

# EXTRACTOS HÚMICOS ACUOSOS OBTENIDOS DE RESIDUOS SÓLIDOS VERMICOMPOSTADOS. EFECTO EN EL CULTIVO DEL RÁBANO

Saturnina Mesa Rebato<sup>1</sup>, María Margarita Díaz de Armas<sup>1</sup>, Ámbar Rosa Guzmán Morales<sup>1</sup>, Dariellys Martínez Balmori<sup>1</sup>, Andrés Calderín García<sup>2</sup>, Fernando Guridi Izquierdo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez", Cuba.

<sup>2</sup>Universidad Federal Rural de Rio de Janeiro, Brasil

## Introducción

Las principales investigaciones en los últimos diez años en el mundo, están dirigidas principalmente hacia la búsqueda de tecnologías que permitan la reutilización de materiales residuales aprovechando sus propiedades con la finalidad de disminuir un posible efecto contaminante o de acumulación de desechos. En el Departamento de Química de La Universidad Agraria de La Habana se ha venido trabajando por un largo periodo de tiempo en la obtención de extractos acuosos de sustancias húmicas a partir de vermicompost de estiércol vacuno, con la finalidad de estimular el crecimiento, desarrollo y producción de los cultivos, utilizando diferentes procedimientos y extractantes (Caro, 2004; Hernández, 2010). En la obtención de estos extractos se genera un residuo sólido, insoluble en agua que generalmente es desechado a pesar que constituye alrededor del 90 % de la materia prima inicial (Calderín, 2010). Este trabajo tuvo como objetivo la obtención de dos extractos húmicos a partir de los residuos sólidos generados de dos procedimientos de extracción de sustancias húmicas y su aplicación en el cultivo del rábano (*Raphanus sativus* L.)

## Materiales y Métodos

Para obtener los extractos húmicos se utilizaron los residuos sólidos generados durante los procesos de obtención de extractos de sustancias húmicas (SH) según los procedimientos de Caro (2004) y Hernández (2010). Los extractos húmicos obtenidos fueron caracterizados a través de medidas de conductividad eléctrica, pH, contenido de iones Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>, contenido de ácido húmico (AH), C orgánico, acidez total, grupos carboxílicos y fenólicos y coeficiente óptico E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>.

El experimento se realizó en condiciones semicontroladas sobre canaletas en el área experimental del grupo de Biotecnología de la UNAH. Semillas de rábano (*Raphanus sativus* L.) var. Sp-9 certificadas, cedidas por el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) fueron usadas en los experimentos y el sustrato empleado es un suelo Ferralítico Rojo Hidratado (Hernández *et al.*, 1999)

Para la siembra, las semillas se esparcieron a voleo en línea realizando tres hileras. En el estudio se emplearon 3 diluciones (1/60, 1/40 y 1/20) para cada extracto y un control sin aplicación, obteniéndose siete tratamientos. Se realizaron tres aplicaciones de los líquidos extraídos por aspersión foliar. La primera aplicación se realizó cuando apareció el primer par de hojas verdaderas, a razón de 15mL por planta y se sucedieron las siguientes espaciándose a 5 días entre cada aplicación. Al control se le añadió igual volumen de agua cada vez que se realizaba una aplicación foliar.

Se realizaron 2 escardas y un ligero aporcado para evitar el encamado de las plantas. A los 15 días de la siembra se realizó un raleo, dejando los rabanitos distanciados de 5 cm a 10 cm de separación. Se aplicó riego 10 días consecutivos a partir de que fueron sembradas las semillas, luego se dieron 3 riegos más esparcidos según el instructivo técnico del cultivo. Se determinó en el cultivo variables de crecimiento y rendimiento tales como: porcentaje de germinación aplicando los diferentes extractos (%), número de hojas, longitud del tallo (cm), masa fresca parte aérea (g), diámetro ecuatorial de la raíz engrosada (cm), masa fresca y masa seca de la raíz engrosada (g)

Se empleó un diseño aleatorio y para el estudio estadístico de los experimentos se realizó un análisis de varianza simple, considerando cada individuo como una réplica y tomando 20 plantas para cada tratamiento. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) en su clasificación simple. Realizándose la prueba de comparación múltiple de Tukey 95% y transformaciones en la variable número de hojas ( $\sqrt{n}$ ).

## Resultados y Discusión

Los valores de pH y de conductividad eléctrica de ambos extractos se encuentran en el rango de valores permisibles para su uso en los cultivos que se desarrollan en suelos tropicales (Díaz, 2011). Para ambos indicadores los valores son inferiores a los encontrados por Caro (2004) y Hernández, (2010), lo que pudiera deberse a que durante la primera extracción se arrastraron una parte significativa de las sustancias inorgánicas salinas contenidas en el vermicompost primario empleado como punto de partida.

Tabla 1. Valores de pH, conductividad eléctrica, contenido de iones Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>.

Extractos	pH	Conductividad (mS.cm <sup>-1</sup> )	Na <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	K <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )
Extracto I	7.4	2.48	150	1709
Extracto II	7.2	2.38	138	1980

El contenido de Na<sup>+</sup> de los extractos obtenidos son inferiores a los reportados en la literatura para otros extractos acuosos de SH, valores por encima de los 500 mg/L pudieran causar efecto de fitotoxicidad lo que no se encuentran en nuestra experiencia (Caro, 2004; Madaeni *et al.*, 2006).

Carranza *et al.* (2009) alertan sobre el efecto de fitotoxicidad que pueden experimentar las hortalizas ante la presencia excesiva del sodio, por lo que el menor contenido de Na<sup>+</sup>, en los extractos obtenidos disminuiría el posible riesgo que pudieran provocarse una vez aplicados foliarmente en las plantas de rábano.

Por otra parte, el contenido de K<sup>+</sup> en el extracto II es superior al de otros extractos húmicos (Ruiz, 1999; Caro, 2004), lo que estaría relacionado con el hecho de que en ellos la disolución extractiva contiene KOH y KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Hernández, 2010). La sustitución del pirofosfato por el KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> tuvo como finalidad atenuar su agresividad (Rocha *et al.*, 2007) y mantener el aporte de P al extracto. De igual forma sucede con los valores obtenidos en los contenidos de sodio en el extracto I ya que el mismo se extrae con la metodología propuesta por Caro (2004).

A diferencia del Na<sup>+</sup>, el K<sup>+</sup> no presenta efectos de fitotoxicidad por lo que el aumento del contenido de este elemento en el extracto de residuo húmico obtenido pudiera ser favorable ya que podría ejercer un efecto positivo una vez dentro de la célula vegetal en procesos de crecimiento y desarrollo.

En la Tabla 2 se presentan los contenidos de C orgánico, la acidez total, carboxílica y fenólica y el coeficiente óptico E4/E6 de los AH aislados de cada extracto húmico obtenido. El porcentaje de C orgánico en los AH de los extractos obtenidos está por encima de los valores mínimos requeridos (30 %) para el empleo de este tipo de sustancias orgánicas líquidas en muchos países de Europa según Ramos (2000). Se evidencia que los AH aislados presentan una acidez que se debe principalmente al contenido de grupos carboxílicos. Los resultados sugieren que el extracto I posee mayor liberación de grupos carboxílicos alifáticos y aromáticos los cuales son los responsables de este valor, por el contrario el extracto II resulta tener mayor grado de condensación al tener menor acidez, lo

cual concuerda con lo planteado por Rosa *et al.* (2008) trabajando en suelos bajo diferentes sistemas de cultivo.

**Tabla 2.** % de C orgánico, acidez total, carboxílica y fenólica (mmol.g<sup>-1</sup> de AH) y coeficiente óptico E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> de los AH aislados de cada extracto.

Extractos	% C orgánico	Total	COOH	-OH	E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub>
		(mmol .g <sup>-1</sup> de SH)			
I	39.8	340	280	60	6.23
II	44.5	220	150	70	5.98

Los resultados obtenidos en la evaluación de los indicadores de crecimiento estudiados según las diferentes diluciones de los extractos empleados se muestran en la tabla 3. En cuanto a los indicadores número de hojas y longitud del tallo no se encontraron diferencias significativas, sin embargo parece haber una ligera tendencia a su aumento en todos los tratamientos mientras menor sea la concentración del extracto. El aumento del número de hojas que experimentaron las plantas de rábano que se asperjaron con las diluciones de los extractos, lo cual como se verá más adelante repercutió en el aumento de los indicadores del rendimiento evaluados, dado por la mayor actividad fotosintética que aumenta la mayor producción de sustancias de reserva que constituyen el engrosamiento de la raíz, que en este caso constituye el fruto agrícola de este cultivo (Hernández, 2010). En cuanto a la masa fresca de la parte aérea los resultados obtenidos en la tabla 3 muestran diferencias significativas entre el control y las diluciones de los extractos, con excepción de la dilución 1/20 v.v. del extracto I, sobresaliendo las diluciones del extracto II.

**Tabla 3.** Indicadores de crecimiento en plantas de rábano

Extractos	Diluciones v.v.	Número de hojas	Longitud del tallo (cm)	Masa fresca parte aérea (g)
Control		3.70	1.16	1.05 e
I	1/60	4.81	1.21	1.30 c
	1/40	4.70	1.20	1.19 d
	1/20	3.90	1.19	1.15 de
II	1/60	5.11	1.57	2.00 a
	1/40	5.00	1.54	1.95 ab
	1/20	4.90	1.50	1.94 ab
		n.s	n.s	c.v. 18.65% E.Sx0.077

a-e.

**Letras desiguales difieren significativamente (Tukey p<0.05)**

Los resultados obtenidos en la evaluación de los indicadores de rendimiento estudiados según las diferentes diluciones de los extractos empleados se muestran en la tabla 4. Todas las diluciones de ambos extractos tuvieron diferencias significativas con respecto al control en los indicadores de rendimiento evaluados. Siendo la dilución 1/60 del extracto II la de mayor valor para el indicador del diámetro ecuatorial de la raíz, y la dilución 1/20 del extracto I para los indicadores de masa fresca y seca de la raíz engrosada. Precisamente la raíz engrosada es el órgano de consumo de este cultivo, por lo que la segunda extracción de los residuos de desecho sólido de la primera extracción de vermicompost ya sea por la técnica desarrollada por Caro (2004) o por Hernández (2010) producen extractos que mantiene componentes característicos de humus líquido que hace posible que diluciones del mismo muestren efectos fisiológicos bioestimulantes en este cultivo.

Tabla 4. Indicadores de rendimiento en plantas de rábano (momento de la cosecha).

Extractos	Diluciones	Diámetro ecuatorial de la raíz engrosada (cm)	Masa fresca de la raíz engrosada (g)	Masa seca de la raíz engrosada (g)
<b>TESTIGO</b>		1.22 d	2.05 c	1.01 c
<b>I</b>	<b>1/60</b>	1.90 c	2.85 b	1.75 b
	<b>1/40</b>	1.79 c	2.89 b	1.80 b
	<b>1/20</b>	2.00 c	2.98 a	1.90 a
<b>II</b>	<b>1/60</b>	2.59 a	2.90 b	1.89 ab
	<b>1/40</b>	2.45 b	2.85 b	1.81 b
	<b>1/20</b>	2.40 b	2.89 b	1.87 ab
		<b>c.v. 11.81%</b> <b>E.S.0.33</b>	<b>c.v. 8.285%</b> <b>E.S.0.052</b>	<b>c.v. 9.285%</b> <b>E.S.0.055</b>

<sup>a-d</sup>. Letras desiguales difieren significativamente (Tukey  $p < 0.05$ )

Estos resultados probablemente estén relacionados con una estimulación en la síntesis de diversos metabolitos, como pudieran ser aminoácidos y proteínas entre otros, en las plantas que fueron asperjadas con el extracto, favoreciéndose la acumulación de biomasa. Varios autores han reportado que con la aplicación de SH se estimula la expresión de genes que codifican la biosíntesis de proteínas (Vargas *et al.*, 2008; Elena *et al.*, 2009). Otra posibilidad sería que el extracto de SH podría estar favoreciendo la absorción de  $N-NO_3$ , lo cual está relacionado con la actividad de las  $H^+$ -ATPasa (Martínez, 2006; Canellas *et al.*, 2008), indispensable para el crecimiento al formar parte de muchos metabolitos y estar involucrado en un gran número de procesos metabólicos, formando parte integrante de muchas biomoléculas que integran los tejidos.

Se ha detectado con la aplicación de SH vía foliar, un fuerte estímulo del crecimiento radicular, número de sitios de mitosis, número de raíces emergidas y área superficial, estando el crecimiento de las raíces acompañado de una estimulación de la actividad  $H^+$ -ATPasa (Martínez, 2006; Muscolo *et al.*, 2007). Sin embargo, como el crecimiento radicular está regulado genéticamente y depende de una serie de factores, entre los que se encuentra el estímulo hormonal, las respuestas biológicas encontradas con la aplicación foliar de SH pudieran relacionarse con la actividad "like-hormone" de los AH y AF contenidos en el extracto. Estos resultados constituyen una evidencia más de que la aplicación foliar de un extracto de SH tenga repercusiones en el crecimiento de la raíz (Martínez, 2006, Huelva *et al.*, 2006, Calderín *et al.*, 2009).

### Conclusiones

Los dos extractos obtenidos a partir de los residuos sólidos no presentaron diferencias significativas en los indicadores de caracterización empleados, aunque en los ácidos húmicos presentes en dichos extractos, difieren en cuanto al porcentaje de carbono, la acidez y el coeficiente óptico  $E_4/E_6$ .

Los indicadores del rendimiento evaluados en las plantas tratadas con los extractos superaron significativamente al control, lo que demuestra que aún en el residuo sólido permanecen sustancias con actividad biológica.

## Referencias Bibliográficas

- Calderín, A., Guridi, F., Mollineda, A., García, E., Pimentel, J., Huelva, R., Valdés, R., Hernández, O. (2009) Efectos biológicos de derivados del humus de lombriz sobre el crecimiento de plántulas de maíz (*Zea Mays L., Var. Canilla*), *Revista Centro Agrícola*, 36(1): 27-31.
- Calderín, A. (2010) Retención de metales pesados y actividad biológica de la fracción residual de un vermicompost. Tesis de Maestría en opción al título de Máster en Ciencias de la Química Agraria. Universidad Agraria de La Habana.
- Canellas, P.C. Santos, A.G., Busato, G. J., Soaccini, R., Piccolo, A., Martin-Neto, L. Bioactivity and chemical characteristic of humic acids from tropical soils. *Soil. Sci.* 173, 624-637. 2008.
- Caro, I. Caracterización de algunos parámetros químico - físico del humus líquido obtenido a partir de vermicompost de estiércol vacuno y su evaluación sobre algunos indicadores biológicos y productivos de dos cultivos. Tesis de maestría. La Habana 2004.
- Carranza C, Lancho O, Miranda D, Chaves V. Growth analysis of "Batavia" lettuce (*Lactuca sativa L.*) cultivated in a saline soil of the Bogota Plateau. *Agronomía Colombiana* 27(1), 41-48. 2009.
- Díaz, M. Conferencia Especializada en el Taller "El suelo como ente vivo: suelo, planta, ambiente", Mayabeque, Cuba Proyecto AECID UNAH-Universidad de Almería, 2011.
- Elena, A., Diane, L., Eva, B., Marta, F., Roberto, B., Garcia-Mina, J. The root application of a purified leonardite humic acid modifies the transcriptional regulation of the main physiological root responses to Fe deficiency in cucumber plants. Elsevier. *Science Direct. Plant Physiology and Biochemistry*, 27:29-39. 2009.
- Hernández, O. Modificaciones al proceso de obtención de sustancias húmicas a partir de vermicompost: efectos biológicos. Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en Ciencias de la Química Agrícola. Facultad de Agronomía, UNAH, 2010.
- Hernández, A. Pérez, Jiménez, Boch, D., Rivero, L. Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. Ministerio de Agricultura. 1999.
- Madaeni, S.S., Sedeh, S., Nobili, M. Ultrafiltration of Humic Substances in the Presence of Protein and Metal Ions. *Springer Science. Transport in Porous Media* 65: 469–484. 2006.
- Martinez, B., D. Evaluación del efecto del Liplant en indicadores bioquímicos fisiológicos en el cultivo del maíz (*Zea mays L.*). Tesis de maestría. La Habana. 2006.
- Muscolo, A. Diallo, D. Michaelsen, T.E. Nardi, S. The auxin-like activity of humic substances is related to membrane interactions in carrot cell cultures. *J Elsevier. Science Direct. Chem Ecol* 33: 115-129. 2007.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vianello, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology & Biochemistry* (34), pp: 1527-1536. 2002.
- Rocha, J.C. Rosa, A.H. Substâncias húmicas de turfa. Estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. Elsevier. *Science Direct Química Nova*, v. 23, nº4, 2007.
- Ruiz, V. E.: Evaluación de algunos parámetros químico-físicos de cinco tipos de vermicompost producidos en cuba. Monografía. La Habana: DICT, 6-32p. 1999.
- Vargas, C., Suarez, F.E. Influence of microbial inoculation and co-compostqqwing material on the evolution of humic-like substances during composting of horticultural wastes. Elsevier. *Science Direct Process Biochemistry* 41 1438–1443. 2008.