



LOS ÁCIDOS HÚMICOS DE VERMICOMPOST PROTEGEN A PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) CONTRA UN ESTRÉS HÍDRICO POSTERIOR

The humic acids from vermicompost protect rice (*Oryza sativa* L.) plants against a posterior hydric stress

Fernando Guridi Izquierdo^{1✉}, Andrés Calderín García², Ricardo L. Louro Berbara², Dariellys Martínez Balmori¹ y Mayelín Rosquete Bassó¹

ABSTRACT. The humic acids (HA) from two different vermicompost were extracted, isolated, purified and partially characterized, to evaluate their possible protection in rice (*Oryza sativa* L.) plants against an hydric stress. Differences in elemental composition, as the coagulation threshold value and E_4/E_6 relation in their UV-Vis spectra were found. Two concentrations (40 and 60 mg L⁻¹) of both HA were included in the nutritive solutions for rice plants in controlled conditions. It was verified that the previous treatment with the HA during six days stimulated the root biomass production. Later the HA were excluded and was an hydric deficit induced by adding polietilenglicol (PEG-6000) in the initially treated plants and in a group of those used as control. After 96 hours of this final condition the net radical biomass, the photosynthetic pigments content and the root membrane permeability were evaluated. In the plants previously treated with HA (at the concentration 60 mg HA L⁻¹), the root membrane permeability, the net radical biomass production and the “a” chlorophyll content had no differences when compared with those without stress. It was concluded that the previous treatment with the HA protected the rice plants against a posterior hydric stress that was induced.

RESUMEN. Los ácidos húmicos (AH) de dos diferentes vermicompost fueron extraídos, aislados, purificados y parcialmente caracterizados, para evaluar su posible efecto protector en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) ante un estrés hídrico. En los AH se encontraron diferencias en la composición elemental, en el valor del umbral de coagulación y en la relación E_4/E_6 de sus espectros UV-Vis. Dos concentraciones (40 y 60 mg L⁻¹) de ambos AH se incluyeron en disoluciones nutritivas para el cultivo de plantas de arroz en condiciones controladas. Se verificó que el tratamiento previo con los AH durante seis días, estimuló la producción de biomasa radical. Después se excluyeron los AH y tanto en las plántulas inicialmente tratadas, como en un grupo de las utilizadas como control, se indujo un déficit hídrico adicionando polietilenglicol (PEG-6000) en la disolución nutritiva. Luego de 96 horas de establecida esa condición final se evaluaron la producción neta de biomasa radical, el contenido de pigmentos fotosintéticos foliares y la permeabilidad de la membrana de las raíces. En las plantas previamente tratadas con AH (a la concentración de 60 mg AH L⁻¹), la permeabilidad de la membrana de las raíces, la producción neta de biomasa en este órgano, así como el contenido de clorofila “a” no manifestaron diferencias al compararlas con aquellas sin estrés. Se concluye que el tratamiento previo con los AH consiguió proteger a las plantas de arroz ante el estrés hídrico posterior que se indujo.

Key words: radical biomass, permeability, photosynthetic pigments, biological productivity

Palabras claves: biomasa radical, permeabilidad, pigmentos fotosintéticos, productividad biológica

INTRODUCCIÓN

Las sustancias húmicas constituyen la fracción donde es retenido mayoritariamente el carbono de la materia orgánica del suelo e intervienen en múltiples propiedades del sistema suelo-planta (1).

¹ Universidad Agraria de La Habana (UNAH). Autopista Nacional km 23 ½ y Carretera de Tapaste. San José de las Lajas. Mayabeque. Cuba

² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). BR 465 km 7. CEP 23890-000, Seropédica, RJ. Brasil

✉ fguridi@unah.edu.cu

Actualmente no se cuenta con una explicación integral que pueda justificar la posible relación entre la estructura de estas sustancias y los efectos directos que provocan en las plantas (2).

El compostaje y el vermicompostaje son procedimientos ampliamente utilizados en la obtención de materia orgánica renovable, para ser aplicada como mejoradora de las condiciones de los suelos degradados por la actividad agrícola y también representan fuentes muy útiles para la extracción de sustancias húmicas solubles. Además se ha verificado (3) que el sólido residual insoluble que se obtiene, después de la extracción de las sustancias húmicas solubles que contenía un vermicompost, presenta una considerable capacidad para retener cationes de metales pesados en medio acuoso.

Las características estructurales y las propiedades de las sustancias húmicas solubles que se obtienen de materiales compostados o vermicompostados, dependen de la fuente orgánica original, de las condiciones empleadas para su procesamiento (principalmente la temperatura, el tiempo y el agente biológico transformador), así como del procedimiento utilizado en la extracción (4–7).

Algunas investigaciones recientes están dirigiéndose al estudio de la influencia que las sustancias húmicas solubles (especialmente los ácidos húmicos) tienen en el estímulo para la adaptación de las plantas frente a estreses abióticos como la salinidad (8–11), la presencia de metales pesados en niveles tóxicos (12) y las deficiencias hídricas (13–15), siempre utilizándolas simultáneamente o después de la implantación del estrés, así como en la estimulación del crecimiento y el desarrollo en diferentes cultivos, para lo cual se han empleado distintas alternativas de aplicación (16–18).

El cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) exige un óptimo manejo del agua dados los considerables volúmenes que se consumen de este recurso, que puede no estar disponible siempre en las cantidades necesarias. Por ello es importante realizar estudios que permitan disponer de alternativas para atenuar los efectos desfavorables de las limitaciones de agua.

No existen suficientes informes en la literatura, referidos a la durabilidad del efecto protector que pudieran ejercer los ácidos húmicos ante el estrés hídrico cuando estos ya no se encuentran en el medio de cultivo.

En función de lo anterior el objetivo principal de esta investigación fue: evaluar los efectos de la aplicación previa de ácidos húmicos (AH) obtenidos de dos vermicompost diferentes, en la productividad biológica de plantas de arroz, así como su acción protectora al inducir un estrés hídrico posterior.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para dar cumplimiento al objetivo previsto se llevaron a cabo las actividades que se describen a continuación, que fueron ejecutadas en el Departamento de Suelos del Instituto de Agronomía de la Universidad Federal Rural de Río de Janeiro, Brasil, entre los meses de septiembre a noviembre de 2014.

EXTRACCIÓN, AISLAMIENTO, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN PARCIAL DE LOS AH

Los procedimientos para la extracción, aislamiento, purificación y caracterización parcial de los AH fueron ejecutados en el laboratorio de materia orgánica del Instituto de Agronomía de la Universidad Federal Rural de Río de Janeiro.

Como fuentes de los ácidos húmicos se utilizaron los vermicompost siguientes:

- ♦ Vermicompost de estiércol bovino procesado por lombrices rojas africanas (*Eudrilus eugeniae* spp.), en pilas sobre el suelo, de acuerdo a los procedimientos fijados por el Manual Técnico para organopónicos de 2007, con un tiempo de maduración de 70 días. El estiércol fue suministrado por las vaquerías de la Finca “El Guayabal” (municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba) con coordenadas 22° 59' 55,95" Latitud Norte y 82° 10' 10,27" Longitud Oeste.
- ♦ Vermicompost de estiércol bovino, procesado por lombrices rojas californianas (*Eisenia andrei Bouché*) en canaletas con un tiempo de maduración entre 45 y 50 días. El vermicompost fue producido en la Finca “Fazendinha” de la EMBRAPA (municipio Seropédica, Estado de Río de Janeiro, Brasil) con coordenadas 22° 45' 42,51" Latitud Sur y 43° 40' 31,85" Longitud Oeste.

En ambos vermicompost fueron extraídos, aislados y purificados los AH de acuerdo a lo establecido por la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas^A. Básicamente el procedimiento consiste en la utilización de una disolución de extracción de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 mol L⁻¹ en atmósfera de dinitrógeno; seguido de centrifugación para separar la fracción insoluble y aislamiento de los AH del medio acuoso alcalino por coagulación mediante acidificación hasta pH < 2 con una disolución de ácido clorhídrico (HCl) 6 mol L⁻¹. La recuperación de lo coagulado se logró por centrifugación y posteriormente se aplicaron lavados con agua destilada hasta ausencia de iones cloruros. La purificación se efectuó redisolviendo los AH obtenidos y se llevó a cabo la coagulación, la centrifugación y los lavados como se describió. Finalmente los AH se liofilizaron.

^A IHSS. *International Humic Substances Society* [en línea]., [Consultado: 2 de marzo de 2017], Disponible en: <<http://www.humicsubstances.org/>>.

De aquí en adelante los AH obtenidos del vermicompost de Cuba se identificaron por AHC y los provenientes del vermicompost de Brasil como AHB.

Para la caracterización parcial de los AH se determinó en ambos la composición elemental, utilizando un aparato CHN Analyser 2400 Perkin Elmer (Inglaterra). Se calculó en cada uno la relación E_4/E_6 (relación entre las absorbancias a las longitudes de onda de 465 y 665 nm) en el espectro UV-Vis de una disolución de 3 mg del AH en 10 mL de hidrógenocarbonato de sodio (NaHCO_3) 0,05 mol L⁻¹ de pH = 8, empleando un Espectrofotómetro Shimadzu UV-1800 (Japón) y se les determinó el umbral de coagulación mezclando un mismo volumen de disoluciones de 150 mg L⁻¹ de los AH a pH = 6 con igual volumen de 15 concentraciones diferentes (desde 1,25 mmol L⁻¹ hasta 18,75 mmol L⁻¹) de cloruro de calcio (CaCl_2) de calidad P.A., seguido de 24 horas de reposo para detectar visualmente la menor concentración del CaCl_2 que provocó la coagulación.

OBTENCIÓN DE LAS PLÁNTULAS DE ARROZ Y TRATAMIENTOS CON AHC Y AHB

Se utilizaron semillas certificadas del cultivar "Piauí", previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2 % por 10 minutos y después lavadas con suficiente agua destilada, que se colocaron para germinar en contacto con una disolución de CaCl_2 (calidad P.A.) de concentración 0,5 mmol L⁻¹, manteniéndose en las condiciones de la cámara de crecimiento del Departamento de Suelos de la Universidad Federal Rural de Río de Janeiro, que fueron las siguientes: ciclo de luminosidad 12 horas de luz y 12 de oscuridad; flujo fotónico de 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; humedad relativa de 70 %; temperatura diurna 28 °C y nocturna de 24 °C.

Después de la germinación se seleccionó un conjunto homogéneo de semillas germinadas con la misma longitud de la radícula (2 cm). En potes plásticos de 200 mL de capacidad, se añadió disolución de Hoagland (19) con $\frac{1}{4}$ de la fuerza iónica y se cubrieron con gasa estéril, sobre la cual se colocaron seis de las semillas escogidas en cada uno. A los tres días de adaptación a las condiciones experimentales de hidroponía y de la cámara de crecimiento, se cambió la disolución nutritiva por una con $\frac{1}{2}$ de la fuerza iónica, manteniéndolas por otras 72 horas, al cabo de las cuales se realizó la aplicación de los tratamientos con los AH (seis potes por tratamiento) al renovar el medio de cultivo, que se mantuvo con igual composición. En otros seis potes no se incluyeron los AH para tomarlos como referencia (control).

Esas últimas condiciones permanecieron idénticas durante seis días, con un recambio de los tratamientos en el tercero.

Los tratamientos aplicados en esta etapa del estudio se resumen en la Tabla I.

Tabla I. Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Simbología	AHB mg L ⁻¹	AHC mg L ⁻¹
1	T	-	-
2	AHB 40	40	-
3	AHB 60	60	-
4	AHC 40	-	40
5	AHC 60	-	60

AHB = AH de vermicompost de Brasil AHC = AH de vermicompost de Cuba

Al concluir la etapa anterior (tratamiento previo con los AH) se retiraron dos plántulas de cada pote, conformando tres grupos (réplicas) de cuatro plántulas por tratamiento, para determinar la masa seca, tanto de la parte aérea como de las raíces, mediante desecación en estufa con circulación de aire (Venticell-707, China) a 60 °C hasta masa constante (balanza Sartorius, precisión $\pm 0,0001$ g, Alemania), con el objetivo de calcular la relación entre ambas.

APLICACIÓN DEL ESTRÉS HÍDRICO

Después del período descrito se indujo un estrés hídrico durante 96 horas, incluyendo polietilenglicol (PEG-6000) al 15 % en las disoluciones nutritivas, excepto en la mitad de los potes de las plántulas donde no fueron aplicados los AH (control).

Para esta nueva etapa del estudio los tratamientos empleados (tres potes para cada tratamiento) aparecen resumidos en la Tabla II.

Tabla II. Tratamientos (simbología y descripción) empleados en la etapa de inducción del estrés hídrico

Simbología	Descripción
T E	Plantas no tratadas con AH con estrés hídrico
T S E	Plantas no tratadas con AH sin estrés hídrico
AHC40 E	Plantas tratadas antes con AHC 40 mg L ⁻¹ con estrés hídrico
AHC60 E	Plantas tratadas antes con AHC 60 mg L ⁻¹ con estrés hídrico
AHB40 E	Plantas tratadas antes con AHB 40 mg L ⁻¹ con estrés hídrico
AHB60 E	Plantas tratadas antes con AHB 60 mg L ⁻¹ con estrés hídrico

Al finalizar el período de estrés hídrico inducido se utilizaron dos plantas de cada pote para evaluar la permeabilidad de la membrana de las raíces, mediante medición de la conductividad eléctrica cada cinco minutos, después de ser lavadas con agua destilada y colocadas en 100 mL de agua ultrapura (mili-Q) con agitación permanente. Las lecturas fueron hechas con un pHmetro-conductímetro OrionStar A329 (Inglaterra).

En las cuatro plantas restantes de cada pote se determinaron las masas secas radicales y de la parte aérea y se cuantificó el contenido de pigmentos fotosintéticos foliares mediante una extracción con acetona al 80 % (20).

Todos los resultados obtenidos en las evaluaciones ejecutadas en las plantas en las dos etapas del experimento con un diseño completamente aleatorizado, fueron sometidas a análisis de varianza de clasificación simple y las medias se compararon con el test de Tukey para $p < 0,05$ (21), utilizando el programa estadístico Statgraphic versión 5.1 (22).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto a la caracterización parcial de AHC y AHB los resultados obtenidos con respecto a sus respectivas composiciones elementales aparecen en la Tabla III.

Tabla III. Porcentajes de Carbono (C), Hidrógeno (H), Nitrógeno (N) y Oxígeno (O) en los AH obtenidos de los vermicompost y las relaciones entre el carbono y los otros elementos (medias de tres repeticiones)

Ácido húmico	C %	H %	N %	O %	C/H	C/N	C/O
AHB	44,42	5,48	4,22	55,98	8,11	10,53	0,79
AHC	48,58	5,65	4,38	51,39	8,60	11,09	0,94

Según lo anterior, ambos AH poseen una composición que se encuentra dentro de los rangos encontrados para ese tipo de sustancia húmica extraída de materiales compostados o vermicompostados (23) y las presentes en los suelos (24).

Se apreció que las principales diferencias entre AHC y AHB estuvieron en los contenidos de C y de O, probablemente debido a las condiciones de obtención de los respectivos vermicompost (6). De lo anterior se infirió que el segundo es ligeramente más hidrofílico, teniendo en cuenta que en estas sustancias el oxígeno se encuentra mayoritariamente como hidroxilos (- OH) de grupos carboxílicos y fenólicos, los cuales poseen una elevada afinidad por el agua, por el establecimiento de puentes de hidrógeno (4). En función de esto último debe esperarse que el umbral de coagulación de AHB sea superior al de AHC, ya que se consumiría una mayor concentración de electrolitos para vencer la interacción con las moléculas de agua.

El cálculo de la relación E_4/E_6 así como la determinación del umbral de coagulación de los AH obtenidos se expone en la Tabla IV.

Tabla IV. Relación E_4/E_6 y umbral de coagulación (mmol de Ca^{2+} g⁻¹ de AH) de los ácidos húmicos (medias de tres repeticiones)

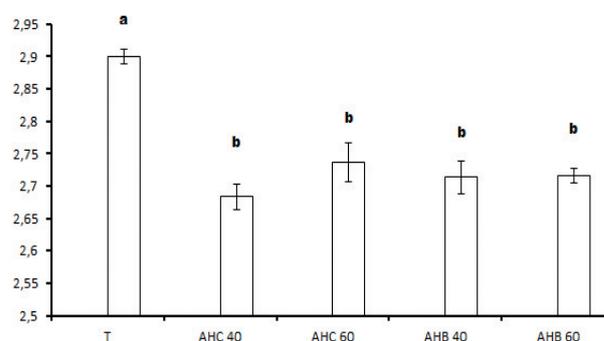
Ácido húmico	Relación E_4/E_6	Umbral de coagulación
AHC	5,52	120
AHB	5,93	133

Los resultados para esta relación, tanto para AHC como para AHB, se encuentran dentro del intervalo general (entre 4 y 6) de los AH extraídos de diferentes fuentes naturales y cuyo valor depende de la masa molar, del tamaño molecular, así como del grado de condensación y de aromaticidad de la estructura (4). Esos valores indican que en AHC existe una mayor condensación estructural cuando se compara con AHB (23) y confirman la superior hidrofiliidad de estos últimos, debido al contenido de oxígeno formando parte de grupos ionizables, en correspondencia con la composición elemental encontrada.

También es válido considerar lo informado por otros autores trabajando con el catión Cu^{2+} como coagulante de distintos AH a $pH=5$ (25), quienes plantearon que cuanto menor era el grado de aromaticidad (equivalente a un mayor valor de la relación E_4/E_6) se obtuvieron valores de umbral de coagulación superiores.

En la literatura científica está reconocida que la actividad biológica de los AH depende tanto de la estructura como de la composición elemental de estas sustancias (5, 23, 26), por lo cual las diferencias encontradas hasta aquí entre AHC y AHB pueden inducir efectos distintos en su interacción directa con las plantas.

La evaluación de la relación entre la masa seca de la parte aérea y la radical en las plántulas al final del tratamiento previo con los ácidos húmicos, se representa en la Figura 1.



Medias de tres repeticiones. Error estándar del ANOVA = 0,032². Letras distintas representan diferencias estadísticas significativa según Tukey para $p < 0,05$. Las barras de intervalos en las columnas representan la desviación estándar de las medias

Figura 1. Relación entre las masas seca de la parte aérea y de las raíces (Rel PA/R) en las plántulas al final del tratamiento previo con los ácidos húmicos

Los resultados evidenciaron que todos los tratamientos previos, que incluyeron a los ácidos húmicos, en cualquiera de las concentraciones empleadas, provocaron una disminución de la Rel PA/R en comparación con el control (tratamiento T). Esto concuerda con la reconocida estimulación que estas sustancias húmicas ejercen directamente sobre el desarrollo del sistema radical en diversos cultivos en los primeros estadios de crecimiento (27, 28).

Un mejor desarrollo del sistema radical contribuye a un aprovechamiento más eficiente del medio edáfico circundante, confiriéndole a la planta potencialidades de adaptabilidad a condiciones adversas, como limitaciones en la disponibilidad de agua o de elementos nutricionales esenciales, y ante situaciones de estrés metálico u oxidativo (29).

No se detectó diferencia estadística significativa entre los dos AH ni entre sus concentraciones, de lo cual se deriva que lo encontrado en la composición elemental no provocó variaciones en el efecto de los AH.

La determinación de los pigmentos fotosintéticos después del período de estrés hídrico inducido aparece en la Tabla V.

Tabla V. Contenidos de los pigmentos fotosintéticos foliares (g kg⁻¹ de masa seca foliar)

Tratamientos	Clo a	Clo b	Carot	Clo T
T E	3,01 (d)	1,71 (ab)	0,65 (b)	4,71 (c)
T SE	3,61 (c)	1,64 (b)	0,74 (a)	5,25 (b)
AHC40 E	3,45 (c)	1,78 (ab)	0,51 (c)	5,22 (b)
AHC60 E	3,75 (b)	1,65 (ab)	0,76 (a)	5,40 (b)
AHB40 E	3,56 (c)	1,25 (c)	0,60 (b)	4,81 (c)
AHB60 E	3,90 (a)	1,90 (a)	0,78 (a)	5,80 (a)
E.E.	0,042*	0,085*	0,030*	0,11*

Clorofila "a" (Clo a), clorofila "b" (Clo b), clorofilas totales (Clo T), carotenoides totales (Carot), después de 96 horas de inducido el estrés hídrico. (medias de tres repeticiones)

E.E.=error estándar del ANOVA. Con asteriscos se indica el nivel de significación. Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas según Tukey (p<0,05)

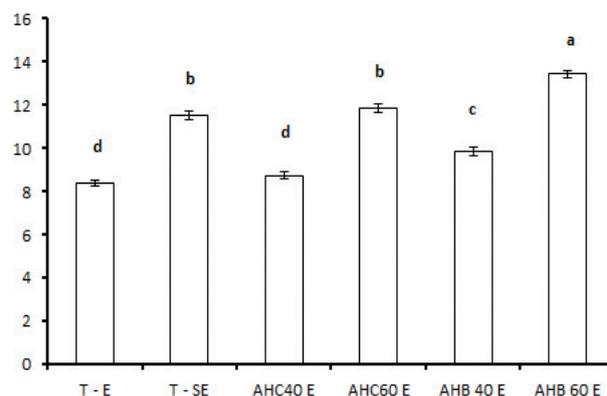
En cuanto a los contenidos individuales de los pigmentos fotosintéticos evaluados, resaltó la disminución que provocó el estrés en la "Clo a", la cual fue atenuada por los tratamientos previos con ambos ácidos húmicos en las dos concentraciones, alcanzando valores equivalentes y hasta superiores a los de las plántulas (T SE) que no estuvieron sometidas al déficit hídrico inducido. También se observó que las plántulas tratadas previamente con las mayores concentraciones (60 mg L⁻¹) tanto de AHC como de AHB, mantuvieron o hasta superaron a las del T SE en los contenidos de todos los pigmentos.

El efecto del estrés hídrico sobre los pigmentos fotosintéticos ha sido indicado como uno de los más generalizado en diversos cultivos, según lo señalado por estudios sobre la fotosíntesis en diversas plantas bajo condiciones de estrés (27).

Los resultados confirman lo que recoge la literatura en cuanto a que las sustancias húmicas tienen la posibilidad de influir directamente en el metabolismo de las plantas (2, 7, 26, 29), debido a la verificada actividad equivalente a las fitohormonas que poseen, así como al efecto estimulador de enzimas relacionadas con la fijación del dióxido de carbono. Además se ha demostrado que también pueden inducir modificaciones anatómicas (incrementos del área foliar y radical) que repercuten en mayor eficiencia fotosintética.

El hecho de que la aplicación de los AH haya atenuado el efecto del estrés hídrico en cuanto a la dotación de pigmentos fotosintéticos, debe tener repercusión en la eficiencia fotosintética en esas plantas y consecuentemente en la producción de biomasa.

La producción neta de masa seca radical (diferencia de las masas secas antes y después del estrés) en el período de inducción del estrés, se representan en la Figura 2.



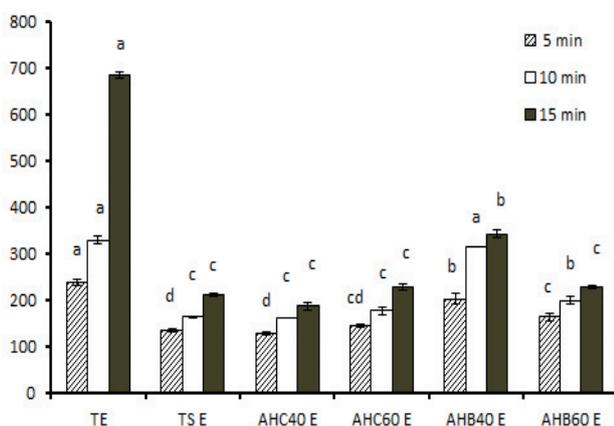
Medias de tres repeticiones. Error estándar = 0,147*. Letras distintas representan diferencias estadísticas significativas según Tukey para p<0,05. Las barras en las columnas representan la desviación estándar de las medias

Figura 2. Producción neta de masa seca radical durante el período de inducción del estrés hídrico (96 horas) en mg/planta

Se evidenció que las plantas que tuvieron los tratamientos previos con las mayores concentraciones de AHC y de AHB, consiguieron al menos igualar la producción de masa seca radical que se registró en aquellas que no fueron sometidas al estrés hídrico. En las plantas puestas en contacto anteriormente con la concentración de 40 mg L⁻¹ de AHB hubo una respuesta favorable en comparación con las plántulas estresadas, pero sin conseguir la producción generada en las que no se expusieron al estrés.

Si se asocian los resultados en cuanto al contenido de los pigmentos al final del estrés hídrico inducido, con la producción neta de masa seca radical en ese período, es destacable que aquellas plantas tratadas previamente con AH (con lo que se consiguió mantener una adecuada composición de pigmentos), estuvieron en mejores condiciones para que la fotosíntesis aconteciera sin afectaciones significativas, que impidieran generar los metabolitos necesarios para garantizar la producción de biomasa.

Las mediciones de la conductividad eléctrica en el agua pura en contacto con las raíces íntegras en diferentes intervalos de tiempo, para la evaluación de la permeabilidad de la membrana se presentan en la Figura 3.



Medias de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas según test de Tukey para $p < 0,05$ para cada intervalo. (Los E.E. fueron 6,81*, 5,92* y 6,65* para el ANOVA realizado a los 5, 10 y 15 minutos respectivamente. Las barras en las columnas representan la desviación estándar de las medias)

Figura 3. Conductividad eléctrica en el medio (mS g^{-1} de masa seca radical) en diferentes intervalos de tiempo después de 96 horas de establecido el estrés hídrico

En general quedó demostrado la durabilidad del efecto protector de la aplicación previa de los AH sobre la permeabilidad de las membranas de las raíces. En el caso de las plantas provenientes de las dos concentraciones de AHC, los valores no tuvieron diferencias con las de las no estresadas (T SE) y muy inferiores a las de TE, en todas las evaluaciones a lo largo del tiempo. Esto significa que con dicho tratamiento fue preservada la permeabilidad de la membrana aun después de 96 horas de estrés.

En el caso de las plantas tratadas con AHB se consiguió un valor semejante al tratamiento T SE para la concentración de 60 mg L^{-1} en la última evaluación, aunque siempre fueron inferiores a las registradas en las plántulas estresada que no tuvieron contacto previo con AH (tratamiento T E).

En las plantas del tratamiento AHB 40 E no se igualó en ningún momento la conductividad a las de T SE y solamente fueron inferiores a las de T E en el momento inicial y el final.

Lo encontrado en esta determinación confirma lo que han señalado otros autores en cuanto a que los efectos directos de los AH sobre la respuesta fisiológica de las plantas, dependen tanto de la concentración como de sus características estructurales (26, 28) y que lo hacen interfiriendo en diversos mecanismos fisiológicos (29, 30).

En relación con las características estructurales de los AH se puso de manifiesto que la composición elemental es una información insuficiente para explicar las diferencias en cuanto a su actividad biológica, por lo que se requiere una profundización mayor en este aspecto, como por ejemplo la distribución de tamaños moleculares y de grupos funcionales del carbono.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados anteriores es posible plantear la siguiente conclusión general:

Los ácidos húmicos aislados de dos vermicompost obtenidos en condiciones distintas, manifestaron diferencias en las características estructurales y las propiedades evaluadas, pero en ambos casos, especialmente a la concentración de 60 mg L^{-1} , ejercieron un efecto protector previo en plantas de arroz, que posteriormente fueron expuestas a un déficit hídrico por 96 horas, no estando ya presentes en el medio. Dicha protección se verificó en la producción neta de biomasa radical, los pigmentos fotosintéticos y la permeabilidad de la membrana de las raíces.

RECOMENDACIONES

Evaluar la posibilidad de emplear un extracto de las sustancias húmicas solubles contenidas en el vermicompost (sin aislar los ácidos húmicos) como un procedimiento práctico en el cultivo del arroz para lograr un uso más eficiente del recurso agua.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CAPES por la aprobación del proyecto CAPES-MES 215/13, del EDITAL Nº 46/2013.

BIBLIOGRAFÍA

1. Santos, G. de A. *Fundamentos da matéria orgânica do solo. Ecossistemas tropicais & subtropicais*. 2.ª ed., Ed. Metrópole, 2008, Porto Alegre, 636 p., ISBN 978-89-85401-73-9.

2. Canellas, L. P. y Olivares, F. L. "Physiological responses to humic substances as plant growth promoter". *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, vol. 1, no. 1, 2014, p. 3, ISSN 2196-5641, DOI 10.1186/2196-5641-1-3.
3. García, A. C.; Izquierdo, F. G.; Sobrinho, N. M. B. de A.; Castro, R. N.; Santos, L. A.; Souza, L. G. A. de y Berbara, R. L. L. "Humified insoluble solid for efficient decontamination of nickel and lead in industrial effluents". *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 1, no. 4, 2013, pp. 916-924, ISSN 2213-3437, DOI 10.1016/j.jece.2013.08.001.
4. Canellas, L. P.; Zandonadi, D. B.; Busato, J. G.; Baldotto, M. A.; Simões, M. L.; Martin-Neto, L.; Façanha, A. R.; Spaccini, R. y Piccolo, A. "Bioactivity and chemical characteristics of humic acids from tropical soils sequence". *Soil Science*, vol. 173, no. 9, 2008, pp. 624-637, ISSN 0038-075X, DOI 10.1097/SS.0b013e3181847ebf.
5. Dobbss, L. B.; Pasqualoto, L.; Lopes, F.; Oliveira, N.; Peres, L. E. P.; Azevedo, M.; Spaccini, R.; Piccolo, A. y Façanha, A. R. "Bioactivity of Chemically Transformed Humic Matter from Vermicompost on Plant Root Growth". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 58, no. 6, 2010, pp. 3681-3688, ISSN 0021-8561, DOI 10.1021/jf904385c.
6. Palanivell, P.; Susilawati, K.; Ahmed, O. H. y Muhamad, A. M. N. "Effects of extraction period on yield of rice straw compost humic acids". *African Journal of Biotechnology*, vol. 11, no. 20, 2012, pp. 4530-4536, ISSN 1684-5315.
7. Huelva, R.; Martínez, D.; Calderín, A.; Hernández, O. L. y Guridi, F. "Propiedades químicas y química-físicas de derivados estructurales de ácidos húmicos obtenidos de vermicompost. Actividad biológica". *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, vol. 22, no. 2, 2013, pp. 56-60, ISSN 2071-0054.
8. Aydin, A.; Kant, C. y Turan, M. "Humic acid application alleviate salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage". *African Journal of Agricultural Research*, vol. 7, no. 7, 2012, pp. 1073-1086, ISSN 1991-637X, DOI 10.5897/AJAR10.274.
9. Martínez, D.; Huelva, R.; Portuondo, L. y Guridis, F. "Evaluación del efecto protector de las Sustancias Húmicas Líquidas en plantas de maíz cultivar P-2928 en condiciones de salinidad". *Centro Agrícola*, vol. 39, no. 1, 2012, pp. 29-32, ISSN 0253-5785.
10. Mohamed, W. H. "Effects of Humic Acid and Calcium Forms on Dry Weight and Nutrient Uptake of Maize Plant under Saline Condition". *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, vol. 6, no. 8, 2012, pp. 597-604, ISSN 1991-8178.
11. Ouni, Y.; Ghnaya, T.; Montemurro, F.; Abdelly, C. y Lakhdar, A. "The role of humic substances in mitigating the harmful effects of soil salinity and improve plant productivity". *International Journal of Plant Production*, vol. 8, no. 3, 2014, pp. 353-374, ISSN 1735-6814, DOI 10.22069/ijpp.2014.1614.
12. Farouk, S.; Mosa, A. A.; Taha, A. A.; Ibrahim, H. M. y El-gahmery, A. M. "Protective Effect of humic acid and chitosan on radish (*Raphanus sativus*, L. var. Sativus) plants subjected to cadmium stress". *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, vol. 7, no. 2, 2011, pp. 99-116, ISSN 1997-0838.
13. Hernández, R.; García, A.; Portuondo, L.; Muñiz, S.; Berbara, R. y Izquierdo, F. "Protección antioxidativa de los ácidos húmicos extraídos de vermicompost en arroz (*Oryza sativa* L.) var. IACuba30". *Revista de Protección Vegetal*, vol. 27, no. 2, 2012, pp. 102-110, ISSN 1010-2752.
14. Imanparast, F.; Tobeh, A. y Gholipouri, A. "Potassium humate effect on the drought stress in wheat". *International Journal of Agronomy and Plant Production*, vol. 4, no. 1, 2013, pp. 98-103, ISSN 2051-1914.
15. Calderín, A.; Santos, L. A.; Guridi, F.; Rumjanek, V. M.; Castro, R. N.; dos Santos, F. S.; de Souza, L. G. A. y Berbara, R. L. L. "Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa* L.)". *Journal of Geochemical Exploration*, vol. 136, 2014, pp. 48-54, ISSN 0375-6742, DOI 10.1016/j.gexplo.2013.10.005.
16. Denre, M.; Ghanti, S. y Sarkar, K. "Effect of humic acid application on accumulation of mineral nutrition and pungency in garlic (*Allium sativum* L.)". *International Journal of Biotechnology and Molecular Biology Research*, vol. 5, no. 2, 2014, pp. 7-12, ISSN 2141-2154, DOI 10.5897/IJBMBR2014.0186.
17. Fahramand, M.; Moradi, H.; Noori, M.; Sobhkhizi, A.; Adibian, M.; Abdollahi, S. y Rigi, K. "Influence of humic acid on increase yield of plants and soil properties". *International Journal of Farming and Allied Sciences*, vol. 3, no. 3, 2014, pp. 339-341, ISSN 2322-4134.
18. Olivares, F. L.; Aguiar, N. O.; Rosa, R. C. C. y Canellas, L. P. "Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes". *Scientia Horticulturae*, vol. 183, 2015, pp. 100-108, ISSN 0304-4238, DOI 10.1016/j.scienta.2014.11.012.
19. Hoagland, D. R. y Arnon, D. I. "The water-culture method for growing plants without soil". *Circular. California Agricultural Experiment Station*, vol. 347, no. 2, 1950, pp. 23-32.
20. Lichtenthaler, H. K. "Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes" [en línea]. En: *Methods in Enzymology*, Ed. Elsevier, 1987, pp. 350-382, ISBN 978-0-12-182048-0, DOI 10.1016/0076-6879(87)48036-1, [Consultado: 6 de marzo de 2017], Disponible en: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0076687987480361>>.
21. Tukey, J. W. "Bias and confidence in not quite large samples". *The Annals of Mathematical Statistics*, vol. 29, no. 2, junio de 1958, pp. 614-623, ISSN 0003-4851, DOI 10.1214/aoms/1177706647.
22. Statistical Graphics Crop. *STATGRAPHICS® Plus* [en línea]. (ser. Profesional), versión 5.1, [Windows], 2000, Disponible en: <<http://www.statgraphics.com/statgraphics/statgraphics.nsf/pd/pdpricing>>.
23. Canellas, L. P.; Piccolo, A.; Dobbss, L. B.; Spaccini, R.; Olivares, F. L.; Zandonadi, D. B. y Façanha, A. R. "Chemical composition and bioactivity properties of size-fractions separated from a vermicompost humic acid". *Chemosphere*, vol. 78, no. 4, 2010, pp. 457-466, ISSN 0045-6535, DOI 10.1016/j.chemosphere.2009.10.018.

24. Ahamadou, B.; Huang, Q.; Yaping, L. y Iqbal, J. "Composition and structure of humic substances in long-term fertilization experimental soils of southern China". *Journal of Soil Science and Environmental Management*, vol. 4, no. 4, 2013, pp. 77-86, ISSN 2141-2391, DOI 10.5897/JSSEM2013.0407.
25. Boguta, P. y Sokolowska, Z. "Influence of copper (II) ions on stability of dissolved humic acids - coagulation studies". *Acta Agrophysica*, vol. 20, no. 2, 2013, pp. 253-267, ISSN 1234-4125.
26. Zandonadi, D. B.; Santos, M. P.; Busato, J. G.; Peres, L. E. P. y Façanha, A. R. "Plant physiology as affected by humified organic matter". *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, vol. 25, no. 1, 2013, pp. 13-25, ISSN 2197-0025, DOI 10.1590/S2197-00252013000100003.
27. Ashraf, M. y Harris, P. J. C. "Photosynthesis under stressful environments: An overview". *Photosynthetica*, vol. 51, no. 2, 2013, pp. 163-190, ISSN 0300-3604, 1573-9058, DOI 10.1007/s11099-013-0021-6.
28. Manda, M.; Dumitru, M. G. y Nicu, C. "Effects of humic acid and grape seed extract on growth and development of *Spathiphyllum wallisii* Regel". *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment*, vol. 5, no. 2, 2014, pp. 125-136, ISSN 2067-9874, 2068-7958.
29. Berbara, R. L. L. y García, A. C. "Humic Substances and Plant Defense Metabolism" [en línea]. En: eds. Ahmad P. y Wani M. R., *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment*, Ed. Springer New York, 2014, pp. 297-319, ISBN 978-1-4614-8590-2, DOI 10.1007/978-1-4614-8591-9_11, [Consultado: 6 de marzo de 2017], Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-8591-9_11>.
30. Calderín, G. A.; Santos, L. A.; Guridi, I. F.; Sperandio, M. V. L.; Castro, R. N. y Berbara, R. L. L. "Vermicompost humic acids as an ecological pathway to protect rice plant against oxidative stress". *Ecological Engineering*, vol. 47, 2012, pp. 203-208, ISSN 0925-8574, DOI 10.1016/j.ecoleng.2012.06.011.

Recibido: 11 de mayo de 2016

Aceptado: 7 de noviembre de 2016