semanas, la densidad de bacterias heterótrofas muestran un incremento vigoroso y *Salmonella* spp. y *E. coli* se reducen significativamente (Zaleski *et al.*, 2005). Por sí mismos, los hongos nativos del suelo pueden eliminar aquellos provenientes de los BS (Kinsbursky *et al.*, 1989).

La presencia de bacterias en la cáscara de la nuez, después de dos días en contacto con el suelo y residuos de BS, también fueron analizadas (simulando el proceso de explotación comercial). Ésta es una variable importante dado que, la principal vía de infección por patógenos de biosólidos es a través de la ingestión de frutas en contacto con el abono (Epstein, 2001). Durante los dos años de la muestra, no se

with microbial pathogens. This fact has been reported by Montes *et al.* (2004), who found coliform bacteria on the order of 300 NMP g⁻¹ in different agricultural soils without the contribution from wastewater or BS.

To a great extent, not detecting pathogenic bacteria in the preharvest can be explained. When fertilizing with biosolids, most survival of such microbes (most importantly *Salmonella* and fecal coliform) on the surface soil is short-term, given that the microbes are destroyed by heat, drying, ultraviolet light, and antagonistic microorganisms (Menziez, 1986; Sommers and Barbarick, 1990; Epstein, 2001). The antagonism between microbial groups is especially intense.

An *E. coli* population is greatly reduced by the soil's native microflora (Jiang *et al.*, 2002), were it can be eliminated quickly by the endoparasitic bacteria *Bdellovibrio bacteriovorus* (Martin and Focht, 1986). Upon incorporating BS into the soil, in the first two weeks the density of heterotrophic bacteria show a vigorous increase and *Salmonella* spp. and *E. coli* are significantly reduced (Zaleski *et al.*, 2005). In their own right, the soil's native fungi can eliminate the fungi that come from BS (Kinsbursky *et al.*, 1989).

The presence of bacteria in the nut's shell after two days in contact with the soil and BS residues was also analyzed (simulating the process of a commercial harvest). This is an important variable given that the main infection pathway by biosolid pathogens is through ingestion, upon consuming fruits in contact with the fertilizer (Epstein, 2001). During the two sample years, *E. coli* or *Salmonella* sp. associated with the nut's shell was not detected in any treatment (Table 6). A valid answer is the fact that, at least on the surface of the soil, there is no evidence that pathogens that come from BS survive after seven months of application. Through this mechanism, in an orchard where BS is applied, the nut should not have microbial contamination problems from the fertilizer.

CONCLUSIONS

The application of biosolids in doses of 2.41, 2.76, and 3.1 t ha⁻¹ in dry base, to pecan 8, 9, and 10 years old, respectively, allowed the trees to grow and produce as the fertilizer-treated trees. The biosolids did not increase toxic heavy metals

detectó *E. coli* o *Salmonella* sp. en la cáscara de la nuez en ningún tratamiento (Cuadro 6). Una respuesta válida es el hecho de que al menos en la superficie de la tierra, no hubo evidencia de que los agentes patógenos provenientes de los BS sobrevivieran después de siete meses de aplicación. A través de este mecanismo, en un huerto donde se aplican los BS, la nuez no debe tener problemas de contaminación microbiana debido a fertilizantes.

CONCLUSIONES

La aplicación de biosólidos en dosis de 2.41, 2.76 y 3.1 t ha⁻¹ en base seca, en nogales de 8, 9 y 10 años de edad, respectivamente, permitió a los árboles crecer y producir como los árboles tratados con fertilizantes. Los biosólidos no aumentaron el contenido de metales pesados tóxicos del suelo o de la fruta. No se detectaron coliformes tampoco *Salmonella* sp. en el suelo o en la cáscara al momento de la cosecha en otoño, cuando la aplicación de biosólidos se llevó a cabo en la primavera.

LITERATURE CITED

Allaway, W. H. 1986. Food chain aspects of the use of organic residues. *In: soils for management of organic wastes and waste waters*. Second edition. SSSA-ASA-CSSA. 10-43 pp.

Breckle, S. W. 1991. Growth under stress. Heavy metals. *In: Waisel, Y.; Eshel, A. and Kafkafi, U. (eds.). Plants roots. The hidden half*. Marcel Dekker Inc. USA. 351-373 pp.

Briggs, P. H. and Meier, A. L. 1999. The determination of forty-two elements in geological materials by inductively coupled plasma-mass spectrometry. United States Geological Survey. Report. 99-166. 15 p.

Brisson, F. R. 1976. Cultivo del nogal pecanero. México. CONAFRUT. 349 p.

Chaney, R. L. and Giordano, P. M. 1986. Microelements as related to plant deficiencies and toxicities. *In: soils for management of organic wastes and waste waters*. Second edition. SSSA-ASA-CSSA. 234-278 pp.

Chaney, D. E.; Drinkwater, L. E. and Pettygrove, G. S. 1992. Organic soil amendments and fertilizers. Publication 21505. DANR. University of California. 36 p.

content of soil or fruit. No coliforms and *Salmonella* sp. were detected in the soil and nut shell at fall harvest time when biosolids application was done in the spring.

End of the English version



Chaney, R. L.; Ryan, J. A.; Kukier, U.; Brown, S. L.; Siebielec, G.; Malik, M. and Angle, J. S. 2001. Heavy metal aspects of compost use. *In: Stofella, P. and Kahn, B. (eds.). Compost utilization in horticultural cropping systems*. CRC Press. 323-359 pp.

Colomer, M. J. C. y Sánchez, D. J. 2000. Agricultura y procesos de degradación del suelo. *In: Santa Olalla, F. M. (ed.). Agricultura y desertificación*. Mundi-Prensa. España. 109-131 pp.

Cuevas, G. y Walter, I. 2004. Metales pesados en maíz (*Zea mays* L.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 20(2):59-68.

Davies, B. E. y Jones, L. H. P. 1992. Micronutrientes y elementos tóxicos. *In: Wild, A. (ed.). Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas*. Mundi-Prensa. España. 819-853 pp.

Epstein, E. 2001. Human pathogens: hazards, controls and precautions in compost. *In: Stofella, P. and Kahn, B. (eds.). Compost utilization in horticultural cropping systems*. CRC Press. 361-380 pp.

Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA). 2009. Costos de producción del nogal pecanero. Delegación Regional Delicias. FIRA-Banco de México.

Flores, M. J. P. 2007. Resinas de intercambio iónico para evaluar la mineralización de nitrógeno en suelos tratados con abonos orgánicos. *In: uso y aprovechamiento de abonos orgánicos e inocuidad*. México. Soc. Mex. Ciencia del Suelo. 386-412 pp.

Food Standards Agency (FSA). 2007. Survey of metals in a variety of foods. United Kingdom. URL: <http://www.food.gov.uk/science>.

Hageman, P. L. and Welsch, E. 1996. Arsenic, antimony, and selenium by flow injection or continuous flow-hydride generation-atomic absorption spectrometry. United States Geological Survey. Report 96-525. 24-30 pp.

Jiang, X.; Morgan, J. and Doyle, M. P. 2002. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in manure-amended soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(5):2605-2609.

- Jurado, G. P.; Luna, L. M. y Barretero, H. R. 2004. Aprovechamiento de biosólidos como abonos orgánicos en pastizales áridos y semiáridos. *Téc. Pec. Méx.* 42(3):379-395.
- Kinsbursky, R. S.; Levanon, D. and Yaron, B. 1989. Role of fungi in stabilizing aggregates of sewage sludge amended soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53:1086-1091.
- Lavado, R. S. y Taboada, M. A. 2002. Manual de procedimientos para la aplicación de biosólidos en el campo. Argentina. Fac. de Agronomía-Universidad de Buenos Aires. 54 p.
- Marquard, R. 1990. Pecan biology. *In: second pecan orchard management shortcourse.* CES-New Mexico State University.
- Martin, J. P. and Focht, D. D. 1986. Biological properties of soil. *In: soils for management of organic wastes and waste waters.* Second ed. SSSA-ASA-CSSA. 114-169 pp.
- McBride, M. B. 1995. Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: are USEPA regulations protective? *J. Environ. Qual.* 24:5-18.
- McGrath, S. P.; Chaudri, A. M. and Giller, K. E. 1995. Long-term effects of land application of sewage sludge: soils, microorganisms and plants. *J. Indust. Microbiol.* 517-533 pp.
- Mengel, K. and Kirkby, E. A. 1979. Principles of plant nutrition. Second edition. International Potash Institute. Berna. 441-520 pp.
- Menzer, R. E. 1991. Water and soil pollutants. *In: casarett and doull's (ed.). Toxicology. The basic science of poisons.* 4th Edition. Pergamon Press. 872-902 pp.
- Menzies, J. D. 1986. Pathogen considerations for land application of human and domestic animal residues. *In: soils for management of organic wastes and waste waters.* Second edition. SSSA-ASA-CSSA. 574-585 pp.
- Montes, R. G.; Espino, P. N. M.; Campagne, P. J. M. y Solís, G. S. 2004. Presencia de coliformes totales en la composta proveniente de lodos residuales. *In: XV Congreso Nacional de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agropecuario.* México. DGETA-SEIT-SEP. Memoria.
- Oliveira, K. W.; Melo, W. J.; Pereira, G. T.; Melo, V. P. and Melo, G. M. P. 2005. Heavy metals in oxisoils amended with biosolids and cropped with maize in a long-term experiment. *Sci. Agric.* 62(4):381-388.
- Rostagno, C.M. and Sosebee, R. 2001. Biosolids application in the Chihuahuan desert: effects on runoff water quality. *J. Environ. Qual.* 30:160-170.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2009. Avances de siembras y cosechas 2009. Chihuahua. URL: <http://www.sagarpa.gob.mx>.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 1997. Norma oficial mexicana NOM-001-ECOL-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. México. 18 p. URL: <http://www.semarnat.gob.mx>.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2002. Norma oficial mexicana NOM-004-ECOL-2002. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. México. 52 p. URL: <http://www.semarnat.gob.mx>.
- Secretaría de Salud (SS). 1994. Norma oficial mexicana NOM-114-SSA1-1994. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos. México. URL: <http://www.salud.gob.mx>.
- Smith, M. W. 1991. Pecan nutrition. *In: pecan husbandry: challenges and opportunities.* First Nat. Pecan Work. Proc. ARS-USDA. 152-157 pp.
- Sommers, L. E. and Barbarick, K. A. 1990. Constraints to land applications of sewage sludge. *In: utilization, treatment, and disposal of waste land.* Third edition. Soil Sci. Soc. Amer. 193-216 pp.
- Sparks, D. 1989. Pecan nutrition. Twenty-third West. Pecan Conf. CES-New Mexico State University. 55-96 pp.
- Sparks, D. 1991. Cultural practices. *In: pecan husbandry: challenges and opportunities.* First Nat. Pecan Work. Proc. ARS-USDA. 22-33 pp.
- Statistical Analysis System (SAS Institute). 2001. SAS/STAT user's guide. Release 8.2 ed. SAS Institute, Cary, N.C. USA.
- Steel, D. R. G. y Torrie, J. H. 1985. Bioestadística. Principios y procedimientos. 2^{da} Edition. McGraw-Hill. México. 662 p.
- Storey, J. B. 1990. Fertilization. *In: texas pecan profitability handbook.* TAES-The Texas A&M University System. VII-2 p.
- Sullivan, D. 1998. Fertilizing with biosolids. PNW 508. Oregon State University. 12 p.

- Tester, C. F. 1990. Organic amendment effects on physical and chemical properties of a sandy soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54:827-831.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1995. A guide to the biosolids risk assessments for the EPA part 503 rule. Office of Wastewater Management. 144 p.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1999. Biosolids generation, use, and disposal in the United States. Office of Wastewater Management. 74 p.
- Wood, B. W. 2002. Late nitrogen fertilization in pecan orchards: a review. In: Thirty-sixth West. Pecan Conf. Proc. NMSU-WPGA. 47-59 pp.
- Worley, R. E. 1974. Effect of N, P, K, and lime on yield, nut quality, tree growth, and leaf analysis of pecan (*Carya illinoensis* W.). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99(1):49-57.
- Zaleski, K. J.; Josephson, K. L.; Gerba, C. P. and Pepper, I. L. 2005. Potential regrowth and recolonization of salmonellae and indicators in biosolids and biosolid-amended soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(7):3701-3708.