



# UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

Escuela Superior de Ingeniería

Titulación de Ingeniero Agrónomo

***ESTUDIO DE UN CULTIVO DE TABACO BAJO  
INVERNADERO PARA LA OBTENCIÓN DE BIOMASA Y  
PRODUCTOS DE ALTO VALOR EN LA INDUSTRIA REGADO  
CON AGUA RESIDUAL URBANA DEPURADA***

María del Mar Gómez Ramos

DIRECTORES

D. Amadeo Rodríguez Fernández-Alba

D. Francisco Camacho Ferre

## ÍNDICE

<b>1. INTERÉS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Importancia del tabaco para la industria .....	5
2.1.1 Biomasa como fuente de biocombustibles.....	6
2.1.2 Proteínas hidrosolubles .....	7
2.1.3 Solanesol .....	9
2.1.4 Nicotina .....	10
2.1.5 Azúcares, almidones y celulosas .....	12
2.2 Reutilización del agua depurada .....	12
2.2.1 Calidad del agua residual tratada .....	15
2.2.2 Salinidad .....	16
2.2.3 Toxicidad de un ion específico .....	16
2.2.4 Permeabilidad del suelo.....	17
2.2.5 Nutrientes .....	17
2.2.6 Contenido microbiológico.....	17
2.2.7 Otros contaminantes de creciente importancia .....	18
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
3.1 Localización .....	21
3.2 Descripción de la instalación para riego situada en el invernadero .....	21
3.3 Generalidades sobre el cultivo de tabaco y su manejo .....	23
3.3.1 Condiciones agroclimáticas.....	23
3.4.1 Fertilización y riego .....	27
3.4.2 Control de plagas .....	28
3.5 Parámetros analizados en agua de riego tratada .....	29
3.5.1 Análisis de contaminantes orgánicos.....	29
3.5.2 Análisis de metales pesados .....	32
3.6 Parámetros analizados en planta.....	32
3.6.1 Proteínas hidrosolubles .....	33
3.6.2 Nicotina .....	34
3.6.3 Solanesol .....	35
3.6.4 Azúcares y almidón .....	36
3.7 Parámetros analizados en suelo .....	36

---

3.7.1 Análisis de contaminantes orgánicos.....	37
3.7.2 Metales pesados .....	37
3.8 Tratamiento estadístico .....	37
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>39</b>
4.1 Detección de contaminantes orgánicos e inorgánicos en agua residual urbana tratada.....	39
4.2 Efecto de los tratamientos en planta.....	41
4.2.1 Producción de biomasa.....	41
4.2.1.1 Producción de biomasa en función de la altura de corte .....	41
4.2.1.2 Producción de biomasa en función de la densidad de plantación .....	42
4.2.1.3 Efecto combinado de la densidad de plantación y altura de corte .....	43
4.2.1.4 Producción de biomasa en función del agua de riego .....	43
4.2.2 Contenido de proteínas hidrosolubles, nicotina, azúcares y almidón .....	44
4.2.2.1 Contenido de compuestos en función de la altura de corte .....	44
4.2.2.2 Contenido de compuestos en función de la densidad de plantación.....	46
4.2.2.3 Efecto combinado de la densidad de plantación y altura de corte .....	47
4.2.2.4 Contenido de compuestos en función del agua de riego .....	48
4.2.3 Contenido de solanesol.....	49
4.2.4 Producción en $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de los compuestos analizados en planta.....	50
4.3 Acumulación de compuestos en suelo .....	51
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>53</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>55</b>
<b>7. ANEJOS .....</b>	<b>63</b>
7.1 Tablas de análisis de varianza y separación de medias .....	63
7.3 Tablas de resultados en cada corte.....	85
7.3.1 Tablas de los tratamientos con altura de corte 80 cm.....	85
7.3.2 Tablas de los tratamientos con altura de corte 40 cm.....	88
7.3 Fotos del experimento .....	91

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Guía para la interpretación de la calidad de agua para riego.....</i>	<i>16</i>
<i>Tabla 2. Distribución de fertilizantes en cultivo de tabaco.....</i>	<i>28</i>
<i>Tabla 3. Productos fitosanitarios aplicados al cultivo de tabaco.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 4. Compuestos analizados por cromatografía líquida.....</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 5. Compuestos analizados por cromatografía gaseosa.....</i>	<i>32</i>
<i>Tabla 6. Concentración media de compuestos detectados en el agua residual urbana tratada utilizada en el riego.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabla 7. Producciones de biomasa totales.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 9. Contenido medio (% en peso fresco)de proteínas hidrosolubles, azúcares, nicotina y almidón... </i>	<i>45</i>
<i>Tabla 10. Producción (kg·ha<sup>-1</sup>) de los compuestos analizados en planta de cada tratamiento.....</i>	<i>50</i>
<i>Tabla 11. Acumulación de compuestos en el suelo después del riego con agua residual depurada.....</i>	<i>51</i>
<i>Tabla 8.1. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa (kg·m<sup>-2</sup>) a una densidad de 4 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm). .....</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 8.2. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa (kg·m<sup>-2</sup>) a una densidad de 8 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm). .....</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 8.3. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa (kg·m<sup>-2</sup>) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>). .....</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 8.4. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa (kg·m<sup>-2</sup>) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>). .....</i>	<i>64</i>
<i>Tabla 8.5. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa (kg·m<sup>-2</sup>) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>64</i>
<i>Tabla 8.6. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa (kg·m<sup>-2</sup>) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>64</i>

<i>Tabla 8.7. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa (<math>\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}</math>) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/<math>\text{m}^2</math>, altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/<math>\text{m}^2</math>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>65</i>
<i>Tabla 8.8. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa (<math>\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}</math>) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/<math>\text{m}^2</math>, altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/<math>\text{m}^2</math>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>65</i>
<i>Tabla 8.9. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (%peso fresco) a una densidad de 4 plantas/<math>\text{m}^2</math> en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm). ....</i>	<i>66</i>
<i>Tabla 8.10. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas (%peso fresco) a una densidad de 8 plantas/<math>\text{m}^2</math> en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm).....</i>	<i>66</i>
<i>Tabla 8.11. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (%peso fresco) a una densidad de 4 plantas/<math>\text{m}^2</math> en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm).....</i>	<i>66</i>
<i>Tabla 8.12. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (%peso fresco) a una densidad de 8 plantas/<math>\text{m}^2</math> en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm).....</i>	<i>67</i>
<i>Tabla 8.13. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (%peso fresco) a una densidad de 4 plantas/<math>\text{m}^2</math> en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm).....</i>	<i>67</i>
<i>Tabla 8.14. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (%peso fresco) a una densidad de 8 plantas/<math>\text{m}^2</math> en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm).....</i>	<i>67</i>
<i>Tabla 8.15. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (%peso fresco) a una densidad de 4 plantas/<math>\text{m}^2</math> en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm).....</i>	<i>68</i>
<i>Tabla 8.16. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (%peso fresco) a una densidad de 8 plantas/<math>\text{m}^2</math> en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm).....</i>	<i>68</i>
<i>Tabla 8.17. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/<math>\text{m}^2</math> y T2.1= 8 plantas/<math>\text{m}^2</math>).....</i>	<i>68</i>
<i>Tabla 8.18. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/<math>\text{m}^2</math> y T2.2= 8 plantas/<math>\text{m}^2</math>).....</i>	<i>69</i>

<i>Tabla 8.19. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>).</i>	69
<i>Tabla 8.20. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>).</i>	69
<i>Tabla 8.21. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>).</i>	70
<i>Tabla 8.22. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>).</i>	70
<i>Tabla 8.23. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>).</i>	70
<i>Tabla 8.24. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>).</i>	71
<i>Tabla 8.25. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).</i>	71
<i>Tabla 8.26. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).</i>	71
<i>Tabla 8.27. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).</i>	72
<i>Tabla 8.28. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).</i>	72
<i>Tabla 8.29. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).</i>	72

<i>Tabla 8.30. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>73</i>
<i>Tabla 8.31. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>73</i>
<i>Tabla 8.32. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>73</i>
<i>Tabla 8.33. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>74</i>
<i>Tabla 8.34. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares y nicotina (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>74</i>
<i>Tabla 8.35. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>74</i>
<i>Tabla 8.36. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>75</i>
<i>Tabla 8.37. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>75</i>
<i>Tabla 8.38. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares y almidón (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>75</i>
<i>Tabla 8.39. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>76</i>
<i>Tabla 8.40. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).....</i>	<i>76</i>
<i>Tabla 8.41. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de proteínas hidrosolubles (kg·ha<sup>-1</sup>) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40,</i>	

T2.1= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm, riego agua residual depurada).....	77
Tabla 8.42. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de azúcares (kg·ha <sup>-1</sup> ) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40, T2.1= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm, riego agua residual depurada).....	77
Tabla 8.43. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de nicotina (kg·ha <sup>-1</sup> ) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40, T2.1= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm, riego agua residual depurada).....	78
Tabla 8.44. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de almidón (kg·ha <sup>-1</sup> ) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40, T2.1= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm, riego agua residual depurada).....	78
Tabla 8.45. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de solanesol (kg·ha <sup>-1</sup> ) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40, T2.1= 4 plantas/m <sup>2</sup> , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m <sup>2</sup> , altura 40 cm, riego agua residual depurada).....	79
Tabla 8.46. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de plomo (mg·kg <sup>-1</sup> ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo). .	79
Tabla 8.47. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de pireno (mg·kg <sup>-1</sup> ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo). .	80
Tabla 8.48. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de cadmio (mg·kg <sup>-1</sup> ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo). .	80
Tabla 8.49. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de fenantreno (mg·kg <sup>-1</sup> ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo).....	81
Tabla 8.50. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de cafeína (mg·kg <sup>-1</sup> ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo). .	81



---

*Tabla 8.51. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de carbamazepina ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo)..... 82*

*Tabla 8.52. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de nicotina ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo). . 82*

*Tabla 8.53. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de nicotina ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo). . 83*

## 1. INTERÉS Y OBJETIVOS

La relevancia socio-económica de la producción de hortalizas en el sudeste español y en particular en Andalucía es extremadamente alta. Esta producción ha sido muy rentable para los agricultores/comercializadores hasta ahora. Pero, cada año aparece de forma más clara que el techo de esta actividad se ha alcanzado y hay una clara tendencia en la disminución de la producción/exportación, que como consecuencia trae una pérdida de beneficios. Este hecho es debido en gran parte a la aparición de nuevas zonas competidoras con unos costes, en especial mano de obra, muy inferiores (ej.: Marruecos, Turquía). Además de la presencia de estrategias socio-políticas muy marcadas en la Unión Europea (el principal importador de estos productos) que favorecen a estos nuevos productores y que se mantendrán o incluso aumentarán en el futuro.

En consecuencia hay claros signos de una reconversión del sector, al menos de forma parcial, que le permita seguir siendo el motor de muchas regiones como lo es Almería. Una reconversión dentro del mismo sector podría tener unos resultados rápidos y similares a los anteriores, ya que la tecnificación y capacidad de innovación del sistema productivo y comercializador ha sido en los últimos años de las más importantes de nuestro país. Hay que señalar que la producción de hortalizas se realiza sobre estructuras cubiertas de plástico, muy tecnificadas, que permiten unos rendimientos muy notables durante todo el año de forma estable.

Una de las direcciones de este cambio o reconversión necesaria es la producción de productos de cuarta y quinta gama que se ha iniciado con gran éxito dado el importante valor añadido que da a los productos de consumo. La producción a través de productos vegetales de moléculas de alto valor para la industria, representa una alternativa de gran interés y que puede permitir el desarrollo de una agricultura muy especializada en conocimientos y técnicas y de gran potencial industrial. En esta línea, el tabaco, es una planta de gran interés por sus características de muy alta producción y alto contenido en azúcares y moléculas de interés en la industria, como proteínas, solanesol etc.

Por otro lado, el agua recurso ecológico y económico vital, es una fuente renovable. Sin embargo, la actividad humana es un factor importante en su ciclo y puede causar un gran daño al medioambiente acuático si lo contamina o sobreexplota. En España la escasez de

agua es un problema y entre las estrategias del Plan de Medio Ambiente de Andalucía (2010) para una gestión sostenible de agua, está el fomento de la reutilización de aguas residuales. Una buena alternativa para la reutilización es la agricultura, ya que es una de las actividades que más demanda de agua conlleva, consumiendo cerca del 80 % de los recursos hídricos. Además del elevado consumo de agua en este sector, en el caso del Sureste español, el agua es uno de los factores limitantes para la producción de cultivos, debido a que proviene en su mayoría de acuíferos que están sobreexplotados. En este contexto, el agua residual depurada puede considerarse como una fuente muy valiosa para su utilización en el riego. Sin embargo, aunque la reutilización de las aguas residuales para fines agrícolas se practica desde la antigüedad, es necesario obtener datos analíticos y productivos para asegurar su viabilidad como agua de riego. En los últimos años, la investigación de la contaminación del agua se ha extendido de los contaminantes “prioritarios” convencionales a los llamados “contaminantes emergentes” o “nuevos contaminantes”, que no están regulados (productos de higiene personal, médicos y productos industriales etc.). Muchos de estos compuestos son persistentes y han sido detectados frecuentemente en aguas residuales de plantas de tratamiento. Hasta ahora han sido poco estudiados y es de vital importancia su análisis en los distintos sistemas (agua, suelo y planta).

Con este proyecto se busca estudiar una posible alternativa a los cultivos tradicionales, comprobar como varía la producción y la composición química de la planta del tabaco en función de distintas densidades de plantación y alturas de corte. Así mismo se pretende obtener datos técnicos, analíticos y productivos, con los que determinar la viabilidad de la reutilización del agua residual depurada en un cultivo de tabaco destinado a la obtención de biomasa y compuestos de interés para la industria.

Los objetivos específicos de este proyecto son:

- Comprobar que el cultivo de tabaco para la obtención de productos de alto valor para la industria es viable en condiciones de invernadero.
- Optimizar el sistema de cultivo para maximizar la producción y composición en el tabaco de los compuestos de interés.

- Cuantificar los compuestos de interés, proteínas hidrosolubles totales, nicotina, solanesol, azúcares y almidón presentes en la hoja del tabaco cultivado bajo estas condiciones.
- Evaluar el efecto del riego con agua residual depurada en planta y suelo



## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Importancia del tabaco para la industria

El tabaco (*Nicotiana tabacum*, L) es una planta de la familia de las solanáceas, de cuyo cultivo se pueden obtener gran cantidad de compuestos de aplicación en diferentes campos de la industria, como por ejemplo la farmacéutica (Ruiz-Rodriguez *et al.*, 2008). Sin embargo, el potencial del cultivo del tabaco está basado no sólo en su contenido en sustancias útiles, sino también en la alta productividad, ya que la planta de tabaco se puede cultivar con una alta densidad de siembra y puede someterse a cortes sucesivos obteniéndose así altas producciones. En estas condiciones se pueden conseguir, en un periodo de 6 a 8 meses producciones de hoja verde de 165 t·ha<sup>-1</sup> (Wildman, 1979).

Otra posibilidad importante de la planta de tabaco es su potencial uso para la obtención de proteínas transgénicas o propias mediante modificación genética. Según (Tremblay *et al.*, 2010) las plantas son biorreactores eficaces y eficientes para la producción de proteínas recombinantes farmacéuticamente valiosas. La demanda mundial de proteínas recombinantes está creciendo más rápido que el ritmo de producción que los sistemas tradicionales pueden mantener. Esto incluye proteínas farmacéuticas, como los anticuerpos y vacunas, así como enzimas industriales y metabolitos secundarios. Los sistemas tradicionales de producción recombinante, tales como el cultivo de células bacterianas y de mamíferos están limitados por su capacidad de ampliación y los costos de producción. Por tanto, la producción de proteínas recombinantes en plantas, ofrece una solución a la creciente demanda y ofrece oportunidades que no son posibles con otros sistemas. Hay una gran variedad de especies de plantas que se están explorando para servir como biorreactores verdes, sin embargo, el tabaco ofrece una mezcla única de acumulación de biomasa, facilidad de manipulación y protección contra la contaminación de la cadena alimentaria, que no se encuentran fácilmente en otras especies vegetales.

En esta línea de cultivo, la planta de tabaco puede ofrecer un nuevo futuro a la agricultura para la obtención de proteínas farmacéuticas, vacunas, enzimas industriales, pesticidas, biocombustibles, etc. Compañías como Planet Biotechnology y Meristem Therapeutics trabajan con el cultivo de tabaco para la obtención de compuestos biofarmacéuticos. Tanto

éstas como otras empresas poseen productos farmacéuticos derivados de la planta de tabaco sometidos a estudios clínicos (Beilen *et al.*, 2007).

### 2.1.1 Biomasa como fuente de biocombustibles

La actual crisis de petróleo ha provocado que se mire con un interés especial al sector de los biocombustibles. El mundo presenta una economía muy dependiente de varias energías fósiles como el petróleo, el carbón, el gas natural etc. Según (Cerdera, 2011) España importa más del 80% de la energía que consume, principalmente de los países del norte de África y de Oriente Próximo, de donde llega el 43% del petróleo que consume el país y más del 60% del gas. Esta situación energética hace que nuestro país tenga una situación de desventaja clara y que la economía esté peligrosamente expuesta a las fluctuaciones en los precios del crudo. Por otro lado, el consumo excesivo de estos combustibles fósiles, sobre todo en áreas urbanas, han generado unos niveles muy altos de contaminación durante las últimas décadas. Los niveles de gases de efecto invernadero en la atmósfera de la tierra se han incrementado drásticamente (Ballesteros *et al.*, 2006). Con la expansión de la población y el aumento de la prosperidad industrial, el consumo de la energía global se ha incrementado también gradualmente. La importación de combustible para transporte se ve afectado por las reservas limitadas de combustibles fósiles y se estima que la producción global de petróleo empezará a disminuir en un futuro cercano. En este escenario, la biomasa, el viento, el agua y el sol pueden ser fuentes renovables para la industria energética mientras que la producción de combustibles y la industria química podría depender en un futuro de la biomasa como fuente alternativa (Lynd and Wang, 2003).

Todos los combustibles basados en el petróleo pueden ser reemplazados por combustibles renovables de biomasa tales como el bioetanol, bio-diesel, bio-hidrógeno etc. derivados de tabaco, caña de azúcar, maíz etc. El biogás se ha descrito como un combustible para el motor en las granjas orgánicas a medio y largo plazo. Es producido por digestión anaerobia del material orgánico. Cuando es utilizado como un biocarburante, el CO<sub>2</sub> es eliminado del gas para incrementar el contenido en energía y el carburante gaseoso puede ser almacenado a presión alta. El biogás puede sustituir al gas natural o propano como combustible para calderas y la generación de energía en áreas rurales. La producción de metano anual en Suecia, a partir de los residuos orgánicos, es aproximadamente de 38 PJ, abasteciendo el 11

% de los requerimientos domésticos de energía para el transporte en 2007 (Sarkar *et al.*, 2011).

Países de todo el mundo han considerado políticas en las que se incrementa la utilización de biomasa para conseguir las demandas de energía futuras y cumplir con el objetivo de reducción de CO<sub>2</sub> impuesto por el Protocolo de Kioto, así como disminuir la dependencia en el suministro de combustibles fósiles. Aunque la biomasa puede ser una fuente enorme de combustible para el transporte, como bioetanol, ésta es utilizada habitualmente para generar potencia y calor, normalmente a través de la combustión. Actualmente, el etanol es el biocombustible más utilizado para el motor de los vehículos (Demirbas, 2005). La importancia del etanol está aumentando debido a varias razones como el calentamiento global y el cambio climático. Hasta hace unos años el bioetanol no había tenido gran interés a nivel nacional e internacional, pero el mercado global de bioetanol ha entrado en una fase de crecimiento rápido, donde muchos países del mundo están cambiando su enfoque hacia las fuentes renovables para la producción de energía, debido al agotamiento de las reservas de crudo. Esta tendencia se está extendiendo también para el transporte de combustible. El etanol tiene un buen potencial como sustituto de la gasolina en el mercado de combustible para el transporte. Sin embargo, el costo de producción de bioetanol es mayor en comparación con los combustibles fósiles. La producción mundial de bioetanol en el año 2001 fue de 31 billones de litros, creció a 39 billones de litros en 2006 y se espera alcanzar 100 billones de litros en 2015 (Tahezadeh and Karimi, 2007). Brasil y Estados Unidos son los mayores productores de etanol contando con el 62% de la producción mundial (Kim and Dale, 2004). La producción a gran escala de combustible de etanol se basa principalmente en la sacarosa procedente de la caña de azúcar, en Brasil, o del almidón procedente del maíz en Estados Unidos.

### 2.1.2 Proteínas hidrosolubles

Las proteínas hidrosolubles procedentes del tabaco tienen unas propiedades funcionales y nutricionales únicas que les proporcionan un gran valor para la industria de la alimentación y para uso médico. Estas proteínas pueden ser adicionadas a los alimentos como suplementos alimenticios o bien por sus propiedades funcionales (ej. gelificante y espesante). También se pueden utilizar en medicina como una fuente de proteína pura y la hoja de tabaco, después



de la extracción, podría ser aprovechada para la fabricación de cigarrillos más seguros con concentraciones más bajas de sustancias tóxicas (Wildman, 1983).

Se dividen en dos fracciones, F1 y F2.

- La Proteína F1, es la enzima conocida químicamente como ribulosa - 1,5 - difosfato, carboxilasa – oxigenasa, también conocida como Rubisco (Wildman, 2002) que cataliza la primera reacción del ciclo de Calvin, el primer paso inicial de la asimilación fotosintética, y por tanto de la ruta responsable de la incorporación del carbono a la biosfera. Constituye más del 30% de las proteínas totales (solubles e insolubles en agua) en la planta de tabaco. En experiencias realizadas con ratas, en las que se alimentaban con la fracción I de proteínas, ésta mostró un potencial proteico (PER) mayor que la caseína, la proteína estándar para comparar la calidad nutricional de las proteínas (Wildman, 1983). Ha sido ampliamente estudiada como fuente de nutrición (Pirie, 1975; Wildman, 1979; Long, 1984) por estar presente en gran variedad de plantas dada su implicación en el proceso de la fotosíntesis y por ser particularmente adecuada para el consumo animal y humano (Wildman and Kwanyuen, 1978). El Rubisco procedente de las especies del género *Nicotiana*, tiene la principal ventaja de ser incolora, inodora e insípida y fundamentalmente libre de residuos contaminantes de plantas cuando es extraída y cristalizada por el método desarrollado por (Wildman and Kwanyuen, 1978). Esto hace que pueda ser adicionada a los alimentos sin alterar su sabor y olor. Esta proteína, en seco, es un polvo muy fino que puede mezclarse con los granos de cereal, de forma que se mejore su contenido y calidad en proteínas; además, sus propiedades que la hacen muy interesante en medicina y farmacia, ya que no contiene sodio, potasio, ácidos nucleicos, lipoides ni carbohidratos. Esto último hace que pueda incorporarse, por ejemplo, en la dieta de pacientes con insuficiencia renal para cumplir con sus requerimientos de aminoácidos sin agravar el problema de riñón por su incapacidad para eliminar los cationes. También puede utilizarse en pacientes con problemas gastrointestinales o que se recuperen de cirugía del tubo digestivo. Por otro lado la Fracción 1, se convierte en gel irreversiblemente cuando se calienta por encima de 80 °C. Estas propiedades funcionales, como la termo fijación, son similares a la albúmina de huevo y a la caseína, proteínas que son muy utilizadas en la industria alimentaria. El porcentaje en peso seco de proteína F1 que puede ser extraída de la hoja de tabaco

puede ser del 2,7 % (Wildman, 1983). Tanto la albúmina de huevo, como la caseína, en polvo, alcanzan en los mercados actuales, un precio de alrededor de 30 €·Kg<sup>-1</sup>.

- La Fracción 2 de proteínas, es también soluble en agua y de un alto valor nutricional. Su principal uso puede ser como suplemento para subir el valor nutricional de los cereales o de otros productos alimenticios. (Wildman, 1983) pudo extraer valores de F2 de 3% en peso seco de la hoja de tabaco.

La extracción y purificación de las proteínas hidrosolubles del extracto acuoso del tabaco, patentada por (Wildman and Kwanyuen, 1981), consiste básicamente en varias etapas. 1) Triturado y extracción del jugo procedente de las plantas trituradas, 2) introducción de éste en un intercambiador de calor y centrifugador, 3) filtración del extracto y almacenado en un tanque para la cristalización de F1 y posterior recogida y limpieza de los cristales formados así como recogida y limpieza de la fracción F2. Todo esto se hace en presencia de un agente reductor (ej. 2-Mercaptoethanol) que limite la oxidación de los compuestos fenólicos, ya que estos compuestos pueden formar complejos con las proteínas y, especialmente en el caso del Rubisco, reducir la cantidad de proteína recuperada (Barbeau and Kinsella, 1983).

### 2.1.3 Solanesol

Es un alcohol terpenoide de cadena larga, que ha sido utilizado como una fuente de unidades de isopreno para la síntesis de muchos bioquímicos de alto valor, incluyendo análogos de la vitamina k y quinonas metabólicamente activas como la coenzima Q10 (Hamamura *et al.*, 2002), que es utilizada en tratamientos del enfermedades del corazón, cáncer y úlceras, así como en nutraceutica para alimentos funcionales, debido a sus propiedades antioxidantes (Lenaz and Espoli, 1985). La coenzima Q10 es también utilizada como suplemento alimenticio (Lipshutz *et al.*, 2005) por sus beneficios observados en el alivio de migrañas de cabeza (Sândor *et al.*, 2005), protección contra la enfermedad de Parkinson y otras enfermedades neurodegenerativas (Shults *et al.*, 2002; Shults *et al.*, 2004) y la mejora de la presión sanguínea y el control glucémico a largo plazo de pacientes con diabetes tipo 2 (Hodgson *et al.*, 2002). Por sí mismo, el solanesol puede utilizarse como un antioxidante lipídico y en la preparación de drogas cardiacas debido a sus propiedades cardio-estimulantes. Además, destacan sus propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y

antiulcerosas (Khidyrova and Shakhidoyatov, 2002). Otros conjugados del solanesol como la N-solaneyl-N,N'-bis ethylenediamine y sus derivados (Wang *et al.*, 2007) tienen mucha importancia por su capacidad para invertir la resistencia a múltiples medicamentos y sensibilizar a las células tumorales frente a los tratamientos convencionales contra el cáncer. Por ejemplo la resistencia del Taxol<sup>TM</sup> al cáncer de vejiga ha sido un objetivo reciente donde el uso de los derivados del solanesol pueden invertir la resistencia al Taxol<sup>TM</sup> (Enokida *et al.*, 2002; Sidorova *et al.*, 2002).

En la naturaleza se encuentra principalmente en plantas de la familia de las solanáceas, y más concretamente en las hojas secas del tabaco. En éstas, se alcanzan concentraciones de entre el 0.3 y 3%, lo que las convierte en una importante fuente natural de extracción de este compuesto (Cen *et al.*, 2002). El contenido de solanesol en las hojas depende de varios factores como el tipo de tabaco, la posición en el tallo, y el tiempo de crecimiento de la planta.

La purificación de solanesol se ha centrado principalmente en las hojas de tabaco como material inicial. Se han publicado muchos protocolos que incluyen, extracción en fase sólida (Tang *et al.*, 2007), ultrasonidos (Keča *et al.*, 1997), extracción con fluidos supercríticos (Ruiz-Rodriguez *et al.*, 2008) etc. Algunas de estas investigaciones se han utilizado para producción comercial de solanesol, principalmente en China (Machado *et al.*, 2010) donde actualmente puede alcanzar en el mercado un valor de 100-150 €·kg<sup>-1</sup> (Proveedor Shaanxi Sciphor Hi-Tech Industry-Co.Hd, China). La purificación de solanesol a partir de otros miembros de la familia *Solanaceae* como la patata ha recibido mucha menos atención aunque existen algunos informes sobre la extracción en hoja esta planta (Ma *et al.*, 2009).

#### 2.1.4 Nicotina

La nicotina es un alcaloide que se encuentra en las plantas de la familia *Solanaceae*, sobre todo en el tabaco y otras especies del género *Nicotiana*. Su biosíntesis se produce en las raíces y se acumula en las hojas. Empieza a acumularse en la hoja de tabaco tras el trasplante y va incrementándose continuamente hasta que las hojas alcanzan la madurez. Sin embargo, la acumulación de nicotina en las hojas se produce sobre todo en los últimos estados de crecimiento, especialmente después del despunte (Mumba and Banda, 1990). El contenido de nicotina en las hojas de tabaco también varía en respuesta a los ataques de

herbívoros, según (Baldwin *et al.*, 1997) en las plantas de tabaco no dañadas la concentración de nicotina puede ser de entre 0.1-1 % en peso seco, mientras que en plantas con daños, se puede incrementar hasta un 1-4%.

Históricamente se ha considerado como un insecticida natural y puede proveer nuevas oportunidades en el mercado moderno de pesticidas con un creciente uso de biopesticidas (Casanova *et al.*, 2002). Los insecticidas procedentes de las plantas son considerados como una alternativa a los insecticidas convencionales para la protección de los cultivos debido a su baja toxicidad para los mamíferos, persistencia medioambiental corta y selectividad de las plagas (Isman, 2000). La efectividad mayor de la nicotina como insecticida se ha observado en insectos de cuerpo “suave” como los pulgones, mosca blanca, trips, arañas, etc. Su rendimiento, como en todos los pesticidas, depende del tipo de formulación utilizado para suministrar el compuesto activo (Borlongan *et al.*, 1998). Ha sido formulada para su uso como insecticida de diferentes formas (compuesto puro, sulfato de nicotina, tabaco en polvo y jabón) (Isman, 1997; Borlongan *et al.*, 1998) aunque la actividad insecticida más efectiva se observa con el compuesto puro y las formulaciones de jabón. Como compuesto puro se considera tóxico para los mamíferos ( $LD_{50} = 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) y es clasificado como altamente peligroso por la Organización Mundial de la Salud, representando un riesgo alto durante su manejo y durante su aplicación (Isman, 1997; OMS, 2002). Sin embargo, el jabón de nicotina, preparado mediante la neutralización de la nicotina con los ácidos grasos, puede ser fácilmente dispersado en el agua, comportándose como una emulsión concentrada y se espera que tenga una toxicidad para los mamíferos menor (Casanova *et al.*, 2002).

Además del uso de la nicotina como insecticida, recientemente está siendo estudiado por sus propiedades farmacéuticas, con aplicaciones en enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson o Alzheimer y como potencial fuente para aliviar los síntomas de desórdenes psiquiátricos como esquizofrenia, síndrome de Tourette y desorden de déficit de atención (Newhouse *et al.*, 2004).

La nicotina como compuesto puro alcanza actualmente en el mercado un valor de 20-130  $\text{€} \cdot \text{Kg}^{-1}$  (Proveedor Shaanxi Sciphor Hi-Tech Industry-Co.Hd, China).

### 2.1.5 Azúcares, almidones y celulosas.

El contenido en azúcares que tienen las hojas de tabaco, las hacen aptas para su transformación directa en etanol. La composición de la hoja según (Beilen *et al.*, 2007) es de:

- Azúcares: 20-28 % sacarosa, levulosa, y otros azúcares libres que son fácilmente fermentables
- Almidón: 8-14 %
- Celulosa: 30-45 %

Como hemos visto anteriormente la biomasa del tabaco es muy competitiva y se podría obtener tanto bioetanol por hectárea como con la remolacha azucarera o la caña de azúcar, producto habitual para la extracción de bioetanol en Brasil (Beilen *et al.*, 2007).

## 2.2 Reutilización del agua depurada

Durante los últimos treinta años, la sequía en la Unión Europea ha aumentado de forma espectacular en frecuencia e intensidad. En un contexto en el que se prevén cambios climáticos a pesar del considerable esfuerzo de la UE por paliarlos, se estima que esta tendencia continuará e incluso se acrecentará. En estas circunstancias, diseñar estrategias eficaces de gestión del riesgo de sequía se ha convertido en una prioridad para la UE.

En este marco de la creciente escasez de agua, la Comisión Europea (18.7.2007, COM/2007/0414 final) ha empezado a tener seriamente en cuenta la reutilización de aguas residuales tratadas como una vía potencial para dirigir desequilibrios de largo plazo entre la demanda y el abastecimiento de agua.

España es el país europeo con mayor déficit hídrico, y ha experimentado varios episodios de sequía desde que se registran datos meteorológicos. Cerca del 80% de los recursos hídricos se emplean en la agricultura (Gráfico 1). Sin embargo, el riego con aguas subterráneas es una fuente de preocupación medioambiental debido a la sobre-explotación del agua de los acuíferos subterráneos, que entre otras consecuencias lleva a una salinización de los acuíferos cercanos al mar, la pérdida de la calidad del agua por la utilización de productos fitosanitarios así como una alteración de los hábitats naturales existentes. En este contexto, el agua residual depurada puede considerarse como una fuente muy valiosa para su

utilización en el riego de las cosechas, sobre todo en las zonas áridas y semiáridas, como es el caso de nuestro país.

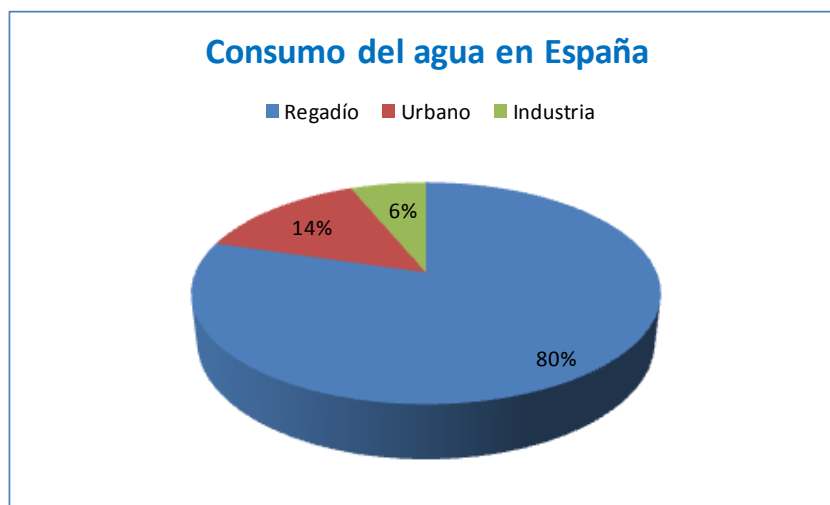


Gráfico 1. Distribución del consumo de agua en España

El uso urbano supone entre el 8 y 10 por ciento del consumo de agua. Este porcentaje se prevé que aumente por el desarrollo del turismo, precisamente en las zonas donde el agua es más escasa y se emplea con finalidades de ocio (zonas verdes, piscinas, campos de golf, etc.). El consumo de la industria se mantiene como consecuencia de las medidas de ahorro que se están implantando para reducir costes y los efluentes contaminantes.

A pesar de este panorama, en la actualidad la práctica de la reutilización del agua es escasa, se reutilizan entre 400 y 450 hectómetros cúbicos anuales sobre 3400 hectómetros cúbicos de aguas depuradas. Las causas de la escasa reutilización, son diversas, entre las más importantes puede citarse que no se dispone de protocolos de tratamiento para las aguas generadas en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) y tampoco existen criterios fundamentados y generales de evaluación y análisis de dichas aguas que permitan la caracterización de estas. Por otra parte el no disponer de datos concluyentes sobre los riesgos de componentes minoritarios, hacen que las aguas de las EDAR no sean reutilizadas y se viertan directamente a aguas superficiales.

Un uso efectivo del agua residual urbana tratada como agua de riego para la producción agrícola debe ir acompañado de los siguientes pre-requisitos:

- Control adecuado de patógenos

- Eliminación y control de productos químicos perjudiciales (compuestos orgánicos, sustancias farmacéuticas y metales pesados)
- Control de los efectos indeseables en suelo y planta
- Consideración de los temas económicos y legales
- Asegurar la aceptación pública, percepción y responsabilidad

Dado que el suministro y la degradación de la calidad del agua son preocupaciones globales que se incrementarán con el incremento de la demanda de agua, el cambio climático etc., el agua de “calidad baja” puede llegar a ser un componente cada vez más importante en el suministro de agua para la agricultura, principalmente en países con escasez de agua (Qadir, 2007).

Uno de los principales tipos de agua de “calidad baja” es el agua residual procedente de áreas urbanas y periurbanas. El agua residual se ha reciclado en la agricultura durante siglos en ciudades como Berlín, Londres, Milán y París (AATSE, 2004). Sin embargo, recientemente está cobrando mayor importancia en regiones con escasez de agua. En Pakistán el 26 % de la producción nacional vegetal se riega con agua residual (Ensink, 2004). En Hanói el 80 % de la producción vegetal procede de áreas urbanas y periurbanas (Lai, 2000). En Méjico se riegan con agua residual cerca del 260000 ha, la mayoría sin tratar (CAN, 2004). En la mayoría de estos casos, los agricultores riegan con agua residual diluida, sin tratar o parcialmente tratada.

El riesgo potencial para la salud y el medio ambiente como consecuencia del riego con agua residual está bien documentado (Angelakis *et al.*, 2003). Estos riesgos deben tenerse en cuenta y los efluentes del agua residual no deben ser utilizados hasta que se asegure un tratamiento adecuado de la misma y una aplicación segura (Salgot *et al.*, 2003). El objetivo de la reutilización del agua en la agricultura es proveer un suministro de agua de buena calidad para los agricultores y los consumidores (Dobrowolski, 2008). Por lo tanto, en los países desarrollados, las instituciones suelen determinar objetivos para la calidad del agua considerando los riesgos para la salud y requiriendo tratamientos de agua para alcanzar estos objetivos. En estos países hay planes para la reutilización del agua residual. Estos programas son desarrollados por las instituciones públicas e incluyen políticas para mejorar el manejo del agua residual en la agricultura que pueden ser puestos en práctica antes de

que la misma sea generada, mientras se está utilizando y después de que los cultivos hayan sido regados y preparados para la venta y consumo. En Europa, los tratamientos del agua residual municipal son requeridos por la Directiva 91/271/CEE, y el grado de aplicaciones previas de tratamiento es un factor muy importante en el diseño y el manejo de los sistemas de riego con este tipo de agua.

En España se ha aprobado (el 7 de diciembre del 2007), el *Real Decreto 1620/2007* que establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. En él se define el concepto de reutilización, introduce la denominación de aguas regeneradas, determina los requisitos necesarios para llevar a cabo la actividad de utilización de aguas regeneradas y los procedimientos para obtener la concesión exigida en la ley e incluye disposiciones relativas a los usos admitidos y exigencias de calidad precisas en cada caso. El objetivo de este decreto es triplicar la actual capacidad de reutilización en el horizonte del año 2015. Se cubre así una opción importante en la gestión sostenible del agua, complementaria a las actuaciones en materia de ahorro y garantía que el Ministerio de Medio Ambiente está desarrollando a través del *Programa AGUA* (Actuaciones para la Gestión y Utilización del Agua).

Los problemas más comunes provenientes de la calidad del agua se exponen a continuación.

### 2.2.1 Calidad del agua residual tratada

La calidad del agua residual tratada depende en gran medida de la calidad del agua que entra a la planta de tratamiento, la naturaleza de los residuos adicionados durante el uso, y el grado de tratamiento que el agua ha recibido. Habitualmente, en las plantas depuradoras, los parámetros que se miden rutinariamente son en términos brutos de contaminación [ej. demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), sólidos en suspensión (SS)], que son importantes para el control de contaminación del agua. Por el contrario, las características importantes del agua para riego en la agricultura son elementos químicos específicos y compuestos que afectan al crecimiento de la planta o a la permeabilidad del suelo. No todas estas características son medidas o mostradas por las plantas de depuradora.

En la Tabla 1 se muestran los parámetros utilizados por (Asano, 2006) para evaluar la calidad del agua residual para riego. Algunas restricciones de esos parámetros son arbitrarias, ya



que los cambios en la calidad del agua se producen gradualmente y no hay un punto claro de corte entre una calidad u otra. Además, hay que considerar que no es posible cubrir todas las situaciones locales cuando se preparan guías de calidad del agua.

Tabla 1. Guía para la interpretación de la calidad de agua para riego

Posibles problemas en el riego	Grado de restricción de uso		
	Ninguno	Moderado	Severo
<b>Salinidad</b>			
<b>CE (dS/m)</b>	≤0.7	0.7-3	≥3
<b>Toxicidad de ión específica</b>			
<b>Sodio (Na) (mg/L)</b>			
<b>Riego de superficie</b>	≤3	03-9	≥9
<b>Riego por aspersión</b>	≤70	≥70	
<b>Cloro (Cl) (mg/L)</b>			
<b>Riego superficial</b>	≤140	140-350	≥350
<b>Riego por aspersión</b>	≤100	≥100	
<b>Boro (B) (mg/L)</b>	≤0.7	0.7-3	≥3
<b>Otros efectos</b>			
<b>Nitrógeno Total (mg/L)</b>	≤5	5-30	≥30
<b>pH</b>	Rango normal de 6.5-8		

### 2.2.2 Salinidad

Históricamente la calidad del agua de riego se ha determinado por la cantidad y tipos de sales presentes. Aunque los cultivos varían considerablemente en su capacidad para tolerar condiciones salinas (Maas, 1999). En general, conforme la salinidad aumenta en el agua de riego tratada, la probabilidad de que aparezcan problemas en ciertos suelos y cultivos aumenta. Ante estas condiciones, es necesario un buen drenaje para permitir un continuo movimiento del agua y que la sal se acumule por debajo de la zona de las raíces.

### 2.2.3 Toxicidad de un ion específico

La toxicidad debida a un ion específico se produce cuando ese ion es tomado por la planta y se acumula en cantidades que pueden producirle daños o disminuir la producción. Los iones

que preocupan más normalmente en el agua residual tratada son el sodio, el cloro y el boro. Las fuentes de boro son normalmente detergentes de uso doméstico o vertidos de plantas industriales. El cloro y el sodio también provienen del uso doméstico. Los problemas se acentúan normalmente con condiciones severas de clima (calor).

#### 2.2.4 Permeabilidad del suelo

Además de los efectos en la planta, el sodio en el agua de riego puede afectar a la estructura del suelo y reducir la velocidad de movimiento del agua así como la aireación del suelo. Los problemas de permeabilidad normalmente se producen en los primeros centímetros del suelo y sobre todo están relacionados con una cantidad elevada de sodio o un contenido bajo de calcio (Westcot, 1985). Para un SAR dado, la velocidad de infiltración aumenta conforme aumenta la salinidad o disminuye conforme lo hace la salinidad. Algunas veces el agua residual tratada tiene el sodio relativamente alto, con lo que el SAR alto es uno de los principales problemas que afectan a la de reutilización de agua residual. Las correcciones químicas y biológicas son necesarias todo el tiempo para prevenir la degradación estructural del suelo cuando se riega exclusivamente con agua de elevado contenido en sodio.

#### 2.2.5 Nutrientes

Los nutrientes en el agua residual tratada suministran valor fertilizante para la producción de cultivos pero en algunos casos se encuentran por encima de lo que la planta necesita y pueden causar problemas relacionados con un crecimiento vegetativo excesivo, maduración insuficiente o reducción de la calidad. Los nutrientes que aparecen en cantidades importantes son el nitrógeno, el fósforo y ocasionalmente el potasio, zinc, boro y azufre (Westcot, 1985). Los nutrientes del agua residual tratada pueden contribuir al crecimiento del cultivo, pero debe hacerse un control periódico que evite una aplicación de nutrientes que no sea equilibrada.

#### 2.2.6 Contenido microbiológico

En la reutilización de aguas residuales para el riego existe riesgo de contaminación por bacterias, virus y parásitos, que puede afectar tanto a tanto a las personas que se encuentran en contacto con el cultivo como a los consumidores de los productos agrícolas

regados con este tipo de agua. Sin embargo en estudios recientes se ha demostrado la seguridad del agua residual reutilizada para riego (York, 2008).

### 2.2.7 Otros contaminantes de creciente importancia

El agua residual puede contener compuestos orgánicos e inorgánicos tóxicos que podrían pasar fácilmente a la cadena alimentaria por medio del agua residual utilizada en el riego. La acumulación de metales pesados en suelo y planta es un aspecto relacionado con la reutilización del agua residual tratada que no se ha estudiado adecuadamente y es un problema que tiene un impacto directo en la salud del consumidor y en la calidad medioambiental. Pero además de los metales, es importante señalar el impacto de la contaminación química causada por los contaminantes orgánicos prioritarios, que presentan persistencia en el agua. Estos son compuestos de toxicidad aguda y/o compuestos mutagénicos o carcinogénicos tales como pesticidas, PAHs (Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos), intermediarios industriales, fenoles etc. (Hamscher *et al.*, 2002; Batarseh *et al.*, 2003; Thiele-Bruhn, 2003). De hecho los vertidos de agua residual municipal son la principal fuente de PAHs y fenoles (Ng *et al.*, 1997; Tor *et al.*, 2003; Jiries *et al.*, 2005).

Además de estos contaminantes prioritarios, el agua residual contiene los denominados contaminantes “emergentes” (detergentes, productos farmacéuticos, productos de higiene personal etc.). Son contaminantes previamente desconocidos o no reconocidos como tales (fundamentalmente porque no existían técnicas analíticas que los detectaran, o simplemente porque no se les había prestado atención antes), cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva pero sí la preocupación por las posibles consecuencias de la misma. En la mayoría de los casos, son contaminantes no regulados por la legislación vigente que pueden ser candidatos a serlo en el futuro, dependiendo de la investigación de sus potenciales efectos sobre la salud (Petrovic and Barceló, 2006).

En varios estudios (Al Nasir and Batarseh, 2008; Redshaw *et al.*, 2008; Shenker *et al.*, 2011) se ha comprobado que los contaminantes orgánicos pueden ser transferidos del suelo regado con agua residual a diferentes partes de la planta. La velocidad de adquisición por parte de la planta depende del tipo y de las propiedades físico-químicas del compuesto orgánico. Por tanto, debe prestarse atención este punto ya que según los estudios realizados por (Shenker *et al.*, 2011), en el caso de los productos farmacéuticos, su introducción a

través de la cadena alimentaria es de la misma magnitud o incluso mayor que por la vía del agua potable.



### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Localización

El experimento se llevó a cabo en un invernadero tipo “raspa y amagado” situado en la Fundación Finca Experimental UAL-ANECOOP en la provincia de Almería (Longitud: 2° 16” W; Latitud: 36° 50”N; Altitud 87 m), con una superficie para cultivar de 1784 m<sup>2</sup>, suelo arenado y sistema de riego por goteo.



Gráfico 2. Localización del invernadero en la Finca Experimental UAL-ANECOOP

#### 3.2 Descripción de la instalación para riego situada en el invernadero

El invernadero fue dividido en cuatro sectores de riego, dos regados con agua residual urbana depurada (hasta tratamiento secundario) y dos regados con el agua de uso habitual de los agricultores de la zona.

En el Gráfico 3 se muestra la instalación de riego para el tratamiento con aguas residuales en la finca experimental de 1890 m<sup>2</sup> totales, dividida en las cuatro subparcelas de 450 m<sup>2</sup> cada una (con un caudal de 2700 L/h por parcela).

Para regar el cultivo con agua residual, se instalaron dentro del invernadero dos depósitos de polietileno de 5000 litros cada uno, que fueron recargados semanalmente con el agua residual depurada procedente de la Estación Depuradora de Aguas Residuales de El Ejido. En

cada riego, se hizo pasar el agua por dos filtros de anillas colocados de forma consecutiva de 120 y 105 micras con una capacidad para filtrar de 20000 L/h cada uno.

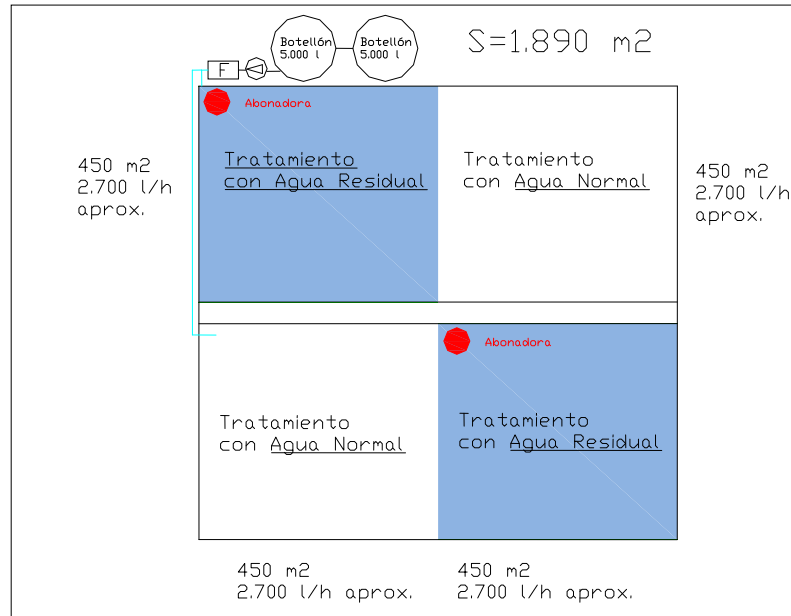


Gráfico 3. Esquema de la instalación

El sistema de impulsión consta de una bomba sumergida de 3 CV trifásica con protección eléctrica con comando ON/OFF, capaz de elevar 6 m<sup>3</sup>/h a 20 m.c.a. Dicha bomba se sitúa en el interior de uno de los depósitos de 5000 litros.

#### Características técnicas de la bomba:

La electrobomba sumergible es apta para evacuación de líquidos con contenidos filamentosos o sólidos en suspensión, aguas residuales, pozos negros y fosas sépticas. Dicha bomba lleva un impulsor mono canal y está fabricada en acero inoxidable.

- Prestaciones: 50 mm máximo paso de sólidos.
- Materiales: cuerpo de impulsión, impulsor, carcasa y tapa motor en AISI 304; eje motor en AISI 303.
- Trifásica 400 V 50 Hz, 3 CV.



Foto 1. Detalle de los depósitos y de su llenado por la parte posterior

### 3.3 Generalidades sobre el cultivo de tabaco y su manejo

La mayoría del tabaco cultivado para consumo pertenece a la especie *Nicotiana tabacum*. Esta especie comprende numerosas variedades, cuyo número crece continuamente al crearse nuevas líneas por distintos procedimientos genéticos. Existen cuatro grupos básicos en los que se agrupan todas las variedades cultivadas: *Havanensis*, *Brasiliensis*, *Virginica* (tabaco tipo Virginia) y Purpúrea. El tabaco tipo Virginia se caracteriza por ser plantas altas y fuertes de tallo grueso, con entrenudos muy cortos en la parte baja del tallo y más distanciados en la parte superior (LLanos, 1981).

#### 3.3.1 Condiciones agroclimáticas

##### *El clima*

El tabaco es originario 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. Los factores del clima que más influyen 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. Siendo la temperatura una de las variables más importantes a considerar para implantar este cultivo en una región (LLanos, 1981).

##### *Densidad de plantación*

Según (MAPA, 2007), la densidad de plantación habitual del cultivo de tabaco tradicional en España es de 18000 plantas/ha. La densidad óptima para obtener el mayor beneficio económico de la cosecha depende de muchos factores, tales como la calidad, la fertilidad de



la tierra, el abonado, la variedad cultivada (aptitud productiva y desarrollo de partes aéreas y subterráneas) disponibilidad de agua para regar, clima etc. (LLanos, 1981). Cuantas más plantas por unidad de superficie, se eleva el rendimiento superficial de la cosecha hasta un máximo, a partir del cual la excesiva competencia por el espacio entre las propias plantas llega a perjudicar la producción. Al mismo tiempo que hacemos más densa la plantación y que por tanto, dentro de ciertos límites, se incrementa la producción por hectárea, disminuye el rendimiento de la planta. Los cambios de densidad en el tabaco tipo Virginia tienen poco efecto sobre la concentración de nicotina de las hojas más bajas, pero si la densidad aumenta, disminuye en las hojas medias y superiores. La concentración de azúcares reductores es mayor en todas las hojas cuando aumenta la densidad de plantas, excepto en las situadas en las partes bajas de la planta donde los azúcares decrecen (López, 2002).

### *Fertilización*

Según (MAPA, 2007), en el número total de unidades a aportar de los diferentes elementos minerales influyen diferentes factores, tales como el tipo de suelo, contenido en materia orgánica, climatología, labores preparatorias, posibles enfermedades, forma de regar y producción esperada. Una fertilización media del cultivo de tabaco tradicional para cigarrillos podría ser:

- Nitrógeno: 80-120 kg·ha<sup>-1</sup>
- Fósforo: 40 – 50 kg·ha<sup>-1</sup> en forma de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>
- Potasio: 250 -300 kg·ha<sup>-1</sup> en forma de K<sub>2</sub>O
- Magnesio: 60 – 80 kg·ha<sup>-1</sup> en forma de MgO

El nutriente mineral más importante para el tabaco es el Nitrógeno, afectando tanto a la producción como a la calidad del tabaco (Marchetti *et al.*, 2006). El consumo de este elemento se produce principalmente en los primeros estados vegetativos del crecimiento, mientras que en los últimos estadios del cultivo el consumo disminuye (Ju *et al.*, 2008).

### *Suelo*

En general el tabaco prefiere tierras francas tirando a sueltas, profundas, que no se encharquen y sean fértiles. En terrenos de textura suelta, las raíces se desarrollan más en

busca de agua que en terrenos más pesados en los que el agua se retiene mejor (LLanos, 1981). Esto hace que el contenido en alcaloides de la hoja sea mayor, ya que la nicotina se sintetiza en las raíces y la cantidad de ésta depende, entre otras cosas, de la proporción en que crecen las raíces en relación a los órganos aéreos de la planta (Alworth and Rapoport, 1965).

### *Riego*

El agua está involucrada en todos los procesos de crecimiento de la planta, por lo que el suministro continuo de ella es esencial para obtener una buena producción tanto en cantidad como en calidad, aunque hay algunos estados fenológicos de la planta que son más críticos que otros (Çakir and Çebi, 2010). Según (Postiglione, 1988) déficits de agua, en los primeros estados vegetativos no producen pérdida de producción en las plantas de tabaco, mientras que cuando empieza la producción, incluso intervalos pequeños de déficits de agua producen disminuciones de más del 15 %. Por otro lado, la humedad de suelo está relacionada con las reservas de nitrógeno. Estas se movilizan en suelo húmedos y, a través de mecanismos relacionados con el metabolismo de los hidratos de carbono y de las proteínas, conduce a una mayor acumulación de almidón y otros azúcares al final del ciclo vegetativo. Además, se ha comprobado que un aporte abundante de agua disminuye el contenido proteico de las hojas (LLanos, 1981).

### **3.4 Descripción del ensayo y diseño experimental**

Las semillas de tabaco Virginia variedad Cetarsa 2M, fueron sembradas en agosto de 2007 en el semillero Ejidoplant S.L. (Almería). Esta variedad de tabaco se caracteriza por tener un ciclo vegetativo medio. Es resistente a los nematodos *Meloidogine incognita*, *Meloidogine arenaria*, al hongo *Fusarium sp.*, al virus del mosaico del tabaco (TMV) y a la marchitez bacteriana causada por *Pseudomonas solanacearum*. Así mismo es tolerante a *Phytophthora parasitica*, el nematodo *Globodera tabacum* y susceptible al virus "Y" de la patata (PVY) (MAPA, 2007).

Las plantas de tabaco fueron trasplantadas el 2 de octubre de 2007, terminando el ciclo en junio de 2008. El experimento se realizó con dos densidades de plantación y dos alturas de

corte de la planta, tanto en los sectores regados con agua residual como en los regados con agua normal, que combinados constituyen los siguientes tratamientos:

- T1.1 Densidad 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 80 cm
- T1.2 Densidad 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 40 cm
- T2.1 Densidad 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 80 cm
- T2.2 Densidad 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 40 cm
  
- T1.1 R Densidad 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 80cm. Agua Residual
- T1.2 R Densidad 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 40 cm. Agua Residual
- T2.1 R Densidad 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 80 cm. Agua Residual
- T2.2 R Densidad 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 40 cm. Agua Residual



Foto 2. Trasplante de tabaco con densidad de plantación 4 plantas/m<sup>2</sup>

En el Gráfico 4 se muestran los marcos de plantación para cada tratamiento.

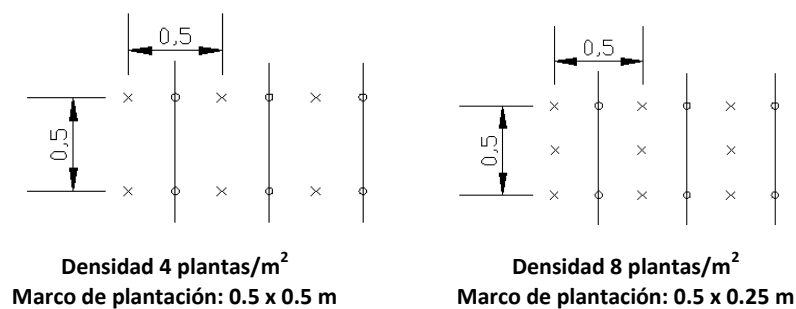


Gráfico 4. Marcos de Plantación

Los ocho tratamientos se realizaron con cuatro repeticiones y condiciones similares de fertilización y volumen de riego. Cada uno de los tratamientos y sus repeticiones se distribuyeron según un diseño experimental de bloques completos al azar (Little y Hills, 1987; Peterson, 1994) (Gráfico 5), en parcelas de ensayo de 1.5 m x 10 m, constituidas por cuatro ramales portagoteros, con una separación entre ellos de 0.5 m y separadas unas de otras por pasillos de 2 m de ancho. En total, la superficie cultivada en el invernadero fue de 480 m<sup>2</sup>, en la que se distribuyeron las 32 parcelas experimentales.



Gráfico 5. Distribución de los tratamientos en el invernadero

Foto 3. Detalle de las parcelas

### 3.4.1 Fertilización y riego

La fertilización de los cultivos se realizó mediante fertirrigación. Se instalaron en el invernadero dos tanques de fertilización de 200 litros provistos de dos bombas de inyección. Una de las bombas suministraba el fertilizante a los dos sectores regados con agua residual y la otra a los dos restantes. Se utilizaron tres fertilizantes sólidos cristalinos, con composición N-P-K:

- 19% Nitrógeno total (11.7% N–NH<sub>4</sub>, 7.3% N–NO<sub>3</sub>), 19% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 19% K<sub>2</sub>O.
- 26% Nitrógeno total (0.4% N–NH<sub>4</sub>, 8.3% N–NO<sub>3</sub>, 17.3% N–urea) y 10% K<sub>2</sub>O.
- 12% Nitrógeno total (6.7% N–NH<sub>4</sub>, 5.3% N–NO<sub>3</sub>), 45% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 12% K<sub>2</sub>O.

Estos fueron distribuidos a lo largo del ciclo del cultivo como muestra la Tabla 2.

Tabla 2. Distribución de fertilizantes en cultivo de tabaco

Nombre	Fecha	Cantidad* (kg)	Composición (%)			Cantidad aplicada (kg/ha) **		
			N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
NPK	9-Oct-07	50	12	45	12	125	469	125
NPK	20-Oct-07	50	12	45	12	125	469	125
NPK	13-Nov-07	50	19	19	19	198	198	198
NPK	7-Dec-07	50	26	0	10	271	0	104
NPK	7-Dec-07	50	12	45	12	125	469	125
NPK	15-Feb-08	50	19	19	19	198	198	198
NPK	8-Mar-08	50	19	19	19	198	198	198
NPK	28-Mar-08	50	19	19	19	198	198	198
NPK	18-Apr-08	50	19	19	19	198	198	198
Total						1635	2396	1469

\*Suma de los kg suministrados a los dos tanques de fertilización

\*\*Para una superficie cultivada de 480 m<sup>2</sup>

La cantidad total del agua suministrada al cultivo durante los 9 meses de cultivo, fue de 1.25 m<sup>3</sup>·m<sup>-2</sup>.

### 3.4.2 Control de plagas

Para el control de las plagas se utilizaron métodos químicos. Se hicieron tratamientos fitosanitarios en prevención de posibles plagas. No hubo incidencias de enfermedades causadas por hongos o virus. Sin embargo, en la fase final del cultivo aparecieron algunos focos de pulgón que fueron controlados con la aplicación de Molpe 200. En la Tabla 3 se muestran los pesticidas aplicados durante todo el ciclo del cultivo.

Tabla 3. Productos fitosanitarios aplicados al cultivo de tabaco

Nombre	Fecha	Uso	Principio activo
Fosbel 80	Octubre	Fungicida	Fosetil
Terrestre	Octubre	Insecticida	Buprofezin
Triana	Octubre	Fungicida	Triadimenol
Hecate 50	Enero	Fungicida	Oxicloruro de cobre
Hileo 360	Enero	Herbicida	Glifosato
Metiltec	Abril (4/04/08)	Insecticida	Piridaben
Mancozeb 80	Abril (4/04/08)	Fungicida	Mancozeb
Molpe 200	Abril (24/04/08)	Insecticida	Metomilo
Molpe 200	Mayo (23/05/08)	Insecticida	Metomilo

### 3.5 Parámetros analizados en agua de riego tratada

Como se ha mencionado anteriormente, el agua residual urbana tratada reutilizada en el invernadero, se obtuvo de la Estación Depuradora de Aguas Residuales de El Ejido (Almería). Esta planta trata 13800 m<sup>3</sup>/día de agua residual urbana. El influente de agua se somete en primer lugar a un pre-tratamiento físico para eliminar los sólidos más gruesos y grasas, seguido de una decantación primaria de partículas. Finalmente se realiza un tratamiento secundario biológico con lodos activados, después del cual el agua tratada es descargada.

El agua fue analizada mensualmente, durante los 9 meses de cultivo, con el fin de conocer la concentración media en la misma de contaminantes orgánicos y metales pesados. Se tomaron muestras de agua integradas a intervalos de una hora, representativas de las 24 horas de funcionamiento de la planta depuradora. Estas muestras fueron recogidas en botellas de vidrio y almacenadas y conservadas a 4°C en una cámara fría hasta su posterior análisis.

#### 3.5.1 Análisis de contaminantes orgánicos

Para la determinación cuantitativa de compuestos en agua, se utilizan técnicas cromatográficas que separan cada analito de la mezcla compleja que constituye la muestra. La cromatografía gaseosa (GC) se puede aplicar directamente a compuestos con una elevada volatilidad, pero los compuestos polares y cargados es preferible analizarlos por cromatografía líquida (LC).

### Compuestos analizados por cromatografía líquida (LC)

Mediante esta técnica se analizaron 68 compuestos (Tabla 4) pertenecientes en su mayoría al grupo de fármacos y algunos de sus principales metabolitos.

**Tabla 4. Compuestos analizados por cromatografía líquida**

Compuestos			
4-amino-antipirine (4-AA)	Erythromycin	Naproxen	Citalopram
4-dimethylaminoantipirine (4-DAA)	N-formyl-4-amino-antipirine (4-FAA)	N-acetyl-4-amino-antipirine (4-AAA)	Clarithromycin
4MAA	Fenofibric Acid	Fenofibrate	Clomipramine
Acetaminophen	Fenoprofen	Nicotine	Cotinine
Antipyrine	Fluoxetine	Ofloxacin	Ifosfamide
Atenolol	Furosemide	Omeprazole	Iopamidol
Benzafibrate	Gemfibrozil	Paraxanthine	Iopromide
Caffeine	Hydrochlorothiazide	Paroxethine	Lincomycin
Carbamazepine	Ibuprofen	Propranolol	Loratadine
Carb,Epoxide	Indomethacine	Ranitidine	Nadolol
Cefotaxime	Ketoprofen	Salbutamol	Phenacethin
Ciprofloxacin	Ketorolac	Sotalol	Pravastatin
Clofibrac acid	Mefenamic Acid	Sulfamethoxazole	Primidone
Codeine	Mepivacaine	Terbutaline	Salicylic Acid
Diatrizoate	Urbason	Trimethoprim	Sulfamethazine
Diazepam	Metoprolol	Amitriptyline	Sulfapyridine
Diclofenac	Metronidazole	Azithromycin	Sulfathiazole

Estos compuestos fueron extraídos del agua según (Gómez *et al.*, 2010), mediante SPE (extracción en fase sólida) de forma automatizada con un equipo ASPEC XL (de Gilson), en el que la extracción se lleva a cabo utilizando como adsorbente OASIS HLB, apropiado para análisis multiresiduo, ya que extrae compuestos de muy diversas propiedades químico-física. En el Gráfico 6 se muestra un esquema del proceso de extracción.

Para el análisis de las muestras se siguió el método descrito por (Bueno *et al.*, 2010), desarrollado en un 3200QTRAP LC-MS/MS en modo ESI en modo positivo y negativo. En este método, la separación de los analitos se realiza con un sistema HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) de Agilent usando una columna en fase reversa XDB-C18 de 4.6 mm x 50 mm y 1.8 µm de tamaño de partícula.

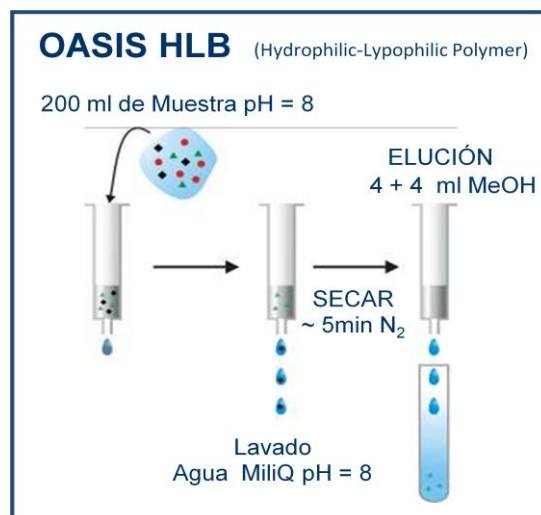


Gráfico 6. Esquema de extracción de contaminantes en agua mediante SPE

#### Compuestos analizados por cromatografía gaseosa (GC)

Los compuestos más hidrofóbicos fueron analizados con cromatografía gaseosa. Se estudiaron 26 compuestos (Tabla 5), principalmente productos de cuidado personal, filtros solares o hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs).

Los compuestos fueron extraídos y analizados con la metodología descrita en (Gómez *et al.*, 2009), mediante extracción líquido-líquido (LLE) con n-hexano como fase orgánica y ajuste de pH a 3. La LLE está basada en la partición de los analitos entre la muestra acuosa y un disolvente orgánico. De esta forma, la eficiencia de extracción va a depender de la afinidad del analito por el disolvente orgánico utilizado, de la relación de volumen de las fases, y del número de etapas de extracción. Una vez extraídos los compuestos, la cuantificación se realizó mediante un cromatógrafo de gases Agilent serie 7890 acoplado a un detector de masas Agilent 5975.



Foto 4. Ajuste de pH y extracción LLE



Tabla 5. Compuestos analizados por cromatografía gaseosa

Compuestos	Grupo
Benzophenone-3	Filtro UV
Ethylhexyl methoxycinnamate	Filtro UV
Celestolide	Fragancia sintética
Galaxolide	Fragancia sintética
Octocrylene	Fragancia sintética
Phantolide	Fragancia sintética
Tonalide	Fragancia sintética
Traseolide	Fragancia sintética
Musk ketone	Fragancia sintética
Musk xylene	Fragancia sintética
Triclosan	Antiséptico
BHT	Antioxidante
Acenafteno	PAH
Acenaftileno	PAH
Antraceno	PAH
Benzo (b) fluoranteno	PAH
Benzo (a) antraceno	PAH
Benzo (a) fluoranteno	PAH
Benzo (a) pireno	PAH
Benzo (k) fluoranteno	PAH
Chrysene	PAH
Fluoranteno	PAH
Fluoreno	PAH
Naftaleno	PAH
Fenantreno	PAH
Pireno	PAH

### 3.5.2 Análisis de metales pesados

Las muestras de agua fueron enviadas a la Universidad de Jaén, donde se analizaron los metales, níquel, cadmio, mercurio y plomo.

### 3.6 Parámetros analizados en planta

Alcanzadas las alturas de corte establecidas se tomaron como muestra diez plantas al azar de cada parcela, evitando las situadas en los extremos para eliminar el efecto borde. Después de cada corte, realizado a unos 15 cm del suelo, las plantas volvían a rebrotar y se dejaban crecer hasta alcanzar nuevamente las alturas de cada tratamiento. Se dieron un total de siete cortes en las plantas de las parcelas cuya altura de corte era de 40 cm y cinco en las parcelas de altura de corte 80 cm.



Foto 5. Parcelas cortadas a 40 cm y detalle de los nuevos brotes de la planta de tabaco

Las plantas fueron medidas y pesadas en campo para determinar la producción en  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$  de peso fresco. Posteriormente fueron trasladadas al laboratorio para el análisis de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa), almidón, proteínas hidrosolubles, nicotina y solanesol. Una vez en el laboratorio, se cogieron, sistemáticamente hojas de todos los niveles de las 10 plantas y se homogeneizaron para su posterior análisis. Las hojas se clasificaron y etiquetaron en bolsas individuales de papel. Parte de estas muestras en fresco se utilizaron para el análisis de azúcares, almidón y proteínas hidrosolubles. La cantidad de muestra restante fue pesada e introducida en una estufa de aire forzado a  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2 días aproximadamente, hasta eliminar todo su contenido en agua. Una vez deshidratadas se volvieron a pesar para obtener su porcentaje en peso seco mediante la siguiente fórmula.

$$\% \text{ materia seca} = (\text{Peso total seco} / \text{Peso total fresco}) 100.$$

Obtenido el peso seco, las muestras fueron molidas para el análisis de nicotina y solanesol.

### 3.6.1 Proteínas hidrosolubles

La extracción de proteínas hidrosolubles se realizó en medio acuoso. Las plantas frescas fueron troceadas. Se pesaron 20 g de muestra y se les añadió 100 ml de agua destilada 1mM  $\beta$ - mercaptohetanol, para evitar la oxidación de las proteínas. Esta mezcla fue extraída en un

polytron modelo PT-10-35 durante un minuto. El extracto obtenido, rico en proteínas hidrosolubles, fue filtrado y la concentración de proteínas fue determinada por colorimetría mediante el método de Bradford (1976) utilizando un espectrofotómetro Varian modelo 50 BIO.



Foto 6. Extracción de proteínas en medio acuoso

### 3.6.2 Nicotina

Para el análisis de nicotina se desarrolló un método analítico consistente en la extracción del compuesto por ultrasonidos y posterior análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem, usando impacto electrónico como modo de ionización.

La extracción por ultrasonidos es una técnica utilizada anteriormente por otros autores en la extracción de nicotina (Zuo *et al.*, 2004), que permite mediante la aplicación de sonidos de alta frecuencia extraer del material vegetal el compuesto buscado. Las partículas sólidas y líquidas se aceleran ante la acción ultrasónica y como consecuencia el compuesto pasa rápidamente de la fase sólida al disolvente.

Se pesaron 500 mg de muestra y se introdujeron en frascos de vidrio. Se le adicionaron 20 ml de acetato de etilo más 0.5 ml de amoniaco y fueron sometidos a ultrasonidos durante 15 min. Tras su paso por ultrasonidos el extracto fue filtrado y diluido mil veces para su posterior análisis mediante cromatografía de gases.

El equipo utilizado para la cuantificación de la nicotina fue un cromatógrafo de gases Varian 3800 acoplado a un espectrómetro de masas con analizador de trampa de iones Varian 4000 con inyector Varian PTV 1079 y automuestrador Varian 8400.

Las condiciones cromatográficas del método se describen a continuación:

El volumen de inyección es de 10  $\mu\text{L}$ . La inyección se lleva a cabo con un programa de temperaturas en el inyector de 70 $^{\circ}$  C como temperatura inicial durante 0.50 min, y posteriormente aumenta hasta 300 $^{\circ}$  C con un gradiente de 80 $^{\circ}$  C/min, que se mantiene durante 10 minutos.

El programa de temperatura del horno comienza a 80 $^{\circ}$  C durante 1 min, seguidamente se lleva a 200 $^{\circ}$  C a una velocidad de 8 $^{\circ}$  C/min y después aumenta hasta 290 $^{\circ}$  C a 30 $^{\circ}$  C/min. El tiempo total del programa es de 19 minutos.

### 3.6.3 Solanesol

Para el análisis de solanesol en planta de tabaco se desarrolló un método analítico consistente en una extracción con  $\text{CO}_2$  supercrítico, seguida de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (Gómez-Ramos, 2008). El proceso de extracción con fluidos supercríticos es similar al de una extracción con disolvente líquido, con la particularidad de que el agente extractor es un fluido supercrítico, en este caso  $\text{CO}_2$ . Es una técnica que se aplica habitualmente para la extracción de compuestos en plantas, ya que proporciona extractos de alta pureza sin residuos químicos o disolventes (Del Valle and Aguilera, 1999).

La extracción del solanesol se realizó con un extractor de fluidos supercríticos modelo 260 D, y las condiciones óptimas de extracción: temperatura 40  $^{\circ}\text{C}$ , presión 150 atm, 30 ml de volumen de  $\text{CO}_2$  y acetato de etilo como disolvente colector.

El análisis de las muestras se realizó mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas, con un 3200QTRAP LC-MS/MS en modo ESI. La separación cromatográfica se hizo con un sistema de HPLC equipado con una columna analítica de 50 mm x 4.6 mm y 1.8  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula (SB-C8 Agilent). El volumen de muestra inyectado fue de 20  $\mu\text{L}$ . Las fases móviles utilizadas fueron acetonitrilo (A) y una mezcla de

acetonitrilo e isopropanol (1:1, v/v) 2 mM de acetato amónico (B). El método cromatográfico optimizado comienza con un 100% de B, manteniéndose constante en modo isocrático durante 7 minutos, después cambia a 100% A y se mantiene constante durante 3 minutos, con un flujo de 0.2 mL/min.

#### 3.6.4 Azúcares y almidón

El análisis de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) y almidón fue realizado por el laboratorio COEXPHAL.

### 3.7 Parámetros analizados en suelo

Al finalizar el cultivo, se determinó la acumulación en el suelo de contaminantes orgánicos y metales pesados presentes en el agua residual depurada en:

- a) Suelo regado con agua residual y con cultivo de tabaco
- b) Suelo regado con agua residual sin cultivo de tabaco. Con el fin de conocer la influencia de la planta en la acumulación de contaminantes en el suelo. Para esto se prepararon en el invernadero dos parcelas consistentes en dos ramales portagoteros que regaban el suelo con agua tratada a la vez que se regaba el cultivo.

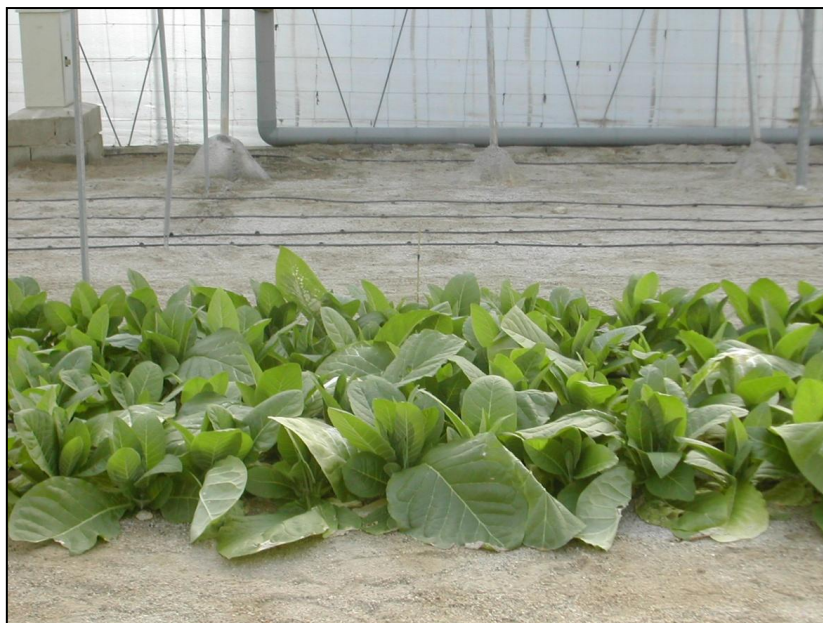


Foto 7. En primer plano parcela con cultivo y en segundo plano parcela regada pero sin cultivo

Se tomaron muestras de suelo al inicio y al final del cultivo en el suelo perteneciente a los sectores regados con agua residual. Una vez retirada la capa de arena, la toma de muestras se centró en los primeros 20-25 cm del suelo. Al inicio del cultivo se recogieron de cada uno de los dos sectores 10 submuestras de suelo y que se mezclaron bien. Y al final del cultivo se volvieron a recoger 10 submuestras del suelo de cada sector regado con agua residual y con cultivo y de las dos parcelas regadas sin cultivo. Estas 6 muestras compuestas fueron liofilizadas para su posterior análisis. Una vez secas, se tamizaron con un tamiz de 2mm de luz y se homogeneizaron.

### 3.7.1 Análisis de contaminantes orgánicos

Los contaminantes orgánicos fueron extraídos del suelo mediante el desarrollo de un método de extracción por ultrasonidos. Se pesaron 5 mg de muestra liofilizado y se introdujeron en frascos de vidrio. Se le adicionaron 50 ml de metanol (para compuestos analizados posteriormente por LC) o de acetato de etilo (compuestos de analizados por GC) y fueron sonicados durante 15 min. Tras su paso por ultrasonidos el extracto fue filtrado y diluido concentrado 10 veces para su posterior análisis.

Una vez extraídos del suelo los compuestos, se analizaron con la metodología analítica descrita previamente para los compuestos analizados en agua de GC y LC (punto 3.4).

### 3.7.2 Metales pesados

Los metales fueron analizados por servicio de espectroscopia de masas de la Universidad de Almería.

## 3.8 Tratamiento estadístico

El tratamiento estadístico de los datos se ha realizado mediante el paquete informático STATGRAPHICS Plus 5.1.

### *Análisis de varianza*

Este análisis se ha realizado por medio de la tabla ANOVA, la cual descompone la variabilidad de los diferentes factores de contribuciones esperadas a varios factores. En este análisis, la contribución de cada factor aislado o emparejado ha sido medida habiendo eliminado los efectos de los demás factores. Se han elegido para la descripción de los resultados los

niveles de significación que cabría esperar con una probabilidad de incertidumbre del 5% y del 1%, designados frecuentemente como significativo y muy significativo. En este apartado de validez de la hipótesis nula, se obtiene comparando el F experimental con el F teórico que aparece en las tablas correspondientes para cada coeficiente de seguridad para concluir que las muestra han sido o no tomadas de poblaciones con diferentes medias para un coeficiente de seguridad determinado ( $p$ ).

#### *Separación de medias*

El método usado para discriminar entre las medias de los diferentes tratamientos, y en cada muestreo, es el test de la diferencia mínima significativa (DSM). Con él se obtiene el valor numérico que separa las medias que proceden de tratamientos estadísticamente diferentes a un determinado nivel de incertidumbre.

Las diferencias entre tratamientos para cada una de las distintas variables estudiadas se establecieron mediante el análisis de la varianza y el test de las mínimas diferencias significativas (DSM) para un intervalo de confianza del 95%, es decir un valor de  $P$  de 0.05 y del 99%, un valor de  $P$  de 0.01.

.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Detección de contaminantes orgánicos e inorgánicos en agua residual urbana tratada

En el agua residual urbana depurada se hallaron un total de 75 compuestos de los 98 analizados a niveles de  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . En la Tabla 6 se muestra la concentración media de los compuestos detectados en el agua de riego utilizada durante el todo el ciclo de cultivo.

Tabla 6. Concentración media de compuestos detectados en el agua residual urbana tratada utilizada en el riego

Compuestos	Concentración ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Compuestos	Concentración ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Compuestos	Concentración ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )
4-AA	8729	Ifosfamide	6	Salicilic Acid	7
4MAA	9753	Indomethacine	129	Sotalol	31
Acetaminophen	71	Ketoprofen	757	Sulfamethoxazole	556
Amitriptyline	3	Ketorolac	269	Sulfapyridine	18
Antipyrine	380	Lincomycin	8	Terbutaline	13
Atenolol	24124	Loratadine	1	Trimethoprim	190
Benzafibrate	99	Mefenamic A.	49	Fluoranteno	6
Azithromycin	45	Mepivacaine	32	Fluoreno	44
Caffeine	4649	Metoprolol	37	Fenantreno	36
Carb.Epoxide	34	Metronidazole	53	Pireno	22
Carbamazepine	159	4-AAA	12423	Benzophenone-3	66
Ciprofloxacin	857	Nadolol	5	Celestolide	11
Citalopram	20	Naproxen	1171	E. methoxycinnamate	21
Clarithromycin	65	4-FAA	13004	Galaxolide	9962
Clofibrilic acid	27	Nicotine	367	Octocrylene	9
Codeine	1059	Ofloxacin	655	Phantolide	3
Cotinine	18	Omeprazole	97	Tonalide	977
Diazepan	12	Paraxanthine	6695	Traseolide	5
Erythromycin	513	Phenacethin	52	Triclosan	292
Fenofibrilic Acid	28036	Pravastatin	25	BHT	69
Fluoxethine	102	Primidone	5	Musk ketone	32
Gemfibrozil	6872	Propanolol	38	Musk xylene	7
Hydrochlorothiazide	1446	Ranitidine	642	Cadmium	De*
Ibuprofen	6990	Salbutamol	20	Lead	682

\*Detectado

Se han encontrado 2 metales pesados, plomo y cadmio, así como 4 PAHs; fluoranteno, fluoreno, fenantreno y pireno. Estos compuestos se encuentran dentro de la lista de sustancias de interés prioritario, y la Unión Europea considera su presencia preocupante en las aguas superficiales, ya que suponen un riesgo para el medio ambiente por su persistencia y capacidad de bioacumulación (COM, 2006). Además, los metales pesados pueden afectar al crecimiento de la planta tanto directamente como por su interacción con otros elementos



presentes en el agua, el suelo o la planta (Kalavrouziotis and Koukoulakis, 2010). En el agua analizada, la concentración de plomo y cadmio, está bastante por debajo de los niveles máximos (5 y 0.010 mg·L<sup>-1</sup> respectivamente) recomendados por la Organización Mundial de la Salud en el agua de riego (WHO, 2006).

Los demás compuestos orgánicos encontrados son sobre todo fármacos, filtros solares y fragancias sintéticas. La mayoría están poco estudiados y para ellos no se han establecido todavía criterios de calidad ambiental. Sin embargo, algunos son fácilmente absorbidos por la planta. Por ejemplo, la carbamazepina, puede ser tomada incluso a concentraciones bajas de 1-3 µ·L<sup>-1</sup> en el agua de riego. Aunque las concentraciones en los frutos encontradas son muy bajas, por debajo incluso de las dosis mínimas terapéuticas, los efectos combinados con otros compuestos deben ser estudiados (Shenker *et al.*, 2011). Así mismo, sobre todo los compuestos más polares como la carbamazepina, gemfibrozil, ibuprofeno, sulfametoxazol etc. que presentan una gran movilidad en el medio acuático, pueden llegar a contaminar las aguas subterráneas a través del riego, a no ser que se absorban o degraden durante su paso por el suelo.

De los compuestos detectados, la cafeína es uno de los fármacos más extendidos, por lo que se ha utilizado incluso como marcador de la contaminación antropogénica por aguas residuales domésticas en aguas superficiales (Buerge *et al.*, 2003). Aunque la presencia de cafeína en las aguas es principalmente debida al consumo de café y otras bebidas estimulantes, se usa también como fármaco, administrado conjuntamente con otros principios activos para incrementar la efectividad de los mismos. Otros fármacos como el ácido clorfíbrico, ibuprofeno, carbamazepina, gemfibrozil o atenolol, encontrados en el presente análisis de agua de riego, son también omnipresentes en las aguas residuales y superficiales (Nikolaou *et al.*, 2007).

Las concentraciones de fármacos encontradas en efluentes usados para riego, en algunos casos a niveles de µg·L<sup>-1</sup>, como los encontrados en este estudio, preocupan por el riesgo potencial para la salud que puede suponer su exposición a bajas concentraciones a largo plazo o por su paso a la cadena alimentaria (Shenker *et al.*, 2011).

## 4.2 Efecto de los tratamientos en planta

### 4.2.1 Producción de biomasa

Como se ha mencionado anteriormente, el cultivo tuvo una duración de 9 meses durante los cuales se dieron un total de 5 cortes, en aquellos tratamientos en los que la altura de corte era de 80 cm y 7 en los tratamientos con altura máxima era de 40 cm. En el Gráfico 7 se muestran las producciones de biomasa acumuladas por corte en cada uno de los tratamientos.

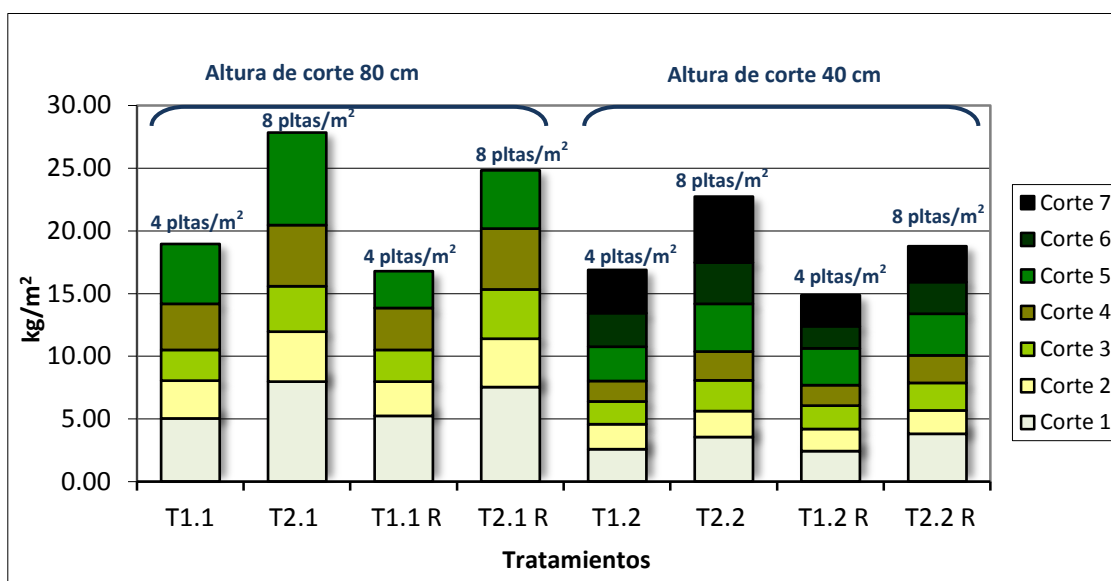


Gráfico 7. Producciones de biomasa verde acumuladas por corte en kg·m<sup>-2</sup>

#### 4.2.1.1 Producción de biomasa en función de la altura de corte

Para conocer el efecto de la altura de corte en la producción de biomasa, se han comparado tratamientos con la misma densidad de plantación pero diferentes alturas de corte. Estos son:

- T1.1 y T1.2: densidad de plantación 4 plantas/m<sup>2</sup> y alturas de corte de **80 cm** y **40 cm** respectivamente.
- T2.1 y T2.2: densidad de plantación de 8 plantas/m<sup>2</sup> y alturas de corte de **80 cm** y **40 cm** respectivamente.

Como puede observarse en la Tabla 7 y en el Gráfico 7, se obtiene una producción de biomasa más elevada en los tratamientos con altura de corte mayor, 80 cm (T1.1 y T.2.1),

tanto en las parcelas con densidad de 4 como de 8 plantas/m<sup>2</sup>. Pero solo en el caso de los dos últimos tratamientos comparados, en los que la densidad de plantación es de 8 plantas/m<sup>2</sup> (b), las diferencias en las producciones entre una altura de corte y otra son estadísticamente significativas (Tabla 8.1 y 8.2), siendo la cantidad de biomasa obtenida un 18% mayor en las plantas cortadas a 80 cm. Por tanto, una altura de corte superior, hasta 80 cm, permite obtener mayor cantidad de biomasa ya que la planta invierte la energía en crecer y desarrollarse mientras que si se corta antes de completar el desarrollo de las hojas, parte de esa energía se emplea en volver rebrotar, lo que produce una disminución de la producción total.

Tabla 7. Producciones de biomasa totales

Tratamientos	Producción Biomasa (kg·m <sup>-2</sup> )	Tratamientos	Producción Biomasa (kg·m <sup>-2</sup> )
T1.1	18,96	T1.1 R	16,78
T2.1	27,83	T2.1 R	24,81
T1.2	16,89	T1.2 R	14,86
T2.2	22,71	T2.2 R	18,77

#### 4.2.1.2 Producción de biomasa en función de la densidad plantación

El efecto de la densidad de plantación en la producción de biomasa se ha determinado comparando tratamientos con la misma altura de corte pero diferentes densidades de plantación. Estos son:

- (a) T1.1 y T2.1: altura de corte 80 cm y densidades de plantación de **4 y 8 plantas/m<sup>2</sup>** respectivamente.
- (b) T1.2 y T2.2: altura de corte 40 cm y densidades de plantación de **4 y 8 plantas/m<sup>2</sup>** respectivamente.

La densidad de plantación tiene mucha influencia en el rendimiento de la planta. En estudios anteriores realizados por (Flower, 1999) sobre un cultivo de tabaco tradicional, el rendimiento crece con el incremento de la densidad hasta solo 1.5 plantas/m<sup>2</sup> a partir del cual el rendimiento tiende a permanecer constante. En el estudio actual, como se observa en la Tabla 7 y el Gráfico 7, también se produce un incremento de la biomasa al aumentar la

densidad de plantación tanto en el caso (a) con plantas cortadas a 80 cm como en el (b), con plantas cortadas a 40 cm. Sin embargo, el aumento de biomasa que se produce al duplicar la densidad de 4 hasta 8 plantas/m<sup>2</sup> es estadísticamente muy significativo (Tablas 8.3 y 8.4). En el caso de las plantas con altura de corte menor se incrementa la producción más de 5 kg·m<sup>-2</sup> mientras que en las plantas cortadas a 80 cm la producción aumenta cerca de 9 kg·m<sup>-2</sup>.

#### 4.2.1.3 Efecto combinado de la densidad de plantación y altura de corte

De acuerdo con los resultados anteriores con la altura óptima de corte de 80 cm y la densidad de plantación más alta de 8 plantas/m<sup>2</sup> (T2.1) se obtienen los rendimientos mayores (Tabla 7 y Gráfico 7). En estas condiciones se obtuvo una producción de 27.83 kg·m<sup>2</sup>, muy superior a los 16.5 kg·m<sup>-2</sup> o los 14 kg·m<sup>-2</sup> obtenidos en ensayos anteriores para un cultivo de tabaco al aire libre destinado a la obtención de biomasa y cultivado de forma similar, con altas densidades de siembra y cortes sucesivos. En estos experimentos, la densidad de plantación tan elevada provocó la pérdida de muchas plantas debido a lesiones y enfermedades (Wildman, 1979; Long, 1984). En este aspecto, el cultivo bajo invernadero tiene la ventaja respecto al cultivo tradicional, de que permite realizar el cultivo cuando al aire libre no es posible por las bajas temperaturas y lo protege de plagas y enfermedades. Así mismo, el aporte de fertilizantes, por medio de fertirriego, proporciona un ahorro considerable de agua así como un aporte optimizado de nutrientes y el consiguiente aumento de rendimiento del cultivo (Cadahia, 2000). Por otro lado, el suelo arenado empleado en este ensayo, crea un efecto de acolchado, con un mayor calentamiento del suelo, menor inercia térmica y mayor dispersión de la radiación visible, lo que permite mayor precocidad de los cultivos o un crecimiento más rápido (López *et al.*, 1994).

#### 4.2.1.4 Producción de biomasa en función del agua de riego

El efecto del agua de riego en la producción de biomasa, se ha determinado comparando cada uno de los cuatro tratamientos regados con el agua de riego habitual en la finca con los tratamientos análogos pero regados con el agua residual urbana depurada. Estos son:

- (a) T1.1 y T 1.1 R: densidad 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 80 cm.
- (b) T1.2 y T1.2 R: densidad 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 40 cm.
- (c) T2.1 y T2.1 R: densidad 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 80 cm.

(d) T2.2 y T2.2 R: Densidad 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 40 cm.

No se ha observado fitotoxicidad por el riego con agua residual. En algunos estudios se ha observado que aparte de los metales pesados, algunos compuestos farmacéuticos cuando son absorbidos por el agua de riego pueden producir efectos adversos en el crecimiento de la planta, pero éstos se producen a altas concentraciones. En el caso de la carbamazepina, presente en el agua residual depurada estudiada, la toxicidad es muy baja, presentándose daños a concentraciones altas como 10000 µg·L<sup>-1</sup>, en las que se produce una reducción de biomasa total del 50 % (Shenker *et al.*, 2011).

En ninguno de los casos ha habido diferencias estadísticamente significativas en la producción de biomasa (Tablas 8.5-8.8). Aunque como puede observarse en el Gráfico 7, en las plantas regadas con agua residual urbana tratada, la producción de biomasa decreció en los últimos cortes. En el caso de los tratamientos con altura de corte 80 cm regados con agua residual (T1.1 R y T2.1 R), durante los primeros cuatro cortes, las producciones tenían valores similares a los regados con agua normal, pero en el quinto, la cosecha disminuyó en ambos tratamientos cerca del 40% respecto a los de agua de riego habitual. En los tratamientos cuya altura de corte era de 40 cm (T1.2 R y T2.2 R) de forma similar, en los dos últimos cortes la producción bajó un 31% y un 37% respectivamente. Esta disminución de la producción se debió a la obturación de los goteros, problemas similares a los encontrados por (Capra and Scicolone, 2007) en los que el riego con agua residual urbana produjo problemas frecuentes de obturación en los sistemas de riego por goteo.

#### 4.2.2 Contenido de proteínas hidrosolubles, nicotina, azúcares y almidón

##### 4.2.2.1 Contenido de compuestos en función de la altura de corte

Para conocer el efecto de la altura de corte, se han comparado tratamientos con la misma densidad de plantación pero diferentes alturas de corte. Estos son:

- (a) T1.1 y T1.2: densidad de plantación 4 plantas/m<sup>2</sup> y alturas de corte de **80 cm** y **40 cm** respectivamente.
- (b) T2.1 y T2.2: densidad de plantación de 8 plantas/m<sup>2</sup> y alturas de corte de **80 cm** y **40 cm** respectivamente.

El contenido de proteínas, azúcares, almidón y de nicotina en la planta varía en función de la altura de corte (Tabla 9).

**Tabla 9. Contenido medio (%peso fresco) de proteínas hidrosolubles, azúcares, nicotina y almidón**

Tratamientos	Proteínas (% P.F.)	Azúcares Totales (% P.F.)	Nicotina (% P.F.)	Almidón (% P.F.)
T.1.1	0,670	0,074	0,068	0,161
T.2.1	0,581	0,067	0,075	0,157
T.1.2	0,486	0,043	0,094	0,123
T.2.2	0,398	0,047	0,087	0,140
T.1.1 R	0,676	0,049	0,076	0,178
T.2.1 R	0,591	0,046	0,079	0,177
T.1.2 R	0,437	0,050	0,107	0,133
T.2.2 R	0,500	0,038	0,099	0,133

En el caso de las proteínas hidrosolubles, las plantas cortadas a 80 cm (T1.1 y T2.1) poseen un porcentaje de proteínas en peso fresco estadísticamente superior, con una incertidumbre del 5% (Tablas 8.9-8.10), a aquellas con altura de corte de 40 cm (T1.2 y T2.2). Por tanto, en los tratamientos de densidad de plantación 4 plantas/m<sup>2</sup> (a) la composición del tabaco decrece de un 0.67 a un 0.49%, y en los tratamientos con las plantas distribuidas a 8 plantas/m<sup>2</sup> el contenido baja de un 0.58 al 0.50% (Tabla9).

El contenido de azúcares (fructosa, glucosa y sacarosa) en la planta de tabaco (Tabla 9) es mayor en los tratamientos con altura de corte de 80 cm (T1.1 y T2.1), igual que en el caso de las proteínas hidrosolubles. Tanto en la comparación (a), con densidad de plantación 4 plantas/m<sup>2</sup> como en (b) con densidad de plantación 8 plantas/m<sup>2</sup>, existen diferencias estadísticamente muy significativas, con una incertidumbre del 1% (Tablas 8.11 y 8.12). El porcentaje de azúcares varía de 0.07% en ambos tratamientos con altura de corte 80 cm a 0.04 y 0.05% en los tratamientos de altura de corte 40 cm pero densidades de 4 y 8 plantas/m<sup>2</sup> (T1.2 y T2.2) respectivamente.

De forma similar al contenido en proteínas hidrosolubles y de azúcares, el porcentaje de almidón en la planta de tabaco aumenta en aquellos tratamientos con una altura de corte mayor (T1.1 y T2.1). Sin embargo, mientras que en el tabaco plantado con una densidad de 4 plantas/m<sup>2</sup> la diferencia entre alturas proporciona una diferencia estadística muy

significativa en contenido en almidón (Tablas 8.13 y 8.14) que varía de 0.16 a 0.12%, en los tratamientos con densidad de plantación 8 plantas/m<sup>2</sup> la diferencia entre alturas no es significativa aunque el porcentaje de almidón disminuye del 0.16 a 0.14% (Tabla 9).

Por tanto, según los resultados anteriores, el contenido de estos compuestos (proteínas, azúcares y almidón) en el tabaco es mayor en aquellas plantas que se cortan más tarde y como consecuencia poseen también un grado de madurez mayor. Esto se corresponde con lo descrito por (Llanos, 1981), según el cual la hoja en su estado de madurez fisiológica, presenta concentraciones máximas de nitrógeno total, nitrógeno proteico, nitrógeno alfa amínico y almidón.

Al contrario de lo que ocurre con los compuestos anteriores, el contenido de nicotina (Tabla 9) tiende a ser mayor en las plantas que son cortadas a una altura de 40 cm (T1.2 y T2.2). No es lo que cabría esperar, ya que muchos estudios muestran que la acumulación de la nicotina empieza tras el trasplante y va incrementándose hasta que la planta alcanza la madurez. Aunque la acumulación de nicotina se produce principalmente en los últimos estados de crecimiento, principalmente después del despunte (Ju *et al.*, 2008). Sin embargo, las diferencias encontradas en el porcentaje de nicotina entre las plantas cortadas a diferentes alturas no son significativas (Tablas 8.15 y 8.16), y en este estudio no se realiza despunte, momento crítico en la acumulación de la nicotina en las hojas.

#### 4.2.2.2 Contenido de compuestos en función de la densidad de plantación

El efecto de la densidad de plantación se ha determinado comparando tratamientos con la misma altura de corte pero diferentes densidades de plantación. Estos son:

- (a) T1.1 y T2.1: altura de corte 80 cm y densidades de plantación de **4 y 8 plantas/m<sup>2</sup>** respectivamente.
- (b) T1.2 y T2.2: altura de corte 40 cm y densidades de plantación de **4 y 8 plantas/m<sup>2</sup>** respectivamente.

En general, en este estudio, la densidad de plantación no tiene un efecto notablemente apreciable en cuanto al contenido de proteínas hidrosolubles, azúcares, almidón y nicotina.

En el caso de las proteínas hidrosolubles, las plantas con una densidad menor (T1.1 y T1.2), poseen más proteínas. Sin embargo, solo en el caso (a) en el que la altura de corte es de 80

cm la diferencia en la concentración de proteínas hidrosolubles es estadísticamente significativa al 0.05% (Tablas 8.17 y 8.18). Pero el porcentaje en peso fresco de las plantas de densidad 4 plantas/m<sup>2</sup> es tan solo un 13% mayor (Tabla 9).

La planta de tabaco contiene valores similares de almidón (0,16%) en la comparación (a), por lo que no existen diferencias significativas (Tabla 8.19). En (b), en el que la altura de corte es de 40 cm, si se observan diferencias estadísticamente significativas con un nivel de incertidumbre del 0.05% (Tabla 8.20), presentando un contenido de almidón un 14 % mayor las plantas que tienen una densidad de plantación más alta (T2.2) (Tabla 9).

El valor de la concentración de azúcares en la planta es igual o muy parecido entre las distintas densidades comparadas (Tabla 9). Las plantas de (a), cortadas a 80 cm, tienen una concentración igual de 0.07% y las plantas de (b), cortadas a 40 cm, presentan un porcentaje de almidón de 0.04 (T1.2) y 0.05% (T2.2). Ninguno de los tratamientos presenta diferencias significativas (Tablas 8.21 y 8.22).

Tampoco se observa diferencia estadística en el contenido de nicotina en función de las densidades de plantación (Tablas 8.23 y 8.24). En los tratamientos del caso (a) los valores de nicotina son de 0.07% en peso fresco en las dos densidades comparadas y en el caso (b) con altura de corte 40 cm la concentración de nicotina también es igual, de 0.09%, en las dos densidades de plantación (Tabla 9). Según (Llanos, 1981), la nicotina se forma en las raíces de la planta y el tamaño de éstas en relación con el de la parte aérea depende de la cantidad en que se sintetiza en las raíces y se acumula en las hojas, por lo que a mayor densidad de plantación, las raíces crecen menos por falta de espacio, lo que provoca una menor formación de nicotina. En el caso de las densidades seleccionadas en el ensayo, el distinto desarrollo de las raíces no permite observar cambios en la concentración de nicotina de la planta.

#### *4.2.2.3 Efecto combinado de la densidad de plantación y altura de corte*

En general, el tratamiento con el que se obtienen las mayores concentraciones de compuestos es el de altura de corte mayor, de 80 cm y densidad menor de 4 plantas/m<sup>2</sup> (T1.1), aunque este último parámetro parece tener menos relevancia que la altura de corte. La concentración de nicotina obtenida, comprendida entre 0.68 y 0.94 % en peso seco (p.s.)



se encuentra dentro de los valores habituales obtenidos en tabaco de 0.1 a 1% p.s. (Baldwin *et al.*, 1997). Así como el contenido de proteínas totales hidrosolubles, con concentraciones entre 3.9 y 6.7% p.s., que también son similares al porcentaje alcanzado por (Wildman, 1983) de 5.7 % p.s. Sin embargo el contenido de azúcares y almidón logrado en este ensayo se encuentra por debajo de la composición habitual del tabaco cultivado para cigarrillos. La concentración máxima de almidón es de 1.61 % p.s., mientras que el suele estar entre 8 y 14% p.s. Así mismo, el porcentaje de azúcares obtenido en este ensayo es de 0.74% p.s muy por debajo del 20-28% p.s. contenido en la planta de tabaco habitualmente (Beilen *et al.*, 2007). Pero dentro de este porcentaje se encuentran también azúcares no analizados en el presente ensayo como la levulosa y otros.

Como se observa en el Gráfico 8, las proteínas hidrosolubles, la nicotina y el almidón son los compuestos que se encuentran con mayor porcentaje en peso fresco en la composición de la planta de tabaco.

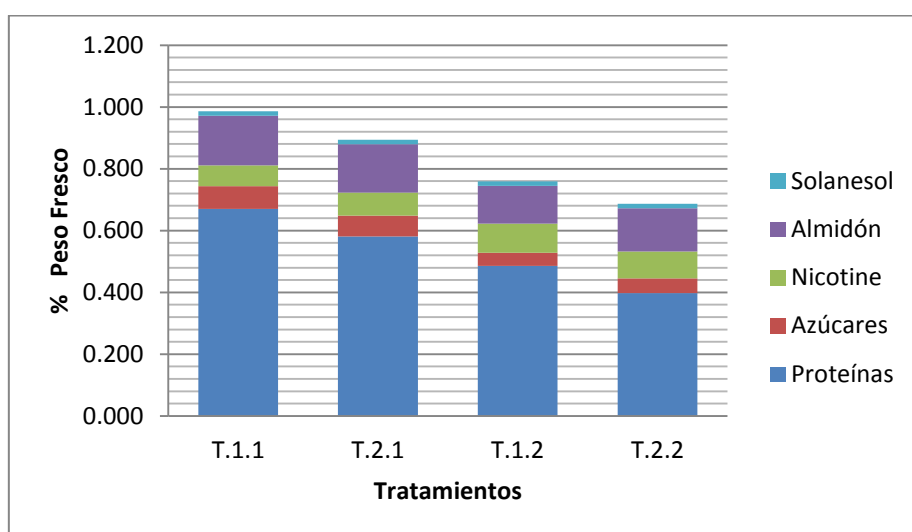


Gráfico 8. Composición de la planta de tabaco

#### 4.2.2.4 Contenido de compuestos en función del agua de riego

El efecto del agua de riego en el contenido de proteínas, azúcares, almidón y nicotina se ha determinado comparando cada uno de los cuatro tratamientos regados con el agua de riego habitual en la finca con los tratamientos análogos pero regados con el agua residual urbana depurada. Estos son:

(a) T1.1 y T 1.1 R: densidad 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 80 cm

- (b) T1.2 y T1.2 R: densidad 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 40 cm
- (c) T2.1 y T2.1 R: densidad 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 80 cm
- (d) T2.2 y T2.2 R: Densidad 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura de corte 40 cm

Cuando se riega el cultivo de tabaco con agua residual urbana depurada, no se observan cambios en el contenido de proteínas hidrosolubles ni de nicotina. En ninguno de los casos se obtienen diferencias estadísticamente significativas en la concentración de estos compuestos (Tablas 8.25-8.32).

Sin embargo si se obtienen algunas diferencias significativas y muy significativas en el contenido de azúcares y almidón, cuando las plantas son regadas con este tipo de agua (Tablas 8.33-8.40). En las plantas de los tratamientos comparados (a) y (c), ambos con altura de corte 80 cm, el contenido de azúcares totales es menor en las plantas que han sido regadas con agua residual. En el caso del almidón los resultados obtenidos no son concluyentes. En la comparación (a) y (c) el contenido de almidón es estadísticamente mayor de forma muy significativa en las plantas regadas con agua residual. Estos dos casos coinciden en la altura de corte, que es de 80 cm, y el contenido de almidón varía en ambos casos de 0.16% con agua de riego normal al 0.18% con agua de riego residual. En el caso (d), de forma inversa a los casos anteriores las plantas que contienen menor contenido en almidón con diferencias significativas, son aquellas regadas con agua residual.

#### 4.2.3 Contenido de solanesol

El contenido de solanesol en tabaco no se optimizó en función de la densidad y la altura de corte de la planta. Se analizó y se determinó con el fin de poder hacer una estimación de la producción total de solanesol en kg·ha<sup>-1</sup>, utilizando esta técnica de cultivo, en la que la densidad de plantación es más elevada y la planta se somete a cortes sucesivos. Se obtuvieron concentraciones máximas de 0.14% en peso seco, por debajo los contenidos de este compuesto 0.3-3% encontrados por (Cen *et al.*, 2002) en hojas de tabaco seco. Y por debajo de la concentración de 0.8% analizada en hojas de tabaco de Cáceres, procedentes de un cultivo de tradicional para producción de cigarrillos. Aunque como hemos mencionado anteriormente, la composición de solanesol depende de varios factores como la variedad de tabaco además de la posición en el tallo, y el tiempo de crecimiento de la planta.

#### 4.2.4 Producción en $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de los compuestos analizados en planta

Teniendo en cuenta la biomasa verde conseguida y el porcentaje en peso fresco de cada uno de los compuestos analizados, la producción final de proteínas hidrosolubles, azúcares, nicotina, almidón y solanesol obtenidos del cultivo de tabaco, se refleja en la Tabla 10 y el Gráfico 9.

**Tabla 10. Producción ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) de los compuestos analizados en planta de cada tratamiento**

Tratamientos	Proteínas ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ )	Azúcares ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ )	Nicotina ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ )	Almidón ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ )	Solanesol ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ )
T.1.1	1272	140	132	302	27
T.2.1	1609	187	211	439	39
T.1.2	597	70	162	223	24
T.2.2	705	100	196	341	32

En todos los compuestos de valor para la industria analizados, el factor que más influencia tiene en la producción final es la biomasa obtenida. Por lo tanto, se han logrado más  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$  en los tratamientos con una altura de corte mayor, de 80 cm (T1.1 y T2.1) que son los que han conseguido una cantidad de biomasa más elevada. Entre estos dos tratamientos, que se diferencian solo en su densidad de plantación, las plantas pertenecientes a T1.1 (4 plantas/ $\text{m}^2$ ) son las que presentan generalmente mayor porcentaje en peso fresco de estos compuestos. A pesar de esto, la densidad de plantación en este estudio es un factor que afecta poco en la composición del tabaco siendo muy parecida en ambas densidades, por lo que el tratamiento T2.1 (8 plantas/ $\text{m}^2$ ) con una biomasa más elevada, es el que obtiene los mayores producciones. Como consecuencia, el tratamiento T2.1 con una altura de corte de 80 cm y una densidad de plantación de 8 plantas/ $\text{m}^2$  es el más adecuado para alcanzar el máximo rendimiento del cultivo, siendo su valor de producción estadísticamente superior a T1.1 (Tablas 8.41-8.45) en el caso de las proteínas, los azúcares, el almidón y el solanesol.

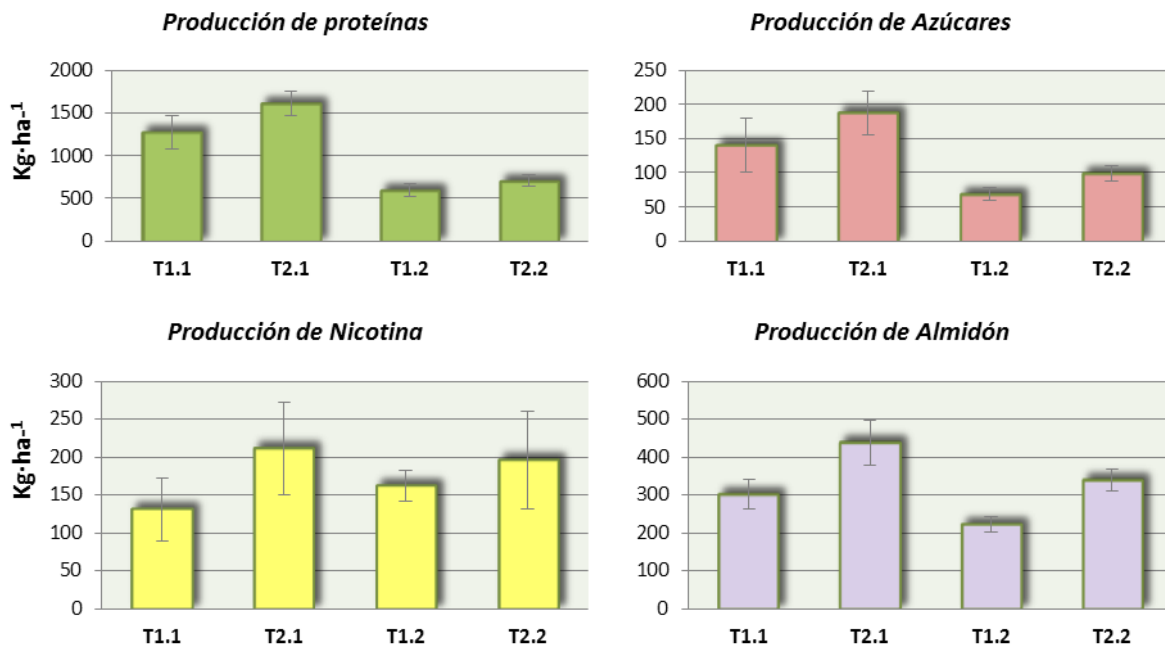


Gráfico 9. Producción de proteínas, azúcares, nicotina y almidón en cada tratamiento

### 4.3 Acumulación de compuestos en suelo

Durante los 9 meses de riego con agua residual urbana depurada, se halla en el suelo la acumulación de 11 compuestos, pertenecientes al grupo de metales pesados, PAHs, fármacos y compuestos sintetizados por la planta (Tabla 11).

Tabla 11. Acumulación de compuestos en el suelo después del riego con agua residual depurada

Compuestos		Concentración (mg/kg)	
		Suelo con cultivo	Suelo sin cultivo
Prioritarios	Metales pesados		
	Plomo	0.2725	8.1450
	Cadmio	0.0150	0.0600
Emergentes	PAHs		
	Pireno	0.0010	0.0033
	Fenantreno	0.0005	0.0019
Emergentes	Fármacos		
	Carbamazepina	0.0004	0.0003
	Hidroclorotiacida	-	0.0010
	Claritromicina	0.0001	0.0001
Emergentes	Sintetizados en planta		
	Cafeína	0.0098	0.0007
	Nicotina	3.7571	1.0938
	Cotinina	0.0119	0.0017
Emergentes	Sintetizados en planta		
	Ácido Salicílico	0.0093	-

Las concentraciones de plomo y cadmio encontradas en ambos tipos de suelo, están muy por debajo de la concentración máxima tolerable en el suelo basada en la protección de la salud (84 y 4 mg·kg<sup>-1</sup> respectivamente) (WHO, 2006). Los cuatro contaminantes prioritarios detectados, plomo, cadmio, pireno y fenantreno tienden a concentrarse más en el suelo donde no se puso cultivo que en el que tiene plantas de tabaco. Aunque, sólo en el caso del plomo, que se acumula 30 veces más en el suelo sin cultivo que en el suelo con cultivo, la diferencia es estadísticamente significativa con un nivel de incertidumbre del 5% (Tablas 8.46-8.49). Según estos resultados y estudios anteriores en los que se determina que los metales pesados y los PAHs pueden ser tomados por la planta (Al Nasir and Batarseh, 2008; Batarseh *et al.*, 2011), el tabaco extrae del suelo elementos contaminantes procedentes del agua de riego como metales y PAHs.

Los fármacos son fácilmente absorbibles y presentan tendencia a acumularse en suelos y sedimentos (Díaz-Cruz *et al.*, 2003). En este estudio, se acumulan cuatro fármacos; el antiepiléptico carbamazepina, el diurético hidroclorotiacida, el antibiótico claritromicina, y la cafeína. Una vez en el suelo, los productos farmacéuticos, pueden afectar a la comunidad microbiana y pueden ser absorbidos por las plantas (Thiele-Bruhn, 2003).

La nicotina, cotinina (metabolito de la nicotina) y el ácido salicílico, se acumulan más en el suelo con plantas de tabaco, pero solo hay diferencias estadísticamente significativas (Tablas 8.45-8.47) en la concentración de nicotina, que se acumula un 70 % más en el suelo con cultivo. Esto se debe a que son compuestos que son sintetizados por la propia planta, por lo que su acumulación en el suelo se debe sobre todo a la contribución de la misma, más que a la aportación de los compuestos procedente del agua de riego.

## 5. CONCLUSIONES

Las conclusiones más relevantes de este trabajo son las siguientes:

- El cultivo de tabaco para la obtención de biomasa y productos de alto valor en la industria es viable en condiciones de invernadero. Éste protege a la planta frente a plagas, enfermedades y clima adverso, lo que permite su cultivo de forma continua durante nueve meses con producciones muy altas de biomasa y compuestos de interés.
- Aumentando la densidad de plantación y la altura de corte se obtienen los mejores rendimientos de la planta, de forma que las condiciones óptimas de cultivo se consiguen con una densidad de plantación de 8 plantas/m<sup>2</sup> y una altura de corte de 80 cm.
- Utilizando esta técnica de cultivo, el contenido en azúcares y almidón es bajo en la planta de tabaco, por lo que su empleo en la obtención de bioetanol es la opción menos recomendable. Sólo se contempla en el caso de su extracción como subproducto.
- El agua residual depurada con tratamiento secundario es apta para su utilización como agua de riego en un cultivo de tabaco para biomasa desde el punto de vista productivo.
- Debido al número elevado de contaminantes orgánicos y los metales pesados presentes en el agua de riego residual depurada, es necesario un control continuo de la misma para prevenir acumulaciones en el suelo y la contaminación de aguas subterráneas.
- La planta de tabaco extrae del suelo elementos contaminantes procedentes del agua de riego como metales y PAHs, al ser un cultivo no destinado al consumo humano, permite la utilización de agua reutilizada con la presencia de estos compuestos, ya que disminuye el riesgo de su acumulación en el suelo.



## 6. BIBLIOGRAFÍA

AATSE, 2004. Water recycling in Australia.

Al Nasir, F., Batarseh, M.I., 2008. Agricultural reuse of reclaimed water and uptake of organic compounds: Pilot study at Mutah University wastewater treatment plant, Jordan. *Chemosphere* 72, 1203-1214.

Alworth, W.L., Rapoport, H., 1965. Biosynthesis of the nicotine alkaloids in *Nicotiana glutinosa* : Interrelationships among nicotine, nornicotine, anabasine, and anatabine. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 112, 45-53.

Angelakis, A.N., Bontoux, L., Lazarova, V., 2003. Challenges and perspectives for water recycling and reuse in EU countries. pp. 59-68.

Asano, F.L.B., H.L. Leverenz, R. Tsuchihashi and G. Tchobanoglous (Ed), 2006. Agricultural irrigation with reclaimed water: an overview. In: T. Asano, Editor, *Water Reuse. Issues, Technologies and Applications*,. New York.

Baldwin, I., Zhang, Z., Diab, N., Ohnmeiss, T., McCloud, E., Lynds, G., Schmelz, E., 1997. Quantification, correlations and manipulations of wound-induced changes in jasmonic acid and nicotine in *Nicotiana sylvestris*. *Planta* 201, 397-404.

Ballesteros, I., Negro, M.J., Oliva, J.M., Cabañas, A., Manzanares, P., Ballesteros, M., 2006. Ethanol production from steam-explosion pretreated wheat straw. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 130, 496-508.

Barbeau, W.E., Kinsella, J.E., 1983. Factors affecting the binding of chlorogenic acid to fraction 1 leaf protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 31, 993-998.

Batarseh, M.I., Kreuzig, R., Bahadir, M., 2003. Residue analysis of organic pollutants in sediments from the Amman/Zarqa area in Jordan. Part I: Development of analytical methods and distribution patterns of PAHs. *Fresenius Environmental Bulletin* 12, 972-978.

Batarseh, M.I., Rawajfeh, A., Ioannis, K.K., Prodromos, K.H., 2011. Treated municipal wastewater irrigation impact on olive trees (*Olea Europaea* L.) at Al-Tafilah, Jordan. *Water, Air, and Soil Pollution* 217, 185-196.

Beilen, J.B., Möller, R., Toonen, M., Salentijn, E., Clayton, D. (Eds.), 2007. *Industrial crop platforms for the production of chemical and biopolymers*.



- Borlongan, I.G., Coloso, R.M., Mosura, E.F., Sagisi, F.D., Mosura, A.T., 1998. Molluscicidal activity of tobacco dust against brackishwater pond snails (*Cerithidea cingulata* Gmelin). *Crop Protection* 17, 401-404.
- Bueno, M.J.M., Hernando, M.D., Herrera, S., Gómez, M.J., Fernández-Alba, A.R., Bustamante, I., García-Calvo, E., 2010. Pilot survey of chemical contaminants from industrial and human activities in river waters of Spain. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 90, 321-343.
- Buerge, I.J., Poiger, T., Müller, M.D., Buser, H.R., 2003. Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters. *Environ. Sci. Technol* 37, 691-700.
- Cadahia, C. (Ed), 2000. *Fertirrigación cultivos hortícolas y ornamentales*. Madrid.
- Çakir, R., Çebi, U., 2010. Yield, water use and yield response factor of flue-cured tobacco under different levels of water supply at various growth stages. *Irrigation and Drainage* 59, 453-464.
- CAN, C.N.d.A.M., 2004. *Water Statistics*, National Water Commission, Mexico City.
- Capra, A., Scicolone, B., 2007. Recycling of poor quality urban wastewater by drip irrigation systems. *Journal of Cleaner Production* 15, 1529-1534.
- Casanova, H., Ortiz, C., Peláez, C., Vallejo, A., Moreno, M.E., Acevedo, M., 2002. Insecticide formulations based on nicotine oleate stabilized by sodium caseinate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 6389-6394.
- Cen, B., Duan, W., Zhao, S., 2002. Study on new technology of extracting solanesol from abandoned tobacco leaves. *Journal Guangxi University Nat. Sci. Ed.* 27, 240-242.
- Cerdera, A., 2011. Biocombustibles. Las petroleras mandan. *Nova ciencia* 68, 12-15.
- COM, 2006. Proposal for a Directive of the European parliament and of the Council on environmental quality standards in the field of water policy and amending Directive 2000/60/EC. Brussels, 17.7.2006.
- COM (2007) 414 final, Bruselas, 18.7.2007. Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo y al Consejo. Afrontar el desafío de la escasez de agua y la sequía en la Unión Europea.
- Del Valle, J.M., Aguilera, J.M., 1999. Review: High pressure CO<sub>2</sub> extraction. Fundamentals and applications in the food industry. Revisión: Extracción con CO<sub>2</sub> a alta presión. *Fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos* 5, 1-24.

Demirbas, A., 2005. Bioethanol from cellulosic materials: a renewable motor fuel from biomass. *Energy Sources* 27, 327–333

Díaz-Cruz, M.S., López De Alda, M.J., Barceló, D., 2003. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 22, 340-351.

Directiva 91/271/CEE del consejo de 21 de mayo de 1991, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas. Diario oficial L 135 de 30.05.91.

Dobrowolski, J., O'Neill, M., Duriancik, L., Throwe, J., 2008. Opportunities and challenges in agricultural water reuse: Final report. USDA-CSREES, p. 89.

Enokida, H., Gotanda, T., Oku, S., Imazono, Y., Kubo, H., Hanada, T., Suzuki, S., Inomata, K., Kishiye, T., Tahara, Y., Nishiyama, K., Nakagawa, M., 2002. Reversal of P-glycoprotein-mediated paclitaxel resistance by new synthetic isoprenoids in human bladder cancer cell line. *Japanese Journal of Cancer Research* 93, 1037-1046.

Ensink, H.H., T. Mehmood, W. Vand der Hoeck, L. Raschid-Sally and F.P. Amerasinghe,, 2004. Amerasinghe, A nation-wide assessment of wastewater use in Pakistan: an obscure activity or a vitally important one?, . *Water Policy* 6, 197–206

Flower, K.C. (Ed), 1999. Field practices. En "Tobacco Production, Chemistry and Technology". Oxford.

Gómez-Ramos, M.M.B., M.J.; Valverde, A.; Fernández-Alba, A., 2008. Determination of solanesol from tobacco leaves. Optimization of supercritical fluid extraction and quantitative analysis with LC-MS/MS. 5th european conference on pesticides and related organic micropollutants in the environment. 11th symposium on chemistry and fate modern pesticides. , Marselle (France).

Gómez, M.J., Gómez-Ramos, M.M., Agüera, A., Mezcuca, M., Herrera, S., Fernández-Alba, A.R., 2009. A new gas chromatography/mass spectrometry method for the simultaneous analysis of target and non-target organic contaminants in waters. *Journal of Chromatography A* 1216, 4071-4082.

Gómez, M.J., Gómez-Ramos, M.M., Malato, O., Mezcuca, M., Fernández-Alba, A.R., 2010. Rapid automated screening, identification and quantification of organic micro-contaminants and their main transformation products in wastewater and river waters using liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry with an accurate-mass database. *Journal of Chromatography A* 1217, 7038-7054.

- Hamamura, K., Yamatsu, I., Minami, N., Yamagishi, Y., Inai, Y., Kijima, S., Nakamura, T., 2002. Synthesis of [3' -<sup>14</sup>C] coenzyme Q10. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* 45, 823-829.
- Hamscher, G., Sczesny, S., Höper, H., Nau, H., 2002. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 74, 1509-1518.
- Hodgson, J.M., Watts, G.F., Playford, D.A., Burke, V., Croft, K.D., 2002. Coenzyme Q10 improves blood pressure and glycaemic control: A controlled trial in subjects with type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Nutrition* 56, 1137-1142.
- Isman, M.B., 1997. Neem and other botanical insecticides: Barriers to commercialization. *Phytoparasitica* 25, 339-344.
- Isman, M.B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19, 603-608.
- Jiries, A., Rimawi, O., Lintelmann, J., Batarseh, M., 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in top soil, leachate and groundwater from Ruseifa solid waste landfill, Jordan. *International Journal of Environment and Pollution* 23, 179-188.
- Ju, X.-T., Chao, F.-C., Li, C.-J., Jiang, R.-F., Christie, P., Zhang, F.-S., 2008. Yield and Nicotine Content of Flue-Cured Tobacco as Affected by Soil Nitrogen Mineralization. *Pedosphere* 18, 227-235.
- Kalavrouziotis, I.K., Koukoulakis, P.H., 2010. Plant Nutrition Aspects under Treated Wastewater Reuse Management. *Water, Air and Soil Pollution*, 1-12.
- Keča, M., Gross, S., Malnar, I., Kalodera, Z., Malojčić, R., 1997. Isolation of solanesol from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) by the procedure of classical extraction and extraction by ultrasound. *Izolacija solanesola iz duhana (Nicotiana tabacum L.) klasicnom ekstrakcijom i ultrazvucnom ekstrakcijom* 53, 173-182.
- Khidyrova, N.K., Shakhidoyatov, K.M., 2002. Plant polyprenols and their biological activity: Research on the isolation, identification, and biological activity of plant polyprenols is reviewed. *Chemistry of Natural Compounds* 38, 107-121.
- Kim, S., Dale, B.E., 2004. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues. *Biomass and Bioenergy* 26, 361-375.

Lai, T.V., 2000. Perspectives of peri-urban vegetable production in Hanoi. Background paper prepared for the Action Planning Workshop of the CGIAR Strategic Initiative for Urban and Peri-urban Agriculture (SIUPA), Hanoi, 6–9 June. Convened by International Potato Center (CIP), Lima.

Lenaz, G., Espoli, M.D. (Eds.), 1985. Physical Properties of Ubiquinone in Model Systems and Membranes, in Coenzyme Q: Biochemistry, Bioenergetics and Clinical Applications of Ubiquinone, New York.

Lipshutz, B.H., Lower, A., Berl, V., Schein, K., Wetterich, F., 2005. An improved synthesis of the "miracle nutrient" coenzyme Q 10. *Organic Letters* 7, 4095-4097.

Long, R.C., 1984. Edible tobacco protein: Moving beyond theory. *Crops Soils Mag.* 36, 13-15.

López, L. (Ed), 2002. *Cultivos industriales*. Madrid.

López, L., Castillo, J., Fuentes, M., Palomar, F., Fernández, E., Viseras, J., López, F. (Eds.), 1994. Caracterización de los sistemas de producción hortícola en los invernaderos de la provincia del Almería. Almería.

Lynd, L.R., Wang, M.Q., 2003. A product – nonspecific framework for evaluating the potential of biomass-based products to displace fossil fuels. *Journal of Industrial Ecology* 7, 17–32.

Llanos, M., 1981. *El tabaco. Manual técnico para el cultivo y el curado*. Madrid.

Ma, J.Y., Zhang, J., Liu, G.X., Tong, C., Xu, X.L., 2009. Determination of solanesol in waste potato leaves and stems by RP-HPLC. *Xibei Shifan Daxue Xuebao (Ziran Kexue Ban)* 45, 72-75.

Maas, E.V.a.G., S.R. (Ed), 1999. Crop yields as affected by salinity. In: R.W. Skaggs and J. van Schilfgaarde.

Machado, P.A., Fu, H., Kratochvil, R.J., Yuan, Y., Hahm, T.S., Sabliov, C.M., Wei, C.i., Lo, Y.M., 2010. Recovery of solanesol from tobacco as a value-added byproduct for alternative applications. *Bioresource Technology* 101, 1091-1096.

MAPA, 2007. Manual de gestión de buenas prácticas agrícolas para la producción de tabaco en España. In: MAPA, M. (Ed.).

Marchetti, R., Castelli, F., Contillo, R., 2006. Nitrogen requirements for flue-cured tobacco. *Agronomy Journal* 98, 666-674.

Mumba, Banda, H.L., 1990. Nicotine content of flue tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) at different stages of growth. *Tobacco Science* 30, 179–183.

Newhouse, P., Singh, A., Potter, A., 2004. Nicotine and nicotinic receptor involvement in neuropsychiatric disorders. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 4, 267-282.

Ng, K.C., Poi, G., Puah, C.M., De Castro, V., Rogers, P.L., 1997. Monitoring of phenol in wastewater bioremediation by HPLC. *Environmental Monitoring and Assessment* 44, 433-436.

Nikolaou, A., Meric, S., Fatta, D., 2007. Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal. Bioanal. Chem* 387, 1225-1234.

OMS, 2002. (Organización Mundial de la Salud) The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2000-2002

Petrovic, M., Barceló, D., 2006. Liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of emerging environmental contaminants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 385, 422-424.

Pirie, N.W., 1975. Leaf protein: A beneficiary of tribulation. *Nature* 253, 239-241.

Postiglione L. , B.G., Falco E. , 1988. Effect of water deficit or water excess during the different development stages on tobacco “Burley”. In Proceedings of the 9th International Tobacco Scientific Congress, 9–13 October, Giangzhou, China.

Qadir, M., Wichnells, D., Raschid-Sally, L., Singh Minhas, P., Drechsel, P., Bahri A. and McCornick, P., 2007. Agricultural use of marginal-quality water—opportunities and challenges. In: D. Molden, Editor, *Water for Food; Water for Life. A Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture*. In: Earthscan, C.H.S., London pp. 425–457. (Ed.), Londres, pp. 425–457.

Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas.

Redshaw, C.H., Wootton, V.G., Rowland, S.J., 2008. Uptake of the pharmaceutical Fluoxetine Hydrochloride from growth medium by Brassicaceae. *Phytochemistry* 69, 2510-2516.

Ruiz-Rodriguez, A., Bronze, M.R., Ponte, M.N.d., 2008. Supercritical fluid extraction of tobacco leaves: A preliminary study on the extraction of solanesol. *Journal of Supercritical Fluids* 45, 171-176.

Salgot, M., Vergés, C., Angelakis, A.N., 2003. Risk assessment in wastewater recycling and reuse. pp. 301-309.

- Sândor, P.S., Di Clemente, L., Coppola, G., Saenger, U., Fumal, A., Magis, D., Seidel, L., Agosti, R.M., Schoenen, J., 2005. Efficacy of coenzyme Q10 in migraine prophylaxis: A randomized controlled trial. *Neurology* 64, 713-715.
- Sarkar, N., Ghosh, S.K., Bannerjee, S., Aikat, K., 2011. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy* 37, 19-27.
- Shenker, M., Harush, D., Ben-Ari, J., Chefetz, B., 2011. Uptake of carbamazepine by cucumber plants - A case study related to irrigation with reclaimed wastewater. *Chemosphere* 82, 905-910.
- Shults, C.W., Beal, M.F., Song, D., Fontaine, D., 2004. Pilot trial of high dosages of coenzyme Q10 in patients with Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 188, 491-494.
- Shults, C.W., Oakes, D., Kiebertz, K., Flint Beal, M., Haas, R., Plumb, S., Juncos, J.L., Nutt, J., Shoulson, I., Carter, J., Kompoliti, K., Perlmutter, J.S., Reich, S., Stern, M., Watts, R.L., Kurlan, R., Molho, E., Harrison, M., Lew, M., 2002. Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease: Evidence of slowing of the functional decline. *Archives of Neurology* 59, 1541-1550.
- Sidorova, T.A., Nigmatov, A.G., Kakpakova, E.S., Stavrovskaya, A.A., Gerassimova, G.K., Shtil, A.A., Serebryakov, E.P., 2002. Effects of isoprenoid analogues of SDB-ethylenediamine on multidrug resistant tumor cells alone and in combination with chemotherapeutic drugs. *Journal of Medicinal Chemistry* 45, 5330-5339.
- Taherzadeh, M.J., Karimi, K., 2007. Acid based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review. *Bioresources* 2, 472-499.
- Tang, D.S., Liang, H.L., Zhang, L., Chen, H.L., 2007. Solid phase extraction of solanesol. *Chromatographia* 66, 129-131.
- Thiele-Bruhn, S., 2003. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils - A review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166, 145-167.
- Tor, A., Cengeloglu, Y., Aydin, M.E., Ersoz, M., Wichmann, H., Bahadir, M., 2003. Polychlorinated biphenyls (PCB) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in wastewater samples from the sewage system of Konya-Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 12, 732-735.
- Tremblay, R., Wang, D., Jevnikar, A.M., Ma, S., 2010. Tobacco, a highly efficient green bioreactor for production of therapeutic proteins. *Biotechnology Advances* 28, 214-221.

Wang, J.h., Wang, C.j., Gan, Y., Du, G.j., Zhao, J., 2007. Design, Synthesis and Synergistic Effects of Novel Derivatives of Solanesol. *Chemical Research in Chinese Universities* 23, 417-420.

Westcot, D.W.a.A., R.S. (Ed), 1985. Irrigation water quality criteria. In: G.S. Pettygrove and T. Asano, Editors, *Irrigation with Reclaimed Municipal Wastewater—A Guidance Manual*,. Chelsea, MI.

WHO (World Health Organization),2006. Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater.

Wildman, S., 1979. Tobacco a potential food crop. *Crops Soils Mag.* 31, 7-9.

Wildman, S., 1983. An alternative use for tobacco agriculture: proteins for food plus a safer smoking material. En: *Plants. The potential for extracting protein, medicines, and other useful chemicals. Workshop Proceedings*, (Washington, D. C.: U.S. Congress), pp. 63-77.

Wildman, S.G., 2002. Along the trail from Fraction I protein to Rubisco (ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase). *Photosynthesis Research* 73, 243-250.

Wildman, S.G., Kwanyuen, P., 1978. Fraction I protein and other products from tobacco for food. *Basic life sciences* 11, 1-18.

Wildman, S.G., Kwanyuen, P., 1981. Process for isolation of ribulose 1,5-diphosphate carboxylase from plant leaves. Patent 4,268,632.

York D.W. , R.H., B. Sheikh and L. Parsons, 2008. Safety and suitability of recycled water for irrigation of edible crops. *Proceedings of the 23rd Annual WateReuse Symposium WateReuse Association, Dallas.*

Zuo, Y., Zhang, L., Wu, J., Fritz, J.W., Medeiros, S., Rego, C., 2004. Ultrasonic extraction and capillary gas chromatography determination of nicotine in pharmaceutical formulations. *Analytica Chimica Acta* 526, 35-39.

## 7. ANEJOS

### 7.1 Tablas de análisis de varianza y separación de medias

Tabla 8.1. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) a una densidad de 4 plantas/ $\text{m}^2$  en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	8.50781	1	8.50781	2.39	0.1734
Error	21.4008	6	3.5668		
Total	29.9086	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X			
T11		X			

Tabla 8.2. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) a una densidad de 8 plantas/ $\text{m}^2$  en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	52.4288	1	52.4288	7.04	0.0378
Error	44.6726	6	7.44543		
Total	97.1014	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22		X		4.72117	
T21		X			

Tabla 8.3. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$  y T2.1= 8 plantas/ $\text{m}^2$ ).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	157.531	1	157.531	20.14	0.0042
Error	46.9257	6	7.82095		
Total	204.457	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11		X	X	4.83876	7.33143
T21		X	X		



Tabla 8.4. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/ $\text{m}^2$  y T2.2= 8 plantas/ $\text{m}^2$ ).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	67.6866	1	67.6866	21.21	0.0037
Error	19.1477	6	3.19128		
Total	86.8343	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X	X	3.09091	4.68319
T22		X	X		

Tabla 8.5. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	9.5048	1	9.5048	1.10	0.3356
Error	52.0516	6	8.67527		
Total	61.5564	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11 R		X			
T11		X			

Tabla 8.6. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	8.28245	1	8.28245	2.90	0.1394
Error	17.1281	6	2.85469		
Total	25.4106	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12 R		X			
T12		X			

Tabla 8.7. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	18.2771	1	18.2771	1.13	0.3291
Error	97.2371	6	16.2062		
Total	115.514	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T21R		X			
T21		X			

Tabla 8.8. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de biomasa ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	31.0472	1	31.0472	3.61	0.1061
Error	51.5904	6	8.5984		
Total	82.6376	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22R		X			
T22		X			

Tabla 8.9. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (%peso fresco) a una densidad de 4 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.066978	1	0.066978	11.16	0.0156
Error	0.036	6	0.006		
Total	0.102978	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X		0.134023	
T11		X			

Tabla 8.10. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas (%peso fresco) a una densidad de 8 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.026912	1	0.026912	10.16	0.0189
Error	0.015898	6	0.00264967		
Total	0.04281	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22		X		0.0890636	
T21		X			

Tabla 8.11. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (%peso fresco) a una densidad de 4 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,00201613	1	0,00201613	13,81	0,0099
Error	0,00087575	6	0,000145958		
Total	0,00289188	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X	X	0,0209035	0,0316719
T11		X	X		

Tabla 8.12. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (%peso fresco) a una densidad de 8 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,001058	1	0,001058	24,05	0,0027
Error	0,000264	6	0,000044		
Total	0,001322	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22		X	X	0,0114771	0,0173894
T21		X	X		

Tabla 8.13. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (%peso fresco) a una densidad de 4 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.0012005	1	0.0012005	45.30	0.0005
Error	0.000159	6	0.0000265		
Total	0.0013595	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X	X	0.00890692	0.0134953
T11		X	X		

Tabla 8.14. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (%peso fresco) a una densidad de 8 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.0001125	1	0.0001125	2.39	0.1734
Error	0.000283	6	0.0000471667		
Total	0.0003955	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22		X			
T21		X			

Tabla 8.15. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) a una densidad de 4 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T1.1= 80 cm y T1.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,0013005	1	0,0013005	5,67	0,0547
Error	0,001377	6	0,0002295		
Total	0,0026775	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X			
T11		X			

Tabla 8.16. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) a una densidad de 8 plantas/m<sup>2</sup> en función de la altura de corte (T2.1= 80 cm y T2.2= 40 cm).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,0001805	1	0,0001805	0,52	0,4998
Error	0,002101	6	0,000350167		
Total	0,0022815	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22		X			
T21		X			

Tabla 8.17. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.0160205	1	0.0160205	8.96	0.0242
Error	0.010723	6	0.00178717		
Total	0.0267435	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11		X		0.0731454	
T21		X			

Tabla 8.18. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.0010125	1	0.0010125	0.15	0.7141
Error	0.041175	6	0.0068625		
Total	0.0421875	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X			
T22		X			

Tabla 8.19. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.000008	1	0.000008	0.34	0.5821
Error	0.000142	6	0.0000236667		
Total	0.00015	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11		X			
T21		X			

Tabla 8.20. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.00045	1	0.00045	9.00	0.0240
Error	0.0003	6	0.00005		
Total	0.00075	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X		0.0122346	
T22		X			

Tabla 8.21. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,000078125	1	0,000078125	0,61	0,4657
Error	0,00077275	6	0,000128792		
Total	0,000850875	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11		X			
T21		X			

Tabla 8.22. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,0000125	1	0,0000125	0,20	0,6671
Error	0,000367	6	0,000061166		
Total	0,0003795	7	-		
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X			
T22		X			

Tabla 8.23. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) a una altura de 80 cm en función de la densidad (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,000072	1	0,000072	0,21	0,6645
Error	0,002078	6	0,000346333		
Total	0,00215	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11		X			
T21		X			

Tabla 8.24. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) a una altura de 40 cm en función de la densidad (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup> y T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,0002	1	0,0002	0.86	0.39
Error	0,0014	6	0.000233333		
Total	0,0016	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12		X			
T22		X			

Tabla 8.25. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.000072	1	0.000072	0.01	0.9134
Error	0.033554	6	0.00559233		
Total	0.033626	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11 R		X			
T11		X			

Tabla 8.26. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.0015125	1	0.0015125	0.27	0.6207
Error	0.033375	6	0.0055625		
Total	0.0348875	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12 R		X			
T12		X			



Tabla 8.27. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.000171125	1	0.000171125	0.07	0.7966
Error	0.0141407	6	0.00235679		
Total	0.0143119	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T21R		X			
T21		X			

Tabla 8.28. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de proteínas hidrosolubles (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.03125	1	0.03125	4.80	0.0711
Error	0.0391	6	0.00651667		
Total	0.07035	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22R		X			
T22		X			

Tabla 8.29. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,000055125	1	0,000055125	0,000758958	0,7966
Error	0,00455375	6	0.00559233		
Total	0,00460888	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11 R		X			
T11		X			

Tabla 8.30. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,0002	1	0,0002	3,00	0,1340
Error	0,0004	6	0,0000666667		
Total	0,0006	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12 R		X			
T12		X			

Tabla 8.31. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,000015125	1	0,000015125	0,03	0,8737
Error	0,00329975	6	0,000549958		
Total	0,00331487	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T21R		X			
T21		X			

Tabla 8.32. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de nicotina (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,0003125	1	0,0003125	1,60	0,2534
Error	0,001175	6	0,000195833		
Total	0,0014875	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22R		X			
T22		X			

Tabla 8.33. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,0012005	1	0,0012005	6,07	0,0489
Error	0,0011875	6	0,000197917		
Total	0,002388	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11 R		X		0,0243414	
T11		X			

Tabla 8.34. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,000066125	1	0,000066125	1,46	0,2724
Error	0,00027175	6	0,0000452917		
Total	0,000337875	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12 R		X			
T12		X			

Tabla 8.35. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,000861125	1	0,000861125	19,81	0,0043
Error	0,00026075	6	0,0000434583		
Total	0,00112188	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T21R		X		0,0114062	
T21		X			

Tabla 8.36. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,000136125	1	0,000136125	2,79	0,1459
Error	0,00029275	6	0,0000487917		
Total	0,000428875	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22R		X			
T22		X			

Tabla 8.37. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.1= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T1.1 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.0004805	1	0.0004805	36.49	0.0009
Error	0.000079	6	0.0000131667		
Total	0.0005595	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T11 R		X	X	0.0062783	0.00951255
T11		X	X		

Tabla 8.38. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de azúcares almidón (% peso fresco) en función del agua de riego (T1.2= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T1.2 R= 4 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.00005	1	0.00005	1.00	0.3559
Error	0.0003	6	0.00005		
Total	0.00035	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T12 R		X			
T12		X			

Tabla 8.39. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.1= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm y T2.1 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 80 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.0007605	1	0.0007605	22.93	0.0030
Error	0.000199	6	0.0000331667		
Total	0.0009595	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T21R		X	X	0.0099645	0.0150977
T21		X	X		

Tabla 8.40. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), del contenido de almidón (% peso fresco) en función del agua de riego (T2.2= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/m<sup>2</sup>, altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0.0003125	1	0.0003125	6.82	0.0401
Error	0.000275	6	0.0000458333		
Total	0.0005875	7			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
T22R		X		0.0117137	
T22		X			

Tabla 8.41. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de proteínas hidrosolubles ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40, T2.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	2,75078E6	3	916928,0	52,21	0,0000
Error	210764,0	12	17563,7		
Total	2,96155E6	15			

Tratamiento	95%	99%	95%	99%
T12	X	X	201,18	286,246
T22	X	X		
T11	X	X		
T21	X	X		

Tabla 8.42. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de azúcares ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40, T2.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	31024,3	3	10341,4	14,53	0,0003
Error	8541,5	12	711,792		
Total	39565,8	15			

Tratamiento	95%	99%	95%	99%
T12	X	X	41,1038	57,6246
T22	XX	X		
T11	X	XX		
T21	X	X		

Tabla 8.43. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de nicotina ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40, T2.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	15234,7	3	5078,23	2,05	0,1605
Error	29715,3	12	2476,27		
Total	44949,9	15			

Tratamiento	95%	99%	95%	99%
T11	X			
T12	XX			
T22	X			
T21	X			

Tabla 8.44. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de almidón ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40, T2.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	96460,3	3	32153,4	20,42	0,0001
Error	18891,5	12	1574,29		
Total	115352,0	15			

Tratamiento	95%	99%	95%	99%
T12	X	X	61,1292	85,6987
T11	X	XX		
T22	X	X		
T21	X	X		

Tabla 8.45. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la producción de solanesol ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) en función de la densidad de plantación y la altura de corte (T1.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm, T1.2= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40, T2.1= 4 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 80 cm ,T2.2= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm y T2.2 R= 8 plantas/ $\text{m}^2$ , altura 40 cm, riego agua residual depurada).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	516,0	3	172,0	17,95	0,0001
Error	115,0	12	9,58333		
Total	631,0	15			

Tratamiento	95%	99%	95%	99%
T12	X	X	4,7694	6,6837
T11	X	X X		
T22	X	X		
T21	X	X		

Tabla 8.46. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de plomo ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	61,9763	1	61,9763	34,62	0,0277
Error	3,58071	2	1,79036		
Total	65,557	3			

Tratamiento	95%	99%	95%	99%
Suelo con cultivo	X		5,75713	
Suelo sin cultivo	X			



Tabla 8.47. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de pireno ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,00000529	1	0,00000529	4,56	0,1663
Error	0,00000232	2	0,00000116		
Total	0,00000761	3			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
Suelo con cultivo		X			
Suelo sin cultivo		X			

Tabla 8.48. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de cadmio ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,0	1	0,0	0,00	1,0000
Error	1,E-8	2	5,E-9		
Total	1,E-8	3			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
Suelo con cultivo		X			
Suelo sin cultivo		X			

Tabla 8.49. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de fenantreno ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,00000196	1	0,00000196	1,85	0,3069
Error	0,00000212	2	0,00000106		
Total	0,00000408	3			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
Suelo con cultivo		X			
Suelo sin cultivo		X			

Tabla 8.50. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de cafeína ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	6,25E-8	1	6,25E-8	0,08	0,8016
Error	0,000001525	2	7,625E-7		
Total	0,0000015875	3			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
Suelo con cultivo		X			
Suelo sin cultivo		X			

Tabla 8.51. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de carbamazepina ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo otras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,0	1	0,0	0,00	1,0000
Error	1,E-8	2	5,E-9		
Total	1,E-8	3			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
Suelo con cultivo		X			
Suelo sin cultivo		X			

Tabla 8.52. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de nicotina ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	7,09317	1	7,09317	58,63	0,0166
Error	0,241969	2	0,120985		
Total	7,33514	3			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
Suelo con cultivo		X		1,49658	
Suelo sin cultivo		X			

Tabla 8.53. Análisis de varianza y separación de medias mediante el test de diferencia significativa mínima (DSM), de la concentración de nicotina ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) acumulada en el suelo tras 9 meses de riego con agua residual urbana depurada en función del tipo de suelo (Suelo con cultivo y Suelo sin cultivo).

Fuente de variación	S.C	g.l	C.M	F	P
Tratamiento	0,00010404	1	0,00010404	3,83	0,1893
Error	0,00005426	2	0,00002713		
Total	0,0001583	3			
Tratamiento		95%	99%	95%	99%
Suelo con cultivo		X			
Suelo sin cultivo		X			



### 7.3 Tablas de resultados en cada corte

#### 7.3.1 Tablas de los tratamientos con altura de corte 80 cm

Nº Corte: 1											
Fecha corte:28/11/07											
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Humedad	Almidón	Fructosa	Glucosa	% Peso fresco			Proteínas	Nicotina
							Sacarosa	Azúcares			
T.1.1 (A)	5.540	151.000	91.600	0.110	0.019	0.041	0.004	0.064	0.360	0.05	
T.1.1 (B)	3.95	129.000	91.300	0.110	0.035	0.048	0.002	0.085	0.150	0.035	
T.1.1 (C)	5.110	145.000	92.500	0.110	0.025	0.025	0.001	0.051	0.200	0.047	
T.1.1 (D)	5.520	164.000	92.800	0.150	0.011	0.015	0.001	0.027	0.070	0.04	
Media T.1.1	<b>5.030</b>	<b>147.000</b>	<b>92.100</b>	<b>0.120</b>	<b>0.022</b>	<b>0.032</b>	<b>0.002</b>	<b>0.057</b>	<b>0.190</b>	<b>0.04</b>	
T.2.1 (A)	8.520	145.000	92.600	0.150	0.027	0.076	0.001	0.104	0.300	0.047	
T.2.1 (B)	8.120	140.000	90.100	0.130	0.007	0.010	0.001	0.018	0.110	0.064	
T.2.1 (C)	7.500	143.000	91.300	0.090	0.010	0.017	0.001	0.028	0.260	0.069	
T.2.1 (D)	7.740	148.000	91.000	0.120	0.012	0.015	0.001	0.028	0.230	0.039	
Media T.2.1	<b>7.970</b>	<b>144.000</b>	<b>91.200</b>	<b>0.120</b>	<b>0.014</b>	<b>0.030</b>	<b>0.001</b>	<b>0.045</b>	<b>0.230</b>	<b>0.05</b>	
T.1.1 R(A)	4.860	146.000	91.700	0.120	0.010	0.011	0.000	0.021	0.020	0.074	
T.1.1 R(B)	5.000	156.000	90.800	0.120	0.026	0.014	0.002	0.042	0.140	0.067	
T.1.1 R(C)	6.000	161.000	92.100	0.100	0.005	0.014	0.003	0.022	0.510	0.035	
T.1.1 R(D)	5.050	150.000	90.900	0.100	0.009	0.016	0.001	0.026	0.280	0.05	
Media T.1.1 R	<b>5.230</b>	<b>153.000</b>	<b>91.400</b>	<b>0.110</b>	<b>0.012</b>	<b>0.014</b>	<b>0.002</b>	<b>0.028</b>	<b>0.240</b>	<b>0.06</b>	
T.2.1 R(A)	8.020	144.000	90.700	0.100	0.008	0.015	0.001	0.024	0.080	0.036	
T.2.1 R(B)	6.730	135.000	91.200	0.080	0.041	0.016	0.003	0.060	0.110	0.424	
T.2.1 R(C)	7.910	152.000	90.400	0.100	0.031	0.015	0.001	0.047	0.060	0.049	
T.2.1 R(D)	7.450	142.000	91.900	0.130	0.028	0.010	0.003	0.041	0.110	0.045	
Media T.2.1 R	<b>7.530</b>	<b>143.000</b>	<b>91.100</b>	<b>0.100</b>	<b>0.027</b>	<b>0.014</b>	<b>0.002</b>	<b>0.043</b>	<b>0.090</b>	<b>0.14</b>	

Nº Corte: 2											
Fecha corte: 23-01-08											
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Humedad	Almidón	Fructosa	Glucosa	% Peso fresco			Proteínas	Nicotina
							Sacarosa	Azúcares			
T.1.1 (A)	3.46	108	92.11	0.24	0.001	0.0003	0.003	0.004	0.61	0.03	
T.1.1 (B)	2.85	111	91.41	0.26	0.002	0.0003	0.002	0.004	0.7	0.03	
T.1.1 (C)	2.65	100	91.81	0.23	0.002	0.0002	0.001	0.003	0.88	0.05	
T.1.1 (D)	3.1	102	92.08	0.26	0.001	0.0003	0.002	0.003	0.57	0.02	
Media T.1.1	<b>3.02</b>	<b>105</b>	<b>91.85</b>	<b>0.25</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0003</b>	<b>0.002</b>	<b>0.003</b>	<b>0.69</b>	<b>0.03</b>	
T.2.1 (A)	4.91	97	94.15	0.27	0.003	0.0002	0.001	0.004	0.47	0.01	
T.2.1 (B)	3.35	88	91	0.29	0.002	0.0001	0.002	0.004	0.55	0.01	
T.2.1 (C)	4.09	95	90.49	0.27	0.002	0.0002	0.002	0.004	0.63	0.02	
T.2.1 (D)	3.6	83	92.67	0.28	0.001	0.0002	0.001	0.002	0.54	0.01	
Media T.2.1	<b>3.99</b>	<b>91</b>	<b>92.07</b>	<b>0.28</b>	<b>0.002</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.002</b>	<b>0.004</b>	<b>0.55</b>	<b>0.01</b>	
T.1.1 R(A)	2.61	101	91.65	0.31	0.001	0.0002	0.002	0.003	0.63	0.02	
T.1.1 R(B)	2.44	92	91.86	0.32	0.002	0.0003	0.002	0.004	0.85	0.02	
T.1.1 R(C)	3.09	92	91.45	0.33	0.003	0.0001	0.001	0.004	0.6	0.01	
T.1.1 R(D)	2.82	97	89.65	0.3	0.002	0.0002	0.001	0.003	0.68	0.03	
Media T.1.1 R	<b>2.74</b>	<b>95</b>	<b>91.15</b>	<b>0.32</b>	<b>0.002</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.002</b>	<b>0.004</b>	<b>0.69</b>	<b>0.02</b>	
T.2.1 R(A)	3.92	87	92.98	0.38	0.001	0.0003	0.002	0.003	0.67	0.02	
T.2.1 R(B)	3.01	83	93.2	0.34	0.001	0.0003	0.002	0.003	0.49	0.02	
T.2.1 R(C)	3.99	152	86.04	0.35	0.001	0.0002	0.002	0.003	0.66	0.05	
T.2.1 R(D)	4.46	89	92.35	0.33	0.002	0.0002	0.002	0.004	0.6	0.04	
Media T.2.1 R	<b>3.85</b>	<b>103</b>	<b>91.14</b>	<b>0.35</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0002</b>	<b>0.002</b>	<b>0.003</b>	<b>0.61</b>	<b>0.03</b>	

Nº Corte: 3										
Fecha corte: 10-03-08										
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Humedad	Almidón	Fructosa	% Peso fresco				
						Glucosa	Sacarosa	Azúcares	Proteínas	Nicotina
T.1.1 (A)	3.37	100	91.6	0.13	0.022	0.037	0.003	0.062	0.67	0.08
T.1.1 (B)	2.44	87	94.6	0.13	0.057	0.099	0.002	0.158	0.43	0.03
T.1.1 (C)	1.84	56	92.5	0.13	0.036	0.06	0.001	0.097	0.53	0.02
T.1.1 (D)	2.16	71	94.7	0.13	0.031	0.05	0.001	0.082	0.65	0.03
Media T.1.1	<b>2.45</b>	<b>78</b>	<b>93.4</b>	<b>0.13</b>	<b>0.037</b>	<b>0.062</b>	<b>0.002</b>	<b>0.101</b>	<b>0.57</b>	<b>0.04</b>
T.2.1 (A)	3.94	98	92.3	0.12	0.027	0.043	0.002	0.072	0.65	0.07
T.2.1 (B)	4.18	88	95.3	0.12	0.037	0.057	0.004	0.098	0.4	0.06
T.2.1 (C)	3.04	72	92.8	0.12	0.048	0.067	0.001	0.116	0.69	0.04
T.2.1 (D)	3.3	80	92.9	0.13	0.036	0.053	0.001	0.090	0.7	0.03
Media T.2.1	<b>3.61</b>	<b>85</b>	<b>93.3</b>	<b>0.12</b>	<b>0.037</b>	<b>0.055</b>	<b>0.002</b>	<b>0.094</b>	<b>0.61</b>	<b>0.05</b>
T.1.1 R(A)	2.86	87	89.7	0.15	0.024	0.036	0.001	0.061	0.53	0.12
T.1.1 R(B)	2.5	91	93.6	0.15	0.022	0.033	0.002	0.057	0.75	0.06
T.1.1 R(C)	<b>2.92</b>	90	92.2	0.16	0.019	0.027	0.002	0.048	0.55	0.05
T.1.1 R(D)	1.84	60	93.2	0.16	0.035	0.051	0.001	0.087	0.5	0.03
Media T.1.1 R	<b>2.53</b>	<b>82</b>	<b>92.2</b>	<b>0.16</b>	<b>0.025</b>	<b>0.037</b>	<b>0.001</b>	<b>0.063</b>	<b>0.58</b>	<b>0.07</b>
T.2.1 R(A)	3.43	82	94.3	0.16	0.025	0.04	0.001	0.066	0.54	0.02
T.2.1 R(B)	2.48	71	90.9	0.16	0.024	0.037	0.001	0.062	0.4	0.04
T.2.1 R(C)	5,608	152	93.4	0.16	0.021	0.029	0.001	0.051	0.52	0.05
T.2.1 R(D)	4.28	87	92.6	0.17	0.029	0.039	0.001	0.069	0.58	0.05
Media T.2.1 R	<b>3.95</b>	<b>98</b>	<b>92.8</b>	<b>0.16</b>	<b>0.025</b>	<b>0.036</b>	<b>0.001</b>	0.062	<b>0.51</b>	<b>0.04</b>

Nº Corte: 4										
Fecha corte: 23-04-08										
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Humedad	Almidón	Fructosa	% Peso fresco				
						Glucosa	Sacarosa	Azúcares	Proteínas	Nicotina
T.1.1 (A)	4.74	98	91.58	0.15	0.046	0.061	0.001	0.108	0.69	0.09
T.1.1 (B)	5.44	114	92.4	0.14	0.054	0.068	0.002	0.124	0.89	0.05
T.1.1 (C)	2.36	67	91.08	0.15	0.051	0.053	0.001	0.105	0.65	0.13
T.1.1 (D)	2.18	82	90.23	0.14	0.059	0.055	0.001	0.115	0.73	0.11
Media T.1.1	<b>3.68</b>	<b>90</b>	<b>91.3</b>	<b>0.15</b>	<b>0.053</b>	<b>0.059</b>	<b>0.001</b>	0.113	0.74	<b>0.09</b>
T.2.1 (A)	6.21	107	90.76	0.11	0.044	0.05	0	0.094	0.53	0.14
T.2.1 (B)	6.74	99	90.77	0.12	0.054	0.065	0.001	0.120	0.68	0.08
T.2.1 (C)	2.88	53	90.3	0.12	0.039	0.064	0.001	0.104	0.62	0.18
T.2.1 (D)	3.73	82	90.33	0.1	0.046	0.048	0.001	0.095	0.61	0.11
Media T.2.1	<b>4.89</b>	<b>85</b>	<b>90.5</b>	<b>0.11</b>	<b>0.046</b>	<b>0.057</b>	<b>0.001</b>	0.104	0.61	<b>0.13</b>
T.1.1 R(A)	2.02	70	89.49	0.14	0.037	0.083	0.001	0.121	0.65	0.18
T.1.1 R(B)	2.64	84	89.54	0.13	0.047	0.052	0.001	0.100	0.92	0.1
T.1.1 R(C)	<b>5.18</b>	94	91.25	0.14	0.027	0.031	0.001	0.059	0.75	0.05
T.1.1 R(D)	3.56	91	93.12	0.14	0.023	0.025	0.001	0.049	0.62	0.08
Media T.1.1 R	<b>3.35</b>	<b>85</b>	<b>90.8</b>	<b>0.14</b>	<b>0.034</b>	<b>0.048</b>	<b>0.001</b>	0.083	0.735	<b>0.1</b>
T.2.1 R(A)	3.55	70	92.37	0.11	0.041	0.047	0.001	0.089	0.56	0.12
T.2.1 R(B)	3.63	84	93.23	0.11	0.039	0.042	0.001	0.082	0.72	0.05
T.2.1 R(C)	5.41	152	92.27	0.12	0.026	0.022	0.001	0.049	0.69	0.06
T.2.1 R(D)	6.77	96	91.75	0.12	0.024	0.024	0.001	0.049	0.65	0.08
Media T.2.1 R	<b>4.84</b>	<b>100</b>	<b>92.4</b>	<b>0.12</b>	<b>0.032</b>	<b>0.034</b>	<b>0.001</b>	0.067	0.655	<b>0.08</b>

Nº Corte: 5										
Fecha corte: 4-06-08			% Peso fresco							
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Humedad	Almidón	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Azúcares	Proteínas	Nicotina
<b>T.1.1 (A)</b>	4.39	103	91.500	0.16	0.035	0.056	0.001	0.092	0.62	0.19
<b>T.1.1 (B)</b>	5.84	112	91.300	0.15	0.043	0.063	0.001	0.107	0.87	0.10
<b>T.1.1 (C)</b>	4.20	88	92.500	0.16	0.037	0.046	0.002	0.085	0.55	0.17
<b>T.1.1 (D)</b>	4.68	108	92.700	0.15	0.045	0.044	0.001	0.09	0.68	0.09
Media T.1.1	<b>4.78</b>	<b>103</b>	<b>92.100</b>	<b>0.155</b>	<b>0.040</b>	<b>0.052</b>	<b>0.001</b>	<b>0.094</b>	<b>0.680</b>	<b>0.14</b>
<b>T.2.1 (A)</b>	8.14	120	92.300	0.16	0.038	0.043	0.001	0.082	0.60	0.16
<b>T.2.1 (B)</b>	6.37	95	90.400	0.14	0.044	0.052	0.002	0.098	0.47	0.11
<b>T.2.1 (C)</b>	8.56	103	91.300	0.15	0.033	0.058	0.001	0.092	0.61	0.17
<b>T.2.1 (D)</b>	6.40	89	91.100	0.16	0.039	0.044	0.003	0.086	0.54	0.09
Media T.2.1	<b>7.37</b>	<b>102</b>	<b>91.200</b>	<b>0.153</b>	<b>0.039</b>	<b>0.049</b>	<b>0.002</b>	<b>0.090</b>	<b>0.555</b>	<b>0.13</b>
<b>T.1.1 R(A)</b>	2.00	67	91.500	0.16	0.03	0.068	0.001	0.099	0.62	0.22
<b>T.1.1 R(B)</b>	1.80	65	90.700	0.15	0.04	0.045	0.002	0.087	0.72	0.08
<b>T.1.1 R(C)</b>	<b>4.27</b>	97	92.300	0.16	0.02	0.023	0.001	0.044	0.88	0.07
<b>T.1.1 R(D)</b>	3.64	91	90.900	0.16	0.016	0.021	0.001	0.038	0.57	0.15
Media T.1.1 R	<b>2.93</b>	<b>80</b>	<b>91.400</b>	<b>0.158</b>	<b>0.027</b>	<b>0.039</b>	<b>0.001</b>	<b>0.067</b>	<b>0.698</b>	<b>0.13</b>
<b>T.2.1 R(A)</b>	2.18	51	90.500	0.15	0.033	0.038	0.001	0.072	0.65	0.16
<b>T.2.1 R(B)</b>	4.40	67	91.300	0.15	0.032	0.034	0.002	0.068	0.47	0.06
<b>T.2.1 R(C)</b>	6.27	152	90.400	0.16	0.02	0.023	0.001	0.044	0.66	0.08
<b>T.2.1 R(D)</b>	5.73	79	91.800	0.16	0.017	0.018	0.001	0.036	0.58	0.11
Media T.2.1 R	<b>4.64</b>	<b>87</b>	<b>91.100</b>	<b>0.155</b>	<b>0.026</b>	<b>0.028</b>	<b>0.001</b>	<b>0.055</b>	<b>0.590</b>	<b>0.10</b>



## 7. 3. 2 Tablas de los tratamientos con altura de corte 40 cm

Nº Corte: 1										
Fecha corte:14/11/07		% Peso fresco								
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Humedad	Almidón	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Azúcares	Proteínas	Nicotina
T.1.2 (A)	2.7	65	93.4	0.07	0.014	0.001	0.002	0.0170	0.19	0.01
T.1.2 (B)	2.5	64	94.4	0.07	0.01	0.002	0.001	0.0130	0.16	0.01
T.1.2 (C)	3	74	93.7	0.07	0.013	0.001	0.002	0.0160	0.4	0.01
T.1.2 (D)	2.09	69	92.9	0.07	0.013	0.001	0.002	0.0160	0.2	0.02
Media T.1.2	<b>2.57</b>	<b>68</b>	<b>93.6</b>	<b>0.07</b>	<b>0.013</b>	<b>0.001</b>	<b>0.002</b>	<b>0.0160</b>	<b>0.24</b>	<b>0.01</b>
T.2.2 (A)	3.84	71	92.7	0.09	0.012	0.002	0.003	0.0170	0.17	0.03
T.2.2 (B)	3.62	69	92.8	0.08	0.02	0.002	0.002	0.0240	0.08	0.04
T.2.2 (C)	3.56	69	92.8	0.08	0.007	0.001	0.002	0.0100	0.19	0.02
T.2.2 (D)	3.18	62	92.6	0.08	0.01	0.001	0.003	0.0140	0.29	0.01
Media T.2.2	<b>3.55</b>	<b>68</b>	<b>92.7</b>	<b>0.08</b>	<b>0.012</b>	<b>0.001</b>	<b>0.002</b>	<b>0.0150</b>	<b>0.18</b>	<b>0.02</b>
T.1.2 R(A)	2.42	63	94.5	0.08	0.008	0.001	0.001	0.0100	0.19	0.02
T.1.2 R(B)	2.42	61	93.6	0.06	0.01	0.001	0.002	0.0130	0.36	0.02
T.1.2 R(C)	2.31	62	93.7	0.06	0.016	0.002	0.003	0.0210	0.28	0.02
T.1.2 R(D)	2.52	70	93	0.08	0.011	0.001	0.002	0.0140	0.32	0.02
Media T.1.2 R	<b>2.42</b>	<b>64</b>	<b>93.7</b>	<b>0.07</b>	<b>0.011</b>	<b>0.001</b>	<b>0.002</b>	<b>0.0140</b>	<b>0.29</b>	<b>0.02</b>
T.2.2 R(A)	3.94	64	92.7	0.09	0.011	0.001	0.004	0.0160	0.12	0.02
T.2.2 R(B)	3.31	66	93.1	0.11	0.02	0.002	0.002	0.0240	0.1	0.02
T.2.2 R(C)	3.18	62	93.9	0.07	0.02	0.002	0.004	0.0260	0.22	0.01
T.2.2 R(D)	4.76	80	93.4	0.09	0.011	0.001	0.002	0.0140	0.4	0.01
Media T.2.2 R	<b>3.8</b>	<b>68</b>	<b>93.3</b>	<b>0.09</b>	<b>0.016</b>	<b>0.001</b>	<b>0.003</b>	<b>0.0200</b>	<b>0.21</b>	<b>0.02</b>

Nº Corte: 2										
Fecha corte:19-12-07		% Peso fresco								
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Humedad	Almidón	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Azúcares	Proteínas	Nicotina
T.1.2 (A)	1.92	50	90.3	0.14	0.009	0.003	0.0005	0.0125	0.12	0.26
T.1.2 (B)	1.83	44	90.9	0.14	0.009	0.003	0.0003	0.0123	0.39	0.21
T.1.2 (C)	2.08	47	92.2	0.13	0.007	0.002	0.0003	0.0093	0.56	0.12
T.1.2 (D)	2.18	45	90.2	0.16	0.008	0.003	0.0013	0.0123	0.5	0.26
Media T.1.2	<b>2</b>	<b>47</b>	<b>90.9</b>	<b>0.14</b>	<b>0.008</b>	<b>0.003</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0120</b>	<b>0.39</b>	<b>0.21</b>
T.2.2 (A)	1.8	40	92.4	0.28	0.012	0.003	0.0006	0.0156	0.18	0.13
T.2.2 (B)	2.02	42	91.1	0.18	0.008	0.003	0.0009	0.0119	0.33	0.17
T.2.2 (C)	2.43	41	94.1	0.24	0.011	0.003	0.0016	0.0156	0.13	0.12
T.2.2 (D)	1.98	37	92.2	0.25	0.011	0.003	0.0016	0.0156	0.1	0.13
Media T.2.2	<b>2.06</b>	<b>40</b>	<b>92.5</b>	<b>0.24</b>	<b>0.011</b>	<b>0.003</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0150</b>	<b>0.19</b>	<b>0.14</b>
T.1.2 R(A)	1.68	43	93	0.17	0.007	0.003	0.0004	0.0104	0.33	0.1
T.1.2 R(B)	1.64	47	92.8	0.19	0.007	0.002	0.0004	0.0094	0.3	0.1
T.1.2 R(C)	1.6	45	90.7	0.17	0.003	0.002	0.0004	0.0054	0.3	0.2
T.1.2 R(D)	2.17	56	91.9	0.15	0.005	0.004	0.0003	0.0093	0.11	0.25
Media T.1.2 R	<b>1.77</b>	<b>48</b>	<b>92.1</b>	<b>0.17</b>	<b>0.006</b>	<b>0.003</b>	<b>0.0004</b>	<b>0.0094</b>	<b>0.26</b>	<b>0.16</b>
T.2.2 R(A)	1.77	38	91.2	0.16	0.014	0.003	0.0014	0.0184	0.25	0.2
T.2.2 R(B)	1.57	37	93.1	0.18	0.007	0.003	0.0008	0.0108	0.38	0.13
T.2.2 R(C)	1.88	39	92.3	0.17	0.006	0.003	0.0005	0.0095	0.21	0.15
T.2.2 R(D)	2.27	39	90.9	0.17	0.006	0.003	0.0004	0.0094	0.32	0.18
Media T.2.2 R	<b>1.87</b>	<b>38</b>	<b>91.9</b>	<b>0.17</b>	<b>0.008</b>	<b>0.003</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0120</b>	<b>0.29</b>	<b>0.16</b>

Nº Corte: 3										
Fecha corte: 31-01-08										
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Peso fresco							
			% Humedad	Almidón	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Azúcares	Proteínas	Nicotina
T.1.2 (A)	1.99	59	92.35	0.07	0.006	0.016	0.0012	0.0232	0.47	0.1
T.1.2 (B)	1.8	47	94.43	0.06	0.008	0.024	0.001	0.0330	0.4	0.07
T.1.2 (C)	1.43	43	92.39	0.07	0.006	0.019	0.001	0.0260	0.44	0.1
T.1.2 (D)	2.03	55	92.15	0.07	0.009	0.024	0.0008	0.0338	0.55	0.1
Media T.1.2	<b>1.81</b>	<b>51</b>	<b>92.83</b>	<b>0.07</b>	<b>0.008</b>	<b>0.021</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0300</b>	<b>0.46</b>	<b>0.09</b>
T.2.2 (A)	2.28	48	94.95	0.11	0.006	0.022	0.0003	0.0283	0.37	0.08
T.2.2 (B)	2.67	54	93.12	0.1	0.003	0.013	0.0003	0.0163	0.32	0.1
T.2.2 (C)	2.92	45	92.76	0.1	0.003	0.013	0.0003	0.0163	0.39	0.07
T.2.2 (D)	2	37	94.02	0.11	0.004	0.02	0.0003	0.0243	0.43	0.06
Media T.2.2	<b>2.47</b>	<b>46</b>	<b>93.71</b>	<b>0.11</b>	<b>0.004</b>	<b>0.017</b>	<b>0.0003</b>	<b>0.0213</b>	<b>0.38</b>	<b>0.08</b>
T.1.2 R(A)	1.68	44	92.68	0.07	0.007	0.017	0.0005	0.0245	0.35	0.12
T.1.2 R(B)	1.92	48	91.07	0.08	0.004	0.014	0.0005	0.0185	0.35	0.13
T.1.2 R(C)	1.47	44	95.66	0.07	0.006	0.019	0.0005	0.0255	0.54	0.12
T.1.2 R(D)	2.34	49	92	0.08	0.004	0.025	0.0006	0.0296	0.4	0.09
Media T.1.2 R	<b>1.85</b>	<b>46</b>	<b>92.85</b>	<b>0.08</b>	<b>0.005</b>	<b>0.019</b>	<b>0.0005</b>	<b>0.0245</b>	<b>0.41</b>	<b>0.12</b>
T.2.2 R(A)	2.46	44	93.03	0.1	0.003	0.013	0.0002	0.0162	0.52	0.07
T.2.2 R(B)	1.97	43	92.3	0.09	0.002	0.01	0.0005	0.0125	0.43	0.09
T.2.2 R(C)	2.11	40	93.59	0.1	0.002	0.008	0.0004	0.0104	0.36	0.08
T.2.2 R(D)	2.25	40	93.84	0.1	0.002	0.016	0.0003	0.0183	0.4	0.06
Media T.2.2 R	<b>2.2</b>	<b>41</b>	<b>93.19</b>	<b>0.1</b>	<b>0.002</b>	<b>0.012</b>	<b>0.0004</b>	<b>0.0144</b>	<b>0.43</b>	<b>0.07</b>

Nº Corte: 4										
Fecha corte: 05-03-08										
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Peso fresco							
			% Humedad	Almidón	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Azúcares	Proteínas	Nicotina
T.1.2 (A)	1.9	46	92	0.17	0.028	0.042	0.0017	0.0717	0.37	0.09
T.1.2 (B)	1.7	42	92	0.18	0.042	0.06	0.0008	0.1028	0.37	0.1
T.1.2 (C)	1.3	41	90	0.17	0.034	0.048	0.0009	0.0829	0.55	0.1
T.1.2 (D)	1.67	43	91	0.18	0.047	0.06	0.0008	0.1078	0.53	0.07
Media T.1.2	<b>1.64</b>	<b>43</b>	<b>92</b>	<b>0.18</b>	<b>0.038</b>	<b>0.052</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0910</b>	<b>0.46</b>	<b>0.09</b>
T.2.2 (A)	2.08	43	92	0.16	0.033	0.046	0.0008	0.0798	0.43	0.08
T.2.2 (B)	2.55	54	92	0.16	0.038	0.053	0.0009	0.0919	0.53	0.09
T.2.2 (C)	2.69	43	91	0.15	0.04	0.055	0.0008	0.0958	0.61	0.07
T.2.2 (D)	1.86	39	92	0.16	0.036	0.051	0.0008	0.0878	0.58	0.07
Media T.2.2	<b>2.3</b>	<b>45</b>	<b>92</b>	<b>0.16</b>	<b>0.037</b>	<b>0.051</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0890</b>	<b>0.54</b>	<b>0.08</b>
T.1.2 R(A)	1.5	40	91	0.17	0.03	0.044	0.0007	0.0747	0.65	0.2
T.1.2 R(B)	1.5	39	93	0.18	0.028	0.041	0.0006	0.0696	0.68	0.07
T.1.2 R(C)	2.03	44	93	0.18	0.027	0.041	0.0005	0.0685	0.62	0.1
T.1.2 R(D)	1.57	39	92	0.17	0.026	0.038	0.0005	0.0645	0.67	0.07
Media T.1.2 R	<b>1.65</b>	<b>40</b>	<b>92</b>	<b>0.18</b>	<b>0.028</b>	<b>0.041</b>	<b>0.0005</b>	<b>0.0695</b>	<b>0.65</b>	<b>0.11</b>
T.2.2 R(A)	1.77	35	93	0.14	0.027	0.041	0.0004	0.0684	0.63	0.08
T.2.2 R(B)	2.24	44	93	0.15	0.026	0.039	0.0005	0.0655	0.56	0.06
T.2.2 R(C)	2.24	41	93	0.13	0.022	0.032	0.0005	0.0545	0.81	0.1
T.2.2 R(D)	2.48	39	93	0.14	0.019	0.032	0	0.0510	0.61	0.1
Media T.2.2 R	<b>2.18</b>	<b>39</b>	<b>93</b>	<b>0.14</b>	<b>0.023</b>	<b>0.036</b>	<b>0.0003</b>	<b>0.0593</b>	<b>0.65</b>	<b>0.08</b>

Nº Corte: 5										
Fecha corte:14-04-08										
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Humedad	Almidón	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Azúcares	Proteínas	Nicotina
<b>T.1.2 (A)</b>	3.09	57	92.88	0.14	0.009	0.022	0.001	0.0321	0.6	0.05
<b>T.1.2 (B)</b>	2.88	58	93.85	0.15	0.01	0.026	0.001	0.0374	0.4	0.09
<b>T.1.2 (C)</b>	2.42	49	94.29	0.14	0.052	0.040	0.003	0.0949	0.39	0.1
<b>T.1.2 (D)</b>	2.48	57	94.49	0.12	0.013	0.032	0.002	0.0465	0.96	0.08
Media T.1.2	<b>2.72</b>	<b>55</b>	<b>93.9</b>	<b>0.14</b>	<b>0.021</b>	<b>0.030</b>	<b>0.002</b>	<b>0.0530</b>	<b>0.59</b>	<b>0.08</b>
<b>T.2.2 (A)</b>	3.79	59	92.37	0.11	0.008	0.011	0.001	0.0200	0.62	0.08
<b>T.2.2 (B)</b>	4.19	54	94.91	0.13	0.009	0.012	0.001	0.0219	0.34	0.05
<b>T.2.2 (C)</b>	3.62	58	90.63	0.14	0.04	0.034	0.002	0.0756	0.57	0.2
<b>T.2.2 (D)</b>	3.57	52	94.93	0.1	0.068	0.068	0.001	0.1371	0.56	0.06
Media T.2.2	<b>3.79</b>	<b>56</b>	<b>93.2</b>	<b>0.12</b>	<b>0.031</b>	<b>0.031</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0630</b>	<b>0.52</b>	<b>0.1</b>
<b>T.1.2 R(A)</b>	1.72	47	94.25	0.16	0.066	0.070	0.003	0.1388	0.6	0.09
<b>T.1.2 R(B)</b>	2.66	39	91.21	0.15	0.055	0.065	0.003	0.1232	0.54	0.11
<b>T.1.2 R(C)</b>	3.24	50	94.68	0.15	0.059	0.038	0.002	0.0989	0.52	0.1
<b>T.1.2 R(D)</b>	4.1	54	91.09	0.12	0.021	0.021	0.002	0.0438	0.78	0.09
Media T.1.2 R	<b>2.93</b>	<b>48</b>	<b>92.8</b>	<b>0.15</b>	<b>0.05</b>	<b>0.049</b>	<b>0.002</b>	<b>0.1014</b>	<b>0.61</b>	<b>0.1</b>
<b>T.2.2 R(A)</b>	2.37	42	94.31	0.12	0.021	0.031	0.003	0.0548	0.74	0.07
<b>T.2.2 R(B)</b>	2.27	43	91.02	0.14	0.018	0.028	0.002	0.0476	0.43	0.13
<b>T.2.2 R(C)</b>	3.89	55	91.26	0.15	0.055	0.035	0.001	0.0913	0.77	0.1
<b>T.2.2 R(D)</b>	4.78	60	92.47	0.14	0.011	0.024	0.000	0.0351	0.92	0.11
Media T.2.2 R	<b>3.33</b>	<b>50</b>	<b>92.3</b>	<b>0.14</b>	<b>0.026</b>	<b>0.029</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0560</b>	<b>0.71</b>	<b>0.1</b>

Nº Corte: 6										
Fecha corte: Corte14-5-08										
Tratamientos	kg/m <sup>2</sup>	Altura (cm)	% Humedad	Almidón	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Azúcares	Proteínas	Nicotina
<b>T.1.2 (A)</b>	2.67	50	93.22	0.16	0.012	0.018	0.0013	0.0313	0.63	0.08
<b>T.1.2 (B)</b>	3.17	57	91.86	0.15	0.016	0.032	0.0017	0.0497	0.45	0.11
<b>T.1.2 (C)</b>	2.22	39	95.33	0.13	0.026	0.029	0.0024	0.0574	0.23	0.07
<b>T.1.2 (D)</b>	2.74	50	93.25	0.11	0.033	0.022	0.0017	0.0567	0.42	0.09
Media T.1.2	<b>2.7</b>	<b>49</b>	<b>93.4</b>	<b>0.1375</b>	<b>0.022</b>	<b>0.025</b>	<b>0.002</b>	<b>0.0488</b>	<b>0.43</b>	<b>0.09</b>
<b>T.2.2 (A)</b>	3.7	47	91.05	0.15	0.015	0.048	0.0012	0.0642	0.48	0.09
<b>T.2.2 (B)</b>	3.74	58	93.66	0.12	0.026	0.037	0.00011	0.0631	0.36	0.16
<b>T.2.2 (C)</b>	3.09	49	91.29	0.12	0.058	0.012	0.0013	0.0713	0.49	0.12
<b>T.2.2 (D)</b>	2.66	38	93.43	0.14	0.030	0.015	0.0017	0.0467	0.32	0.01
Media T.2.2	<b>3.3</b>	<b>48</b>	<b>92.3</b>	<b>0.1325</b>	<b>0.032</b>	<b>0.028</b>	<b>0.001</b>	<b>0.0613</b>	<b>0.41</b>	<b>0.10</b>
<b>T.1.2 R(A)</b>	1.24	37	93.68	0.15	0.042	0.011	0.0016	0.0546	0.36	0.12
<b>T.1.2 R(B)</b>	1.2	39	92.63	0.16	0.035	0.032	0.0018	0.0688	0.48	0.15
<b>T.1.2 R(C)</b>	2.13	49	93.23	0.12	0.055	0.013	0.0022	0.0702	0.42	0.13
<b>T.1.2 R(D)</b>	2.51	51	94.25	0.15	0.023	0.048	0.0027	0.0737	0.26	0.08
Media T.1.2 R	<b>1.77</b>	<b>44</b>	<b>93.4</b>	<b>0.1450</b>	<b>0.039</b>	<b>0.026</b>	<b>0.002</b>	<b>0.0668</b>	<b>0.38</b>	<b>0.12</b>
<b>T.2.2 R(A)</b>	2.64	37	93.66	0.15	0.015	0.023	0.0017	0.0397	0.63	0.15
<b>T.2.2 R(B)</b>	1.89	33	92.58	0.15	0.026	0.019	0.0029	0.0479	0.35	0.16
<b>T.2.2 R(C)</b>	2.3	42	92.94	0.16	0.032	0.035	0.0017	0.0687	0.63	0.13
<b>T.2.2 R(D)</b>	3.26	47	91.99	0.16	0.021	0.027	0.0011	0.0491	0.65	0.09
Media T.2.2 R	<b>2.52</b>	<b>40</b>	<b>92.7</b>	<b>0.1550</b>	<b>0.024</b>	<b>0.026</b>	<b>0.002</b>	<b>0.0514</b>	<b>0.57</b>	<b>0.13</b>

### 7.3 Fotos del experimento



Foto 1. Cultivo de tabaco y llenado de depósitos



Foto 2. Semillas de tabaco



Foto 3. Densidad de plantación 4 plantas/m<sup>2</sup>



Foto 4. Densidad de plantación 8 plantas/m<sup>2</sup>



Foto 5. Parcela de tratamiento con 4 plantas/m<sup>2</sup>



Foto 6. Parcela de tratamiento con 8 plantas/m<sup>2</sup>



Foto 7. Detalle del cultivo de tabaco para biomasa I



Foto 8. Detalle del cultivo de tabaco para biomasa II



Foto 9. Plantas de tabaco cortadas



Foto 10. Planta de tabaco cortada a 10 cm del suelo



Foto 11. Plantas una vez que han rebrotado



Foto 12. Plantas de tabaco cortadas a 80 cm