

Artículo original

Efecto de un extracto de vermicompost en *Lactuca sativa* L. cultivada con bajos suministros hídricos

Helen Veobides-Amador^{1*} 

Fernando Guridi-Izquierdo¹ 

Omar Cartaya-Rubio² 

Vladimir Vázquez-Padrón³ 

Onelia Adriana Alarcón-Santos¹ 

Dariellys Martínez-Balmori⁴ 

¹Facultad de Agronomía, Universidad Agraria de La Habana (UNAH), Autopista Nacional km 23½, San José de Las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32700

²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

³Centro Universitario Municipal de San Nicolás, Universidad Agraria de La Habana (UNAH), Autopista Nacional km 23½, San José de Las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32700

⁴Facultad de Química, Universidad de La Habana (UH), Calle Zapata s/n, entre G y Carlitos Aguirre, Vedado, CP 10400

*Autor para correspondencia: helenv@unah.edu.cu

RESUMEN

La agricultura, un sector altamente consumidor de agua, destina cerca del 70 % del agua potable para el regadío, lo que afecta la disponibilidad de este recurso escaso y limitado. Hace décadas se evidencia la acción bioestimulante en numerosos cultivos de los extractos acuosos de sustancias húmicas, a partir de vermicompost de estiércol vacuno, comprobándose también el efecto protector ante condiciones de estrés abiótico. La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una hortaliza exigente al suministro hídrico que responde al efecto estimulante de los extractos húmicos. Por estas razones el trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la aplicación de un extracto húmico de vermicompost (EHV) en plantas de lechuga cultivadas con bajos suministros hídricos. Se condujeron experimentos en condiciones controladas, tratándose las plantas con la combinación de tres diluciones del EHV obtenido y dos condiciones hídricas (25 % y 50 % de la capacidad máxima (CM) de retención de agua), siguiendo un diseño experimental completamente aleatorizado. A los 42 días después de emergidas las plantas, se evaluaron indicadores de productividad biológica e indicadores

bioquímicos-fisiológicos. El extracto húmico de vermicompost presentó propiedades físico-químicas ventajosas para su empleo como bioestimulante. Las plantas asperjadas con las diluciones del extracto y en condiciones de bajos suministros hídricos, presentaron valores similares o superiores al control con adecuado abastecimiento de agua (85 % de la CM). Se verificaron incrementos en el contenido de prolina y proteínas foliares, no observados en el contenido relativo de clorofila. Se recomienda realizar la caracterización total de los extractos de vermicompost y estudiar la respuesta de lechuga en condiciones de campo.

Palabras clave: sustancias húmicas, disponibilidad de agua, hortalizas, productividad

Recibido: 01/11/2020

Aceptado: 01/10/2021

INTRODUCCIÓN

Según el informe de la Organización de las Naciones Unidas (por sus siglas en inglés FAO) para la Agricultura y la Alimentación ⁽¹⁾, la agricultura es un sector altamente consumidor de agua, destinando cerca del 70 % del agua potable del planeta para el riego de los cultivos. El porcentaje de agua potable presente en la superficie de la Tierra es tan solo de un 0,025 % del total, de ahí la necesidad, de realizar un mejor aprovechamiento de este recurso escaso y limitado. También es conocido que la población mundial ha aumentado considerablemente, lo que trae consigo un incremento en la demanda de productos agrícolas y en la extracción de agua para riego ⁽²⁾.

En este contexto, la actualización del modelo económico cubano, apunta hacia el desarrollo de una agricultura sostenible, empleando una gestión integrada de ciencia, tecnología y medio ambiente, aprovechando y fortaleciendo las capacidades disponibles en el país ⁽³⁾. En la estrategia económica y social del país para el impulso de la economía y el enfrentamiento a la crisis mundial generada por la COVID-19, se plantea la necesidad de incentivar la utilización eficiente de los recursos materiales y el ahorro como premisas para el crecimiento de la economía ⁽⁴⁾.

Dado el contexto actual de la agricultura cubana, es necesario emplear bioproductos de origen natural, fácilmente disponibles, no contaminantes del medio ambiente, obtenidos mediante metodologías que reduzcan los costos de producción y aumenten la productividad de los cultivos, reduciendo el empleo de fertilizantes y plaguicidas químicos importados a precios elevados ⁽⁵⁾.

El uso de bioestimulantes en la agricultura, categoría en la que se incluye a las sustancias húmicas ⁽⁶⁾, ha ganado especial atención ya que proporciona numerosos beneficios en la estimulación del crecimiento y la protección contra estrés ⁽⁷⁾, lo que contribuye a la adaptación de los sistemas de producción agrícola al nuevo escenario ⁽⁸⁾. Investigadores del Departamento de Química de la Universidad Agraria de La Habana (UNAH), durante más de dos décadas, han obtenido extractos acuosos de vermicompost derivados de estiércol vacuno a base de sustancias húmicas (ácidos húmicos y fúlvicos) y verificado la acción bioestimulante mediante la aplicación foliar de estos

humatos, favoreciéndose la productividad biológica y agrícola en numerosos cultivos de interés agronómico⁽⁸⁻¹³⁾; entre ellos, la lechuga (*Lactuca sativa* L.), el maíz (*Zea mays* L.), el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), la acelga (*Beta vulgaris* L.) y el ajo (*Allium sativum* L.). El primero de estos cultivos se corresponde con la hortaliza de hoja más consumida en el mundo, por su contenido de vitaminas y sales minerales de fácil absorción, que es extremadamente sensible al déficit hídrico, debido a su sistema radical poco profundo⁽¹⁴⁾, lo que lleva al productor a un suministro de agua superior a las necesidades de este cultivo⁽¹⁵⁾.

Numerosos investigadores han abordado las potencialidades de los ácidos húmicos (AH) para producir mecanismos de defensas en plantas que están sometidas a estrés abiótico, proporcionando respuestas adaptativas superiores⁽¹⁶⁻²¹⁾. Estas respuestas adaptativas a condiciones de estrés como la salinidad, sequía, metales pesados e incluso los propios AH fueron exploradas a nivel transcripcional⁽²¹⁾, postulándose que los AH pueden utilizarse como agente “primario” (*primed state: PS*) de defensa de las plantas.

Teniendo en cuenta las necesidades de realizar un uso más eficiente del recurso agua y las potencialidades del empleo de las sustancias húmicas en plantas cultivadas en condiciones de estrés se planteó como objetivo de la presente investigación, evaluar el efecto de un extracto húmico de vermicompost (EHV) en plantas de lechuga cultivadas con bajos suministros hídricos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y caracterización del extracto húmico de vermicompost (EHV) a partir de estiércol vacuno

El vermicompost de estiércol vacuno (VC) empleado para la obtención del extracto es comercializado por la UEB de Producciones Varias perteneciente al Ministerio de la Agricultura (MINAG). El VC tamizado (2 mm) y seco, fue sometido a extracción con una disolución básica compuesta por KOH, Urea y KH_2PO_4 , en una proporción 1:10 (m:v)⁽²²⁾ con algunas modificaciones⁽²³⁾.

La caracterización del extracto obtenido, se realizó en los laboratorios del Departamento de Química de la UNAH y el laboratorio de Agroquímica del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) consistió en determinaciones de pH (potenciometría) conductividad eléctrica (conductimetría), carbono orgánico soluble (COS)⁽²⁴⁾, carbono orgánico como ácidos húmicos (CO_{AH})⁽²⁵⁾, contenido de iones Na, K, Ca, Mg y contenido de P⁽²⁶⁾.

Efecto de la aplicación del EHV en indicadores de productividad biológica y bioquímicos-fisiológicos en plantas de lechuga con bajos suministros hídricos

Los experimentos fueron ejecutados en el cuarto de luces del laboratorio de Fisiología del INCA ($T= 22,1-27,6\text{ }^\circ\text{C}$ y $\text{HR}= 40-73\%$). Semillas de lechuga certificadas de la variedad Black Seeded Simpson previa desinfección con NaClO al 1 % fueron sembradas en una mezcla de suelo: vermicompost en proporción 3:1 (m:m). A este sustrato

se le determinó la Capacidad Máxima de Retención de agua (CM) ⁽²⁷⁾. El suelo empleado para este sustrato se corresponde con un suelo Ferralítico Rojo Lixiviado agrogénico, (FRL) ⁽²⁸⁾.

Fueron sembradas 10 semillas por potes (63 en total), en los que se mantuvo cada día el 85 % de la CM determinada. A los 9 días después de la emergencia (DDE) se realizó un raleo para dejar las dos posturas más homogéneas en cada pote, que permanecieron en esas condiciones otros siete días. A partir de este momento se comenzó a reducir el riego de manera que los potes alcanzaran condiciones de suministro hídrico de 50 y 25 % de la CM, dejando un grupo de potes con el 85 % de CM que se corresponde con la condición óptima para este cultivo. Al cabo de los 16 DDE los potes se subdividieron siguiendo un diseño experimental completamente aleatorizado, realizando la aspersión foliar de diluciones del extracto (1:40, 1:60 y 1:80, v:v), manteniendo un grupo de potes con el 85 % de CM sin asperjar, los que funcionarían como control. A los 15 días después de realizada la aspersión de las diluciones del EHV, con un aspersor manual de forma cónica y una dosis de 5 mL por planta, se realizó otra aspersión en las mismas condiciones. El esquema de los tratamientos se representa en la Tabla 1.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos aplicados a las plantas de lechuga en condiciones controladas

Tratamiento	Significado
T1	85 % de CM (Control)
T2	25 % de CM y aspersión de EHV (1:40)
T3	25 % de CM y aspersión de EHV (1:60)
T4	25 % de CM y aspersión de EHV (1:80)
T5	50 % de CM y aspersión de EHV (1:40)
T6	50 % de CM y aspersión de EHV (1:60)
T7	50 % de CM y aspersión de EHV (1:80)

A los 42 DDE se realizaron muestreos destructivos y no destructivos para evaluar los indicadores de productividad biológica previamente concebidos, utilizando las nueve réplicas existentes por cada tratamiento. El número de hojas se determinó mediante conteo visual, la altura de la planta (cm) por medición desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja superior y la longitud de la raíz (cm) por medición desde la base del cuello hasta la parte apical de la raíz principal, ambos con regla graduada de 1 mm de precisión. La masa fresca (MF) de la parte aérea (g) se evaluó directamente pesando en balanza analítica modelo (Sartorius BS-124S) $d=\pm 0,0001$ g, y las masas seca foliar y de la raíz (g) se evaluaron mediante gravimetría con el uso de una estufa (Venticell-707) de circulación de aire a 60 °C.

Las terceras hojas de cada planta del mismo tratamiento fueron mezcladas homogéneamente para realizar las determinaciones de todos los indicadores bioquímicos-fisiológicos, las cuales se realizaron por triplicado.

La tercera hoja expandida de cada planta del pote fue muestreada ⁽²⁹⁾ a los 42 días de emergidas las plantas.

El contenido de proteína foliar se determinó mediante espectrofotometría a 500 nm ⁽³⁰⁾ usando albúmina de suero bovino (BSA) como patrón y fue expresado como μg de proteína g^{-1} de MF. El contenido relativo de clorofila fue determinado con un medidor de clorofila portátil (modelo SPAD-502, Minolta) en la tercera hoja expandida de cada planta, tomando el promedio de cuatro mediciones por hoja. Se realizó la determinación

de prolina como indicador de resistencia al estrés con algunas modificaciones ⁽³¹⁾. Para ello se tomaron muestras de 0,2500 g de hojas. Se llevó a cabo la extracción con agua destilada cercana al punto de ebullición y se realizó la determinación colorimétrica con el reactivo ninhidrina ácida a 520 nm. La concentración de prolina fue expresada en base a la masa fresca ($\mu\text{mol prolina g}^{-1}$ de MF).

Los datos fueron procesados estadísticamente usando el programa Statgraphics Plus versión 5.1, realizando un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) y la prueba de comparación múltiple de medias con Tukey 95 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención y caracterización del extracto húmico de vermicompost (EHV) a partir de estiércol vacuno

El extracto húmico de vermicompost (EHV) obtenido posee la coloración oscura característica de los extractos conteniendo sustancias húmicas (SH). En la Tabla 2 se presentan las propiedades físico-químicas del extracto evaluadas en este trabajo, las que se encuentran dentro del rango de valores encontrados en la literatura ⁽³²⁾.

El valor de pH del extracto se encuentra cercano a la neutralidad y la conductividad eléctrica (CE), así como los sólidos solubles totales (SST) presentan valores que aseguran la no agresividad del extracto con el medio ambiente ⁽²²⁾.

Tabla 2. Propiedades físico-químicas del extracto húmico de vermicompost

Propiedad	pH	CE (mS cm ⁻¹)	SST (g L ⁻¹)	COS (%)	CO _{AH}	P	Ca ²⁺	Mg ²⁺ (mg L ⁻¹)	Na ⁺	K ⁺
	7,29	8,99	5,14	35,48	25,79	647,36	95,00	28,00	85,28	55,02
Esx±	0,01	0,06	0,04	0,93	1,27	25,00	2,89	1,00	1,20	1,74

Medias de tres repeticiones

CE: conductividad eléctrica, SST: sólidos solubles totales, COS: contenido de carbono orgánico soluble, CO_{AH}: contenido de carbono como ácido húmico

El contenido de COS del extracto obtenido es de 35,5 %, superior al informado por otro autor ⁽²³⁾, empleando el mismo procedimiento de extracción, pero diferente vermicompost de estiércol vacuno. Los contenidos del COS en el extracto, así como el del CO_{AH} (25,8 %) se encuentran por encima de los valores mínimos requeridos (30 % y 15 %, respectivamente) para el empleo de este tipo de sustancias orgánicas líquidas ⁽³²⁾. Se informa que dichos valores varían en dependencia del tiempo de maduración, material de origen y tipo de lombriz empleada para la obtención del vermicompost ⁽³³⁾.

Con respecto al contenido de los elementos P, Ca, Mg, Na, y K, estos se diferenciaron considerablemente de los observados por otros autores, que realizaron una caracterización total de los extractos húmicos de vermicompost ^(22,34). El contenido de fósforo fue inferior al obtenido por otro autor (34), posiblemente debido a que este utiliza una mezcla extractiva diferente: Na₄P₂O₇/NaOH. Los contenidos de Ca²⁺ y Mg²⁺ obtenidos

fueron muy superiores a los obtenidos en otros estudios ⁽³⁴⁾, mientras que los contenidos de Na⁺ y K⁺ fueron inferiores a los informados por otros investigadores ^(22,34).

De esta forma, se verifica que las propiedades físico-químicas del EHV obtenido difieren de las propiedades de otros extractos obtenidos ^(22,34), lo cual se debe al empleo de diversos protocolos de extracción, así como VC diferentes cuya variabilidad natural hace que los extractos presenten diferente composición ⁽³³⁾; no obstante, se evidencia que el EHV obtenido es un extracto líquido rico en sustancias húmicas, con un elevado contenido de carbono orgánico y de ácidos húmicos, que podría ejercer un efecto favorable en lechuga cultivada en condiciones de bajos suministros hídricos.

La emisión de hojas no fue afectada en las plantas de lechuga asperjadas con diferentes diluciones del EHV y sometidas a diferentes suministros hídricos (Tabla 3). Todos los tratamientos, a excepción del tratamiento T6 (EHV dilución 1:60 con 50 % de suministro hídrico), no presentaron diferencias significativas con respecto al tratamiento control (T1, 85 % de CM). Cabe destacar que el tratamiento T6 mostró valores significativamente superiores a T1 y a T4 (EHV dilución 1:80 con 25 % de CM), no mostrando diferencias con el resto de los tratamientos. Este resultado, teniendo en cuenta que las hojas constituyen el órgano de consumo en este cultivo, es trascendente particularmente en las plantas sometidas al menor abastecimiento hídrico (25 %).

Tabla 3. Indicadores de productividad biológica evaluados en las plantas de lechuga asperjadas con diluciones del extracto de vermicompost sometidas a diferentes suministros hídricos

Tratamientos	Número de hojas (unidades)	Altura de la planta (cm)	Longitud raíz (cm)
1	13,0000 bc	18,4444 c	20,4333 ab
2	14,3333 ab	19,7778 a	19,7611 ab
3	14,0828 abc	17,4778 bc	19,0922 b
4	12,8333 c	17,7333 bc	19,6933 ab
5	13,6667 abc	19,1533 a	19,1956 b
6	14,7778 a	17,6444 c	21,4133 a
7	13,8333 abc	17,3978 bc	21,4622 a
ESx	0,3386**	0,5512**	0,4592**

*Medias con letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey, p<0,05

T1: 85 % de CM (Control), T2: 25 % de CM y aspersión del EHV 1:40, T3: 25 % de CM y aspersión del EHV 1:60, T4: 25 % de CM y aspersión del EHV 1:80, T5: 50 % de CM y aspersión del EHV 1:40, T6: 50 % de CM y aspersión del EHV 1:60, T7: 50 % de CM y aspersión del EHV 1:80

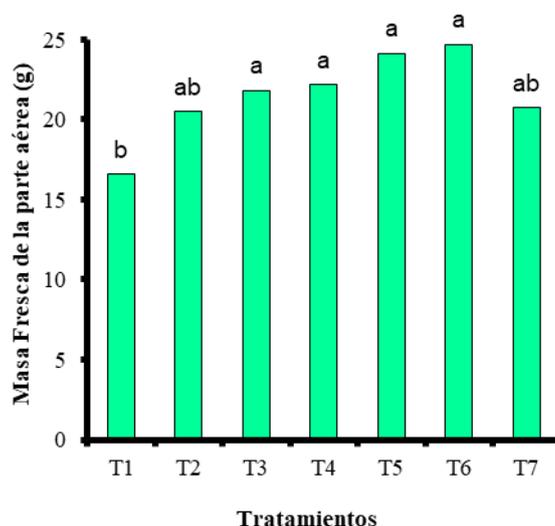
Los resultados para la altura de la planta muestran que se consiguió contrarrestar el posible impacto negativo del insuficiente abastecimiento hídrico, a través de la aplicación foliar de las diluciones de los extractos de VC, lográndose valores en este indicador que no difieren del tratamiento control, excepto los tratamientos T2 y T5 que presentaron valores significativamente superiores, los que se corresponden con la dilución 1:40 del EHV con 25 y 50 % de la CM, respectivamente.

Los efectos positivos de la aplicación de sustancias húmicas en indicadores de productividad han sido comprobados en condiciones de déficit hídrico. Se encontró que plántulas de arroz en condiciones de déficit hídrico y asperjadas con una dilución de ácido húmico AH, alcanzaron una altura semejante al control en

condiciones de aniego ⁽³⁵⁾, lo que coincide con los resultados de la presente investigación. Estos resultados son promisorios teniendo en cuenta que generalmente ocurre una reducción significativa en la altura de plantas debido a condiciones de estrés.

Al analizar la longitud de la raíz se verificó un comportamiento similar a los otros indicadores debido a que las plantas tratadas con aspersion foliar de las diluciones del EHV y sometidas a bajos suministros hídricos, presentaron valores semejantes al control. La estimulación de la longitud de la raíz en condiciones de estrés abiótico ha sido documentada. Se informó que este indicador en variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) cultivadas en condiciones moderadas de salinidad y con aplicación foliar de la dilución 1:60 de un extracto de VC, presentaron valores cercanos a las plantas control ⁽³⁶⁾. Por otra parte, se comprobó que la aplicación de AH de vermicompost en plantas de arroz (*Oriza sativa* L.) causó un incremento significativo en la longitud de la raíz bajo condiciones de estrés hídrico ⁽³⁷⁾, mostrando un efecto dependiente de la concentración de ácido húmico empleada.

La aplicación de las diluciones del EHV consiguió incrementar la masa fresca de la parte aérea (Figura 1) en plantas de lechuga en condiciones de insuficientes suministros hídricos, presentando valores estadísticamente similares o superiores al control, aunque no mostraron diferencias significativas entre sí. Los mayores incrementos se obtuvieron con la dilución 1:40 y 1:60, con aportes hídricos del 50% (T5 y T6), seguidos por las diluciones 1:60 y 1:80, con aportes del 25% (T3 y T4).



T1: 85 % de CM (Control), T2: 25 % de CM y aspersion del EHV 1:40, T3: 25 % de CM y aspersion del EHV 1:60, T4: 25 % de CM y aspersion del EHV 1:80, T5: 50 % de CM y aspersion del EHV 1:40, T6: 50 % de CM y aspersion del EHV 1:60, T7: 50 % de CM y aspersion del EHV 1:80

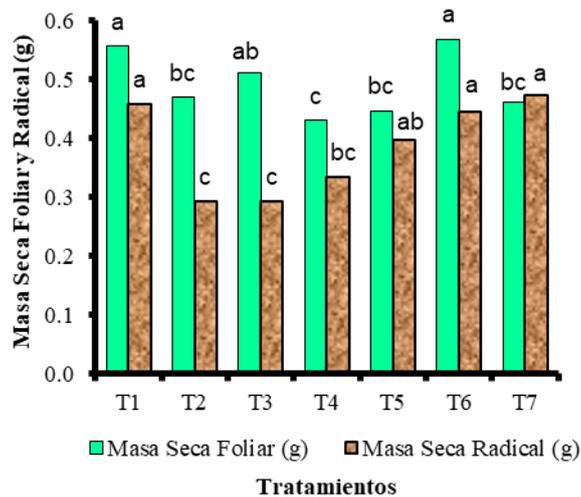
*Medias con letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey, $p < 0,05$

Figura 1. Masa Fresca de la parte aérea de lechuga asperjada con diluciones del extracto de vermicompost sometidas a diferentes suministros hídricos

Se observó una estimulación en la masa fresca de plantas lechuga variedad BSS-13 ⁽⁹⁾ que fueron asperjadas con dosis de Liplant[®], humus líquido con características similares al extracto utilizado en este trabajo. Otros autores

reportan para diferentes cultivos y productos a base de sustancias húmicas, resultados que coinciden con los observados en el presente trabajo ^(8-11,36,38). Por el contrario, no se encontraron efectos positivos en la productividad de esta hortaliza, aplicando diferentes dosis de ácidos húmicos comerciales al suelo ⁽³⁹⁾, concluyendo que la aplicación de SH no es efectiva en el incremento de la absorción de los nutrientes y productividad de los cultivos, lo que pudiera deberse a la forma de aplicación y dosis utilizada del producto húmico.

Al estudiar la masa seca foliar (Figura 2) se pudo constatar que se produjo una disminución de la biomasa, excepto para los tratamientos T3 y T6, ambos con la aspersión foliar de la dilución 1:60, los que no presentaron diferencias significativas respecto al control. De esta forma la aspersión de la dilución 1:60 mostró un efecto favorable en la producción de biomasa de plantas cultivadas con el menor abastecimiento hídrico teniendo en cuenta que la producción de biomasa en lechuga es significativamente afectada por el empleo de riegos deficitarios ⁽⁴⁰⁾.



T1: 85 % de CM (Control), T2: 25 % de CM y aspersión del EHV 1:40, T3: 25 % de CM y aspersión del EHV 1:60, T4: 25 % de CM y aspersión del EHV 1:80, T5: 50 % de CM y aspersión del EHV 1:40, T6: 50 % de CM y aspersión del EHV 1:60, T7: 50 % de CM y aspersión del EHV 1:80.

*Medias con letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey, $p < 0,05$

Figura 2. Masa seca foliar y radical de plantas de lechuga asperjadas con diluciones del extracto de vermicompost sometidas a diferentes suministros hídricos

Fueron encontrados incrementos significativos en la biomasa foliar de lechuga americana variedad Raider Plus ⁽⁴¹⁾, con la aplicación de diferentes diluciones de ácido fúlvico extraído de leonardita, comprobándose que dicho efecto fue dependiente de la concentración, similar a lo observado en el presente trabajo. La influencia de la dosis de aplicación, así como la fuente de SH y en menor extensión, el tipo de planta y las condiciones de crecimiento, fueron investigados mediante análisis de diferentes artículos científicos ⁽⁴²⁾, estimando incrementos de 22 ± 4 % en la masa seca de brotes y de 21 ± 6 % en la masa seca de raíces en respuesta a la aplicación de estas sustancias.

En relación a la masa seca radical se observó una disminución de esta variable en los tratamientos con respecto al control, excepto para aquellos con suministros del 50 %, lo que coincide con un estudio realizado en el cultivo de arroz ⁽¹⁹⁾, observándose que la producción neta de biomasa radical fue afectada en condiciones de

estrés, mientras que al aplicarle ácidos húmicos se consiguieron resultados similares y superiores a los de las plantas estresadas.

Los resultados obtenidos en estos indicadores demuestran el efecto beneficioso de la aplicación foliar de diluciones del extracto húmico de vermicompost obtenido, en plantas de lechuga con insuficiente suministro hídrico, ejerciendo un efecto restaurador en la variedad Black Seeded Simpson similar a lo encontrado por otros autores, trabajando en condiciones de estrés abiótico y en diferentes cultivos ^(19,35,36). Es de destacar que el tratamiento T6, con la aplicación foliar de la dilución 1:60 con un 50 % de la CM, fue el que mostró los mejores resultados en la producción de biomasa tanto foliar como radical.

Estos efectos podrían explicarse por la actividad hormonal de las SH contenidas en el extracto y su capacidad para estimular procesos fisiológicos, bioquímicos y nutricionales en diferentes condiciones ^(43,44). Además de los mecanismos hormonales, otros podrían estar involucrados, como los mecanismos nutricionales, con la mejora en la absorción y en la asimilación de nutrientes ^(7,44) y los mecanismos de defensa con la regulación de metabolitos secundarios y enzimas del sistema antioxidante que regulan el contenido de especies reactivas de oxígeno (EROs) ^(19,45).

Un incremento del contenido de proteína en las hojas (Tabla 4) se pone de manifiesto con la aspersión foliar de las diluciones del EHV, principalmente en aquellos tratamientos donde se utilizaron las concentraciones superiores del extracto y con bajo suministro de agua. De manera general se produjo un incremento del 26 % en el contenido de proteína, lo que evidencia un efecto beneficioso por parte de las diluciones del extracto de vermicompost en lechuga bajo condiciones de bajos suministros hídricos.

Tabla 4. Indicadores bioquímico-fisiológicos foliares en plantas de lechuga asperjadas con diluciones del extracto de vermicompost sometidas a diferentes suministros hídricos

Tratamientos	Contenido foliar de proteínas (mg g ⁻¹ MF)	Contenido relativo de clorofilas (SPAD)	Contenido de prolina (μmol g ⁻¹ de MF)
1	1,9941 c	7,5328	0,2713 c
2	2,6193 a	7,4933	0,4265 b
3	2,4059 a	7,4917	0,8379 a
4	2,3113 bc	7,4028	0,3995 b
5	2,1203 bc	6,7172	0,2866 c
6	2,4063 ab	7,0672	0,7609 a
7	2,4493 a	7,3083	0,4816 b
ESx	0,0630**	0,3047 NS	0,0219**

T1: 85 % de CM (Control), T2: 25 % de CM y aspersión del EHV 1:40, T3: 25 % de CM y aspersión del EHV 1:60, T4: 25 % de CM y aspersión del EHV 1:80, T5: 50 % de CM y aspersión del EHV 1:40, T6: 50 % de CM y aspersión del EHV 1:60, T7: 50 % de CM y aspersión del EHV 1:80

*Medias con letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey, p<0,05

Estos resultados son equivalentes a los encontrados por otros autores ^(35,36,43), donde la aplicación de SH aumentó el contenido de proteínas en plantas en condiciones de estrés abiótico. Dicho incremento podría estar relacionado con la activación y/o regulación de sistemas antioxidantes, particularmente enzimas que regulan

el contenido de especies reactivas de oxígeno EROs o podría estar conectado con la acción hormonal que ejercen las SH, promoviendo el crecimiento e incrementando el contenido de metabolitos como proteínas y aminoácidos ^(43,46).

El incremento en la actividad de enzimas del sistema antioxidante, así como el contenido de prolina y de pigmentos fotosintéticos ha sido observado con la aplicación foliar de sustancias húmicas bajo condiciones de estrés hídrico o de sequía ^(18,35). Se observaron incrementos en el contenido de proteínas inducido por las sustancias húmicas presentes en un extracto de vermicompost, el cual fue asperjado foliarmente en diferentes cultivos ^(8,9); dicho incremento en lechuga fue atribuido a la activación de diferentes enzimas relacionadas con la absorción y asimilación de nutrientes y la defensa de las plantas, observada también en frijol en condiciones de estrés por metales pesados ⁽¹⁸⁾.

En relación al contenido relativo de clorofila (Tabla 4) se observó que no se presentaron diferencias en cuanto a este indicador, a pocos días de la cosecha. Esto sugiere que el estatus nutricional de la planta, específicamente el contenido de nitrógeno y de clorofila foliar no fue modificado por la aplicación de riegos deficitarios al utilizar las diluciones del extracto de vermicompost, puesto que diversos autores han encontrado una correlación entre el contenido de clorofila foliar, el índice de clorofila en unidades SPAD y el contenido de nitrógeno total en diversas especies ⁽⁴⁷⁾.

Con la aplicación de AH a la solución nutritiva, se incrementó la actividad fotosintética en lechuga en condiciones normales de humedad ⁽⁴⁸⁾, debido a un aumento en el contenido de clorofila en unidades SPAD. Sin embargo, las plantas en condiciones de estrés no consiguieron superar a las plantas no estresadas en este indicador, observándose un comportamiento semejante en otros indicadores similar a lo observado en el presente trabajo.

El contenido de clorofila foliar mostró un comportamiento irregular con el empleo de SH, presentándose incrementos o decrecimientos de acuerdo con las condiciones empleadas, según un meta-análisis realizado sobre el uso sustancias húmicas, lo cual podría indicar que estos resultados varían en función de la fuente, extractor, concentración, especie vegetal y condiciones de cultivo al que se aplica las SH. Estas diferencias resultan en una variedad de efectos y respuestas por parte de las plantas con la aplicación de sustancias húmicas ⁽⁴³⁾, no pudiendo establecerse un efecto claramente estimulador sobre este indicador.

En relación al contenido de prolina (Tabla 4) se observó que la respuesta a la aplicación foliar de las diluciones del extracto de VC combinados con el déficit hídrico, fue el incremento significativo de este indicador, con excepción del tratamiento T5. Se destacan los tratamientos con la dilución 1:60 del EHV en ambas condiciones hídricas, resultados que difieren a los alcanzados en otras investigaciones ⁽³⁶⁾.

Se estudiaron los efectos de la aplicación de ABA y estrés hídrico en lechuga observando un incremento en el contenido de prolina tanto en plantas estresadas como no estresadas ⁽⁴⁹⁾. Según estos autores el incremento en el contenido de prolina de las plantas puede ser una adaptación para superar el estrés, ya que puede servir como un soluto compatible que ayuda a los tejidos a tolerar el estrés contribuyendo a que se incremente el

potencial osmótico y se mantenga la turgencia celular, proporcionando protección a las membranas y paredes celulares, el aumento en la eficiencia de la fotosíntesis y la eliminación de los radicales libres.

El aumento en el contenido de prolina observado en nuestro trabajo debido a la aplicación de diluciones del extracto independientemente de la condición de estrés pudiera explicarse debido al efecto mimético del ABA⁽³⁵⁾, que podrían estar ejerciendo las sustancias húmicas presentes en dicho extracto, lo que contribuye a mitigar el impacto adverso del estrés y mejorar el crecimiento, productividad y calidad de las plantas⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾.

Integralmente, el tratamiento con las diluciones de un extracto de vermicompost rico en sustancias húmicas en lechuga variedad Black Seeded Simpson con insuficiente régimen hídrico, presenta un efecto beneficioso en los indicadores evaluados. Cabe destacar que el tratamiento T6, con la aplicación foliar de la dilución 1:60 con un 50 % CM fue el que mostró los mejores resultados. Al analizar los resultados obtenidos en los indicadores bioquímicos-fisiológicos se puede concluir que fueron favorables, sin embargo estos resultados no resultan concluyentes para dar una explicación integradora, por lo cual se hace necesario examinar otros indicadores.

Los efectos “tipo hormona” de las SH se han empleado para justificar los efectos beneficiosos en el crecimiento y desarrollo de plantas, sin embargo se reconoce que son multifacéticos los mecanismos que están involucrados en la acción que estas sustancias ejercen, incluyendo vías de señalización que pueden ser, dependientes o no de hormonas como el ácido indolacético (AIA) o el ácido abscísico (ABA)^(46,48), esta última es la más relacionada con la respuesta anti estrés de las SH⁽¹⁹⁾. Un aumento en la concentración de hormonas como el ácido jasmónico en las raíces y de citoquininas en la parte aérea se ha observado en plantas tratadas tanto por vía foliar como radical, lo que se atribuye a la inducción de una respuesta superior contra agentes patógenos en pepino (*Cucumis sativus* L.)⁽⁵²⁾.

Los resultados obtenidos son compatibles con el hecho de que la acción beneficiosa de los ácidos húmicos aplicados vía foliar o radical, puede resultar en eventos bioquímicos y moleculares activados por el estrés moderado asociado a la aplicación de estas sustancias⁽⁵²⁾. La mayoría de estos trabajos son realizados con AH aislados, purificados y aplicados vía radical, por lo que serían necesarias nuevas investigaciones para dilucidar los eventos bioquímicos -fisiológicos relacionados con la acción benéfica que provoca la aplicación foliar del EHV en el desarrollo de las plantas, que contiene como fracción mayoritaria a las SH.

CONCLUSIONES

- El extracto húmico de vermicompost de estiércol vacuno (EHV), presenta propiedades químicas y físico-químicas que permiten su utilización con fines agronómicos.
- Se comprobó, a partir de los resultados obtenidos en los indicadores de productividad evaluados, que la aplicación foliar de diluciones del EHV promueve el crecimiento en condiciones de bajos suministros hídricos.

RECOMENDACIONES

- Realizar la caracterización de los extractos, específicamente el umbral de coagulación, el contenido de elementos minerales, contenido de grupos fenólicos y carboxílicos).
- Desarrollar el estudio en condiciones de organopónico o protegidas de este cultivo, ensayando además otras condiciones hídricas diferentes a las empleadas en este trabajo.
- Determinar otros indicadores bioquímicos-fisiológicos en el cultivo de la lechuga en condiciones de bajos suministros hídricos.

AGRADECIMIENTOS

Al programa de Maestría en Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). A los técnicos e investigadores de los Departamentos de Fisiología Vegetal y Biofertilizantes y Nutrición Vegetal (Laboratorio de Agroquímica) del INCA, por su contribución en la ejecución de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación F. Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. Informe resumido [Internet]. Departamento Económico y Social; 205AD. Available from: <https://www.fao.org/3/y3557s/y3557s.pdf>
2. Vila NA, Brea JAF, Cardoso L. Gestión del agua en la agricultura. Análisis de países con potencial de crecimiento. Agroalimentaria [Internet]. 2018;24(47):25–42. Available from: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/1992/199260579002/199260579002.pdf>
3. De Cuba PC. Actualización de los Lineamientos de la Política Económica y Social del Partido y la Revolución para el período 2016-2021. La Habana: Editora Política [Internet]. 2016; Available from: <https://www.granma.cu/file/pdf/gaceta/Lineamientos%202016-2021%20Versi%C3%B3n%20Final.pdf>
4. Ministerio de Economía y Planificación M. Tabloide Especial: Cuba y su desafío económico y social [Internet]. Portal Banco Central de Cuba. Available from: <https://www.bc.gob.cu/noticia/tabloide-especial-cuba-y-su-desafio-economico-y-social/862>
5. Rodríguez ABF, Peña DG, García MCN, Guevara DMM, Vázquez MCN, Rubio OEC, et al. Oligosacarinas como bioestimulantes para la agricultura cubana. Anales de la Academia de Ciencias de Cuba [Internet]. 2020;11(1):852. Available from: <http://revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/852>
6. Nardi S, Pizzeghello D, Schiavon M, Ertani A. Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. Scientia Agricola [Internet]. 2016;73:18–23. Available from: <https://www.scielo.br/j/sa/a/QD9SRnZXqBshWVcGQm6wXnM/abstract/?lang=en>

7. Van Oosten MJ, Pepe O, De Pascale S, Silletti S, Maggio A. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* [Internet]. 2017;4(1):1–12. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1186/s40538-017-0089-5>
8. Hernandez OL, Calderín A, Huelva R, Martínez-Balmori D, Guridi F, Aguiar NO, et al. Humic substances from vermicompost enhance urban lettuce production. *Agronomy for sustainable development*. 2015;35(1):225–32. doi:10.1007/s13593-014-0221-x
9. Balmori DM, Domínguez CYA, Carreras CR, Rebatos SM, Farías LBP, Izquierdo FG, et al. Foliar application of humic liquid extract from vermicompost improves garlic (*Allium sativum* L.) production and fruit quality. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture* [Internet]. 2019;8(1):103–12. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40093-019-0279-1>
10. Terry E, Diaz de Armas MM, Padrón JR, Tejeda T, Zea ME, Camacho-Ferre F. Effects of different bioactive products used as growth stimulators in lettuce crops (*Lactuca sativa* L.). *J. Food Agric. Environ* [Internet]. 2012;10(2):386–9. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Francisco-Camacho-Ferre/publication/259406216_Effects_of_different_bioactive_products_used_as_growth_stimulators_in_lettuce_crops_Lactuca_sativa_L/links/00b4952b82200228b8000000/Effects-of-different-bioactive-products-used-as-growth-stimulators-in-lettuce-crops-Lactuca-sativa-L.pdf
11. Hernández LM, Guridi F, Huelva R, Martínez D, Arteaga M. Efectos de un extracto de sustancias húmicas sobre indicadores de la productividad biológica y bioquímico-fisiológicos en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de las variedades Mariela y Mara. *UTCiencia" Ciencia y Tecnología al servicio del pueblo"* [Internet]. 2017;3(1):35–45. Available from: <http://investigacion.utc.edu.ec/revistasutc/index.php/utciencia/article/view/41>
12. Arteaga-Barrueta M, Garcés-Pérez N, Pino-Roque JA, Otaño-Corona L, Veubides-Amador H. Extract of vermicompost Liplant an alternative for the development of conservation agriculture. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* [Internet]. 2018;27(3). Available from: <https://www.redalyc.org/jatsRepo/932/93256706002/93256706002.pdf>
13. Veobides-Amador H, Guridi-Izquierdo F, Vázquez-Padrón V. Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. *Cultivos tropicales* [Internet]. 2018;39(4):102–9. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362018000400015&script=sci_arttext&tlng=pt
14. Kizil Ü, Genc L, Inalpulat M, Şapolyo D, Mirik M. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) yield prediction under water stress using artificial neural network (ANN) model and vegetation indices. *Žemdirbystė= Agriculture* [Internet]. 2012;99(4):409–18. Available from: http://www.zemdirbyste-agriculture.lt/wp-content/uploads/2013/02/99_4_tomas_str10.pdf

15. González RC. Evapotranspiración y coeficiente de cultivo de la lechuga (BSS-13) en condiciones de organopónico. *Revista Ingeniería Agrícola* [Internet]. 2017;5(2):10–5. Available from: <https://revistas.unah.edu.cu/index.php/IAgric/article/view/688>
16. García AC, Olaetxea M, Santos LA, Mora V, Baigorri R, Fuentes M, et al. Involvement of hormone-and ROS-signaling pathways in the beneficial action of humic substances on plants growing under normal and stressing conditions. *BioMed research international* [Internet]. 2016;2016. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/3747501/>
17. Aguiar NO, Medici LO, Olivares FL, Dobbss LB, Torres-Netto A, Silva SF, et al. Metabolic profile and antioxidant responses during drought stress recovery in sugarcane treated with humic acids and endophytic diazotrophic bacteria. *Annals of applied biology* [Internet]. 2016;168(2):203–13. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/aab.12256>
18. Portuondo-Farías L, Martínez-Balmori D, Guridi-Izquierdo F, Calderin-Garcia A, Machado-Torres JP. Structural and functional evaluation of humic acids in interaction with toxic metals in a cultivar of agricultural interest. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* [Internet]. 2017;26(3):39–46. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/932/93252908005.pdf>
19. Guridi-Izquierdo F, Calderín-García A, Louro-Berbara RL, Martínez-Balmori D, Rosquete-Bassó M. Los ácidos húmicos de vermicompost protegen a plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) contra un estrés hídrico posterior. *Cultivos Tropicales* [Internet]. 2017;38(2):53–60. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362017000200007
20. De Hita D, Fuentes M, García AC, Olaetxea M, Baigorri R, Zamarreño AM, et al. Humic substances: a valuable agronomic tool for improving crop adaptation to saline water irrigation. *Water Supply* [Internet]. 2019;19(6):1735–40. Available from: <https://iwaponline.com/ws/article/19/6/1735/66380/Humic-substances-a-valuable-agronomic-tool-for>
21. Canellas LP, Canellas NO, Irineu LES da S, Olivares FL, Piccolo A. Plant chemical priming by humic acids. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* [Internet]. 2020;7(1):1–17. Available from: <https://chembioagro.springeropen.com/articles/10.1186/s40538-020-00178-4>
22. Hernández O. Modificaciones al proceso de extracción de sustancias húmicas. Efectos biológicos. Tesis de Maestría.[Mayabeque, Cuba]: Universidad Agraria de la Habana; 2010.
23. Lukambani L. Prospección de microorganismos en extractos acuosos de sustancias húmicas y sus efectos en el cultivo del frijol *Phaseolus vulgaris*. Universidad Agraria de La Habana. 2015;52.
24. Walkley A, Black IA. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science* [Internet]. 1934;37(1):29–38. Available from: https://journals.lww.com/soilsci/citation/1934/01000/an_examination_of_the_degtjareff_method_for.3.aspx
25. International Humic Substances Society [WorldCat Identities] [Internet]. [cited 2021 Dec 14]. Available from: <http://www.worldcat.org/identities/lccn-n88620010/>

26. Paneque-Pérez VM. Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos [Internet]. Ediciones INCA; 2010. 157 p. Available from: <https://fertilizantesfertvit.wordpress.com/2018/09/14/manual-de-tecnicas-analiticas-para-analisis-de-suelo-foliar-abonos-organicos-y-fertilizantes-quimicos/>
27. Luna-Flores W, Estrada-Medina H, Jiménez-Osornio JJM, Pinzón-López LL. Efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plántulas de tres especies arbóreas caducifolias. *Terra Latinoamericana* [Internet]. 2012;30(4):343–53. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-57792012000400343&script=sci_arttext
28. Hernández-Jiménez A, Pérez-Jiménez JM, Bosch-Infante D, Speck NC. La clasificación de suelos de Cuba: énfasis en la versión de 2015. *Cultivos Tropicales* [Internet]. 2019;40(1). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362019000100015&script=sci_arttext&tlng=pt
29. Kang JH, KrishnaKumar S, Atulba SLS, Jeong BR, Hwang SJ. Light intensity and photoperiod influence the growth and development of hydroponically grown leaf lettuce in a closed-type plant factory system. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* [Internet]. 2013;54(6):501–9. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13580-013-0109-8.pdf>
30. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry* [Internet]. 1951;193:265–75. Available from: <https://developmentalbiology.wustl.edu/wp-content/uploads/2018/10/Lowry-1951-2fwrw0a.pdf>
31. Bates LS, Waldren RP, Teare ID. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil* [Internet]. 1973;39(1):205–7. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00018060>
32. Carral CDL, Vicente CDL. *Vademécum de Productos Fitoranitarios y Nutricionales 2015* [Internet]. Ediciones Agrotecnicas SI; 2015. 840 p. Available from: https://books.google.com.cu/books?id=Cmd9CgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gbg_e_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
33. García AC, Izquierdo FG, Berbara RLL. Effects of humic materials on plant metabolism and agricultural productivity. In: *Emerging technologies and Management of crop stress tolerance* [Internet]. Elsevier; 2014. p. 449–66. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128008768000187>
34. Caro I. Caracterización de algunos parámetros químico-físicos del humus líquido obtenido a partir del vermicompost de estiércol vacuno. Tesis de Maestría; 2004.
35. Hernández R, Robles C, Calderín A, Guridi F, Reynaldo IM, González D. Efectos anti estrés de ácidos húmicos de vermicompost en dos cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.). *Cultivos Tropicales* [Internet]. 2018;39(2):65–74. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0258-59362018000200009&script=sci_arttext&tlng=pt

36. Pérez JJR. Efecto de un bioestimulante natural como atenuante del estrés salino en variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). 2018; Available from: <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2183>
37. García AC, Santos LA, de Souza LGA, Tavares OCH, Zonta E, Gomes ETM, et al. Vermicompost humic acids modulate the accumulation and metabolism of ROS in rice plants. *Journal of Plant Physiology* [Internet]. 2016;192:56–63. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0176161716000158>
38. Olivares FL, Aguiar NO, Rosa RCC, Canellas LP. Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes. *Scientia Horticulturae* [Internet]. 2015;183:100–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423814006323>
39. Hartz TK, Bottoms TG. Humic substances generally ineffective in improving vegetable crop nutrient uptake or productivity. *HortScience* [Internet]. 2010;45(6):906–10. Available from: <https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/45/6/article-p906.xml>
40. Ruiz-Lozano JM, Aroca R, Zamarreño ÁM, Molina S, Andreo-Jiménez B, Porcel R, et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant, cell & environment* [Internet]. 2016;39(2):441–52. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/pce.12631>
41. Borcioni E, Mógor ÁF, Pinto F. Aplicação de ácido fúlvico em mudas influenciando o crescimento radicular e produtividade de alface americana. *Revista Ciência Agronômica* [Internet]. 2016;47:509–15. Available from: <https://www.scielo.br/j/rca/a/sFwwtctbVpkm7tdMc67LBPR/?lang=pt&format=html>
42. Rose MT, Patti AF, Little KR, Brown AL, Jackson WR, Cavagnaro TR. A meta-analysis and review of plant-growth response to humic substances: practical implications for agriculture. *Advances in agronomy* [Internet]. 2014;124:37–89. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128001387000024>
43. García A, Garcia-Mina J, Tavares O, Santos L, Berbara R. Substâncias húmicas e seus efeitos sobre a nutrição de plantas. In 2018. p. 227–77. Available from: https://www.researchgate.net/publication/340598076_Substancias_humicas_e_seus_efeitos_sobre_a_nutricao_de_plantas
44. Tavares OCH, Santos LA, Ferreira LM, Sperandio MVL, da Rocha JG, García AC, et al. Humic acid differentially improves nitrate kinetics under low-and high-affinity systems and alters the expression of plasma membrane H⁺-ATPases and nitrate transporters in rice. *Annals of Applied Biology* [Internet]. 2017;170(1):89–103. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/aab.12317>
45. Lotfi R, Gharavi-Kouchebagh P, Khoshvaghti H. Biochemical and physiological responses of *Brassica napus* plants to humic acid under water stress. *Russian Journal of Plant Physiology* [Internet]. 2015;62(4):480–6. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1134/S1021443715040123>

46. Olaetxea M, De Hita D, Garcia CA, Fuentes M, Baigorri R, Mora V, et al. Hypothetical framework integrating the main mechanisms involved in the promoting action of rhizospheric humic substances on plant root-and shoot-growth. *Applied Soil Ecology* [Internet]. 2018;123:521–37. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0929139317301865>
47. Mendoza-Tafolla RO, Juarez-Lopez P, Ontiveros-Capurata R-E, Sandoval-Villa M, Iran A-T, Alejo-Santiago G. Estimating nitrogen and chlorophyll status of romaine lettuce using SPAD and at LEAF readings. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* [Internet]. 2019;47(3):751–6. Available from: <https://www.notulaeobotanicae.ro/index.php/nbha/article/view/11525>
48. Haghighi M, Kafi M, Fang P. Photosynthetic activity and N metabolism of lettuce as affected by humic acid. *International Journal of Vegetable Science* [Internet]. 2012;18(2):182–9. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19315260.2011.605826>
49. Al Muhairi MA, Cheruth AJ, Kurup SS, Rabert GA, Al-Yafei MS. Effect of abscisic acid on biochemical constituents, enzymatic and non enzymatic antioxidant status of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under varied irrigation regimes. *Cogent Food & Agriculture* [Internet]. 2015;1(1):1080888. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311932.2015.1080888>
50. Dawood MG. Influence of osmoregulators on plant tolerance to water stress. *Sci Agric* [Internet]. 2016;13(1):42–58. Available from: https://web.archive.org/web/20180602203939id_/http://www.pscipub.com/Journals/Data/JList/Scientia%20Agriculae/2016/Volume%2013/Issue%201/8.pdf
51. Muzammil S, Shrestha A, Dadshani S, Pillen K, Siddique S, León J, et al. An ancestral allele of Pyrroline-5-carboxylate synthase1 promotes proline accumulation and drought adaptation in cultivated barley. *Plant physiology* [Internet]. 2018;178(2):771–82. Available from: <https://academic.oup.com/plphys/article/178/2/771/6116624?login=true>
52. De Hita D, Fuentes M, Fernández V, Zamarreño AM, Olaetxea M, García-Mina JM. Discriminating the short-term action of root and foliar application of humic acids on plant growth: Emerging role of Jasmonic acid. *Frontiers in plant science* [Internet]. 2020;11:493. Available from: <https://internal-journal.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.00493/full>