

Especies de cítricos asociadas al agroecosistema cafetalero, como fuente potencial de bioestimulantes húmicos

Citrus species associated with the coffee agroecosystem, as a potential source of humic biostimulants

Autores:

Lic. Lázaro M. Cotilla-Pelier, <https://orcid.org/0000-0003-1922-8753>

Lic. Arlei Abreu-Romero, <https://orcid.org/0000-0002-0489-5943>

Téc. Lissette Labadie-Pérez, <http://orcid.org/0000-0003-4006-8977>

Tec. Noralvis Díaz-Maresma, <https://orcid.org/0009-0002-6052-0326>

E-mail: lazaro@cdm.gtmo.inf.cu, katy@cdm.gtmo.inf.cu, arlei@cdm.gtmo.inf.cu,
sofia@cdm.gtmo.inf.cu

Fecha de recibido: 20 ene. 2025

Fecha de aprobado: 10 mar. 2025

Resumen

Se obtuvieron fracciones de sustancias húmicas, a partir de residuos de tres especies de cítricos utilizadas como árboles de sombra, en agroecosistemas cafetaleros del municipio El Salvador, Guantánamo. Se partió de una mezcla de residuos de los frutos compuesta por albedos y material de desecho de la pulpa. Los materiales se trituraron y se sometieron a un proceso de fermentación (compostaje) durante 90 días, mediante una técnica de aireación pasiva con volteos periódicos. A partir de los composts obtenidos, se extrajeron las sustancias húmicas mediante un proceso de extracción secuencial con soluciones de hidróxido de sodio, pirofosfato de sodio y fluoruro de sodio. Se determinaron los contenidos de carbono, nitrógeno, la relación carbono nitrógeno y el contenido total de grupos funcionales. Los resultados mostraron que las fracciones obtenidas, poseen potencialidades para su utilización como bioestimulantes del crecimiento vegetal, como se evidencia por el contenido de grupos funcionales de los mismos.

Palabras clave: Sustancias húmicas, Fermentación, Cítricos

Abstract

Humic fractions were obtained from residues of three citrus species used as shade trees in coffee-growing agroecosystems in the municipality of El Salvador, Guantánamo. The starting material was a mixture of fruit residues composed of albedos and pulp waste material. The materials were ground and subjected to a solid-state fermentation process for 90 days, using a passive aeration technique with periodic turning. Humic substances were extracted from the resulting composts through a sequential extraction process with solutions of sodium hydroxide, sodium pyrophosphate, and sodium fluoride. Carbon and nitrogen contents, the carbon-nitrogen ratio, and the total content of functional groups were determined. The results showed that the fractions obtained have potential for use as biostimulants for plant growth, as evidenced by their functional group content.

Keywords: Humic substances, Fermentation, Citrus

Introducción

El cultivo del café, para su máximo rendimiento puede necesitar entre 1600 y 1800 horas de luz solar anuales, lo que representa entre 4.5 y 5 horas de sol al día. Es por ello, que, en dependencia de la ubicación geográfica, la altitud y las características climatológicas propias de la región en la que se ubique el cultivo, este requerirá o no de árboles que le proporcionen cierta cantidad de sombrero (Reyes *et al.*, 2022).

Es importante tener en cuenta que el exceso de luz solar directa puede elevar la temperatura de las hojas por encima de la temperatura ambiental, lo que puede causar deshidratación en la planta. Además; los árboles regulan condiciones ambientales como la humedad relativa y mantienen estable la temperatura ante variaciones drásticas de la misma (López, 2021).

Las especies utilizadas como sombra pueden ser de interés económico por su valor alimentario, artesanal, medicinal, etcétera. Otras, pueden ser fuentes potenciales de sustancias bioactivas de interés para la salud humana y animal, o para la agricultura. En este último caso, pueden llegar a constituir un elemento importante para la sostenibilidad del agroecosistema cafetalero, y contribuir de manera significativa a la resiliencia del mismo.

Entre los productos que se han empleado para combatir los efectos de estreses y elevar los rendimientos de las plantas, se encuentran los productos bioestimulantes (Van Oosten *et al.*, 2017). Estas sustancias y materiales, cuando se aplican a las plantas o medios de cultivo, han demostrado potencial para modificar la fisiología de las plantas, promover su crecimiento y mejorar su respuesta al estrés.

Las sustancias húmicas tienen impacto directo en la fisiología de la planta. Por efectos directos se entiende que no están mediadas por características del suelo o disponibilidad de nutrientes, pero involucran la regulación de la actividad celular, cambios metabólicos, alteran la expresión de genes y tienen acción hormonal (du Jardin, 2015).

Sobre la base de lo anteriormente expuesto, el presente trabajo tuvo como objetivo obtener y caracterizar fracciones de sustancias húmicas, a partir de residuos de tres especies de cítricos utilizadas como árboles de sombra, en agroecosistemas cafetaleros del municipio El Salvador, Guantánamo.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en agroecosistemas cafetaleros pertenecientes a productores asociados a la CCS "Luis A. Carbó", en la localidad de Limonar de Monte Ruz, municipio El Salvador, Guantánamo. Para la investigación se seleccionaron tres especies de cítricos utilizadas comúnmente como especies sombreadoras Tabla 1.

Tabla 1. Especies de cítricos seleccionadas para la obtención de las sustancias húmicas.

Nombre Científico	Nombre(s) vulgar(es)
<i>Citrus aurantium</i>	Naranja agria, Naranja amarga
<i>Citrus paradisi</i>	Toronja
<i>Citrus maxima</i>	Cidra, Limonsón, Toronja china

Para la obtención de las fracciones húmicas se partió, en todos los casos, de una mezcla de residuos de los frutos, compuesta por albedos (corteza intermedia de los frutos) y material de desecho de la pulpa.

Fermentación: los materiales se trituraron y se sometieron a un proceso de fermentación en estado sólido (compostaje) durante 90 días, mediante una técnica de aireación pasiva con volteos periódicos. El proceso se repitió periódicamente hasta obtener los composts maduros para la extracción de las sustancias húmicas.

Extracción de sustancias húmicas: se utilizaron soluciones extrayentes de hidróxido de sodio (NaOH) 0.5N, pirofosfato de sodio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) 0.1N y fluoruro de sodio (NaF) 0.1N, utilizándose el método propuesto por Kononova *et al.* (1966), secuenciando cada una de las soluciones. La primera extracción se realizó con hidróxido de sodio 0.5N utilizándose 2g de compost seco, molido y tamizado por tamiz de 1mm. Se agregaron 40mL de solución extrayente y se agitó durante 24 horas en zaranda orbital. Posteriormente se centrifugó a 3000rpm por 20 minutos y se decantó la mezcla conservándose el sobrenadante. La segunda y la tercera extracción se realizaron, agregando 50mL de solución de pirofosfato de sodio 0.1N y 50 mL de solución de fluoruro de sodio 0.1N respectivamente al sedimento restante y procediéndose, en cada caso, como en el primer paso. Las tres muestras sobrenadantes se mezclaron y se acidificaron hasta pH=2 con ácido clorhídrico, la mezcla se dejó reposar

durante 24 horas y se centrifugó a 3000rpm durante 10 minutos. Luego se separaron los ácidos húmicos (sedimento) de los ácidos fúlvicos (sobrenadante), se secó al aire y se pesó determinándose los rendimientos según:

$$R = \frac{Mah}{Mc} \cdot 100$$

Mc

Donde:

R= rendimiento en ácidos húmicos (%).

Mah= masa de ácidos húmicos (g).

Mc= masa inicial del fermentado húmico (compost) (g).

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado

Análisis estadístico: los datos obtenidos durante las determinaciones se sometieron a Análisis de Varianza de clasificación simple, siendo la causa de variación la materia prima (compost) utilizada para la extracción de las sustancias húmicas. Para la estimación de la significación de las diferencias se utilizó la prueba de Rangos Múltiples de Duncan, con un nivel de significación de $p < 0.05$.

Caracterización química de los ácidos húmicos: consistió en la determinación de los contenidos de carbono, nitrógeno, la relación carbono nitrógeno y el contenido total de grupos funcionales (grupos carboxílicos, OH fenólicos y grupos carbonilos totales).

El contenido de carbono se determinó por el método de Walkley y Black (combustión húmeda) descrito por Paneque *et al.* (2002) y el de nitrógeno total se determinó por el método de Kjeldahl. El contenido total de grupos funcionales (grupos carboxílicos, OH fenólicos y grupos carbonilos totales) y la acidez total se determinaron según el método descrito por Huelva *et al.* (2013).

Análisis estadístico: los resultados de las determinaciones de los contenidos de carbono, nitrógeno y grupos funcionales, se sometieron a análisis de varianza de clasificación simple, siendo la causa de variación la materia prima (compost) utilizada para la extracción de las sustancias húmicas. Las comparaciones de medias se realizaron según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Resultados y discusión

Obtención de ácidos húmicos puros

El rendimiento en ácidos húmicos obtenidos por extracción secuencial con soluciones de hidróxido de sodio (NaOH) 0.5N, pirofosfato de sodio (Na₄P₂O₇) 0.1N y fluoruro de sodio (NaF) 0.1N, fue significativamente superior cuando se utilizó el fermentado sólido (compost) obtenido de residuos de *C. máxima*, con respecto al rendimiento obtenido al utilizar los residuos de las restantes especies. Estas últimas, por su parte, no mostraron diferencia entre sí (tabla 2).

Tabla 2. Porcentajes de ácidos húmicos extraídos a partir de los fermentados sólidos (composts) obtenidos de residuos de *C. aurantium*, *C. paradisi* y *C. maxima**.

Materia Prima	AH extraídos (%)
Residuos de <i>C. aurantium</i>	16.9b
Residuos de <i>C. paradisi</i>	17.1b
Residuos de <i>C. maxima</i>	19.6a
Es x	±0.32

*Valores con letras diferentes difieren significativamente según Duncan para $p < 0.05$

Las diferencias en los rendimientos de ácidos húmicos pueden estar dadas por factores como el grado de humificación y la composición de los materiales orgánicos originales; así, aquellos ricos en lignina, por ejemplo, suelen generar mayor cantidad de sustancias húmicas (Veovides, Guridi, & Vázquez, 2018).

Los ácidos húmicos del compost de residuos de *C. maxima* presentaron un contenido de carbono significativamente superior al de los ácidos húmicos del compost procedente de las otras especies y dentro del intervalo de 53.8%–58.7% señalado por Steelink (1983) para ácidos orgánicos. Este alto contenido de carbono puede estar relacionado con la naturaleza y grado de humificación del compost en cuestión.

Por otra parte, el contenido de nitrógeno fue significativamente superior en esta misma especie, en tanto que las restantes no difirieron entre sí y, en todos los casos la concentración estuvo dentro del intervalo 0.8% - 4.3% señalado por el autor antes mencionado (tabla 3).

Tabla 3. Composición elemental y grupos funcionales de los ácidos húmicos obtenidos de los fermentados sólidos (composts) de residuos de *C. aurantium*, *C. paradisi* y *C. maxima**.

Materia Prima	C (%)	N (%)	Relación C/N	Acidez total (cmol.kg⁻¹)	Carboxilos (cmol.kg⁻¹)	OH fenólicos (cmol.kg⁻¹)	Carbonilos (cmol.kg⁻¹)
R. de <i>C. aurantium</i>	55.3b	3.49b	15.90	382a	150b	226a	481a
R. de <i>C. paradisi</i>	54.8b	3.43b	15.97	379a	148b	229a	472a
R. de <i>C. maxima</i>	72.7a	4.01a	18.12	300b	178a	122b	173b

*Medias con letras diferentes difieren significativamente según prueba de Tukey para $p < 0.05$.

La relación C/N en el humus transformado indica la actividad biológica global de la materia orgánica humificada. La relación C/N fue ligeramente mayor para los ácidos húmicos extraídos a partir del compost elaborado de residuos de *C. maxima*, lo que indica que el contenido de nitrógeno es proporcionalmente bajo con relación al de carbono y, por tanto, la capacidad mineralizadora también lo es. Un incremento en la relación C/N conlleva un decrecimiento de la susceptibilidad del sustrato a la mineralización, por lo que es posible que estos ácidos estén más expuestos a procesos de humificación.

La acidez total (o capacidad de intercambio de las sustancias húmicas), aunque significativamente más elevada en los ácidos húmicos procedentes de residuos de *C. aurantium* y *C. paradisi*, estuvo, en todos los casos, en el rango establecido de 150 a 382 cmol.kg^{-1} (Rodríguez *et al.*, 2009). No obstante, debe señalarse que Stevenson (1994), encontró valores de 560 cmol.kg^{-1} – 890 cmol.kg^{-1} . La acidez se debe principalmente, a la presencia de hidrógenos ionizables en grupos carboxílicos aromáticos y alifáticos y en grupos OH fenólicos (Schnitzer, 2000).

El contenido de grupos carboxilos resultó significativamente superior en los ácidos húmicos obtenidos de residuos de *C. maxima*, mientras que los contenidos de grupos OH fenólicos y carbonilos fueron superiores en los ácidos húmicos obtenidos de los residuos de *C. aurantium* y *C. paradisi*. Esto sugiere que la mayor acidez total en las sustancias húmicas extraídas del compost de residuos de *C. aurantium* y *C. paradisi*, puede deberse más a la contribución de hidrógenos ionizables presentes en los grupos OH fenólicos, que a los presentes en grupos

carboxilos, puesto que el contenido de estos últimos fue superior en los ácidos húmicos obtenidos a partir de residuos de *C. maxima*.

Puesto que la reactividad de las sustancias húmicas se debe en gran medida a su alto contenido de grupos funcionales y que un mayor contenido de grupos carboxílicos posiblemente está relacionado a un mayor grado de oxidación (Scaglia *et al.*, 2016), es probable que el material más rápidamente transformado a ácido húmico haya sido el residuo de *C. maxima*.

Así, los valores obtenidos en la determinación del contenido de grupos funcionales, indican que los ácidos húmicos elaborados a partir de los residuos de las tres especies de cítricos estudiadas, poseen potencialidades para su utilización en calidad de bioestimulantes del crecimiento vegetal.

La bioestimulación por sustancias húmicas sobre el crecimiento de las plantas está bien documentada. La variación en la respuesta depende de la especie vegetal y de su estado de desarrollo, la cantidad aplicada y forma de aplicación de las sustancias húmicas, el tipo de suelo y el estado nutricional del cultivo y las condiciones del entorno como la irradiancia y la temperatura (Veovides, Guridi, & Vázquez, 2018).

Los efectos indirectos de las sustancias húmicas en las plantas incluyen el mejoramiento de las características químicas, físico-químicas y biológicas del suelo, a través de aumento en la retención de agua y nutrientes, influencia en la diversidad de microorganismos benéficos y la formación de complejos con iones, principalmente micronutrientes como el hierro (Fe) y el zinc (Zn). La mayoría de los autores coinciden en aceptar estos efectos como contribuyentes a la fertilidad del suelo y los mecanismos de la acción bioestimulante indirecta dilucidados y ampliamente aceptados.

En resumen, los efectos de sustancias húmicas sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, señalan la influencia positiva sobre el transporte de iones facilitando la absorción, la acción directa sobre procesos metabólicos tales como: respiración, fotosíntesis y síntesis de proteínas, mediante el aumento o disminución de la actividad de diversas enzimas, el contenido de metabolitos y la actividad tipo hormonal de estas sustancias

Conclusiones

Los concentrados de sustancias húmicas obtenidos a partir de residuos compostados de las tres especies de cítricos (*C. aurantium*, *C. paradisi* y *C. maxima*), poseen potencialidades para su utilización en calidad de bioestimulantes del crecimiento vegetal, como se evidencia por el contenido de grupos funcionales de los mismos.

Bibliografía

- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14.
- Huelva, R., Martínez, D., Calderín, A., Hernández, O.L. & Guridi, F. (2013). Propiedades químicas y química-físicas de derivados estructurales de ácidos húmicos obtenidos de vermicompost. Actividad biológica. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 22, 56–60.
- López, F.A. (2021). Estructura y funciones de especies arbóreas en sistemas de café con sombra en cuatro fincas del norte de Nicaragua. Tesis para optar al título de Ingeniero Forestal, Facultad de Recursos Naturales y del Ambiente, Universidad Nacional Agraria, Nicaragua.
- Paneque, V.M., Calderón, Maida, Calaño, J.M., Caruncho, M., Hernández, Y. & Borges, Yenía. (2002). Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos. Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas. INCA.
- Reyes, J., Rodríguez, J.A., Pimienta, D.J., Fuentes, M.A., Marroquín, P., Merino, A. & Aguirre, J.F. (2022). Diversidad y estructura de los árboles de sombra asociados a *Coffea arabica* L. en el Soconusco, Chiapas. *Rev. Mex. de Cienc. Forestales*, 13, 4-26.
- Rodríguez, María D., Venegas., Angoa, María V. & Montañez, J.L. 2009. Extracción secuencial y caracterización fisicoquímica de ácidos húmicos de diferentes composts y su efecto sobre el cultivo del trigo. *Bioagro*, 21, 457-476.
- Scaglia, Barbara, Rachide, R., Oliveira, Maria O., Tambone, Fulvia & Adani, F. (2016). Investigating organic molecules responsible of auxin-like activity of humic acid fraction extracted from vermicompost. *Science of the Total Environment*, 562, 289–295.

- Schnitzer, M. (2000). A lifetime perspective on the chemistry of soil organic matter. *Advances in Agronomy*, 68,1-58.
- Steelink. (1983). Elemental characteristics of humic substances. *In*: Aiken, McKnight, Wershaw and McCarthy. (eds.). Humic substances in soils, sediments and water. Wiley. N.Y. pp. 457-476.
- Stevenson, F.J. (1994). Humus Chemistry. Genesis, Composition and Reactions. Wiley. N.Y.
- Van Oosten, M.J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S. & Maggio, A. (2017). The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*,4,1-12.
- Veovides, Helen, Guridi, F.& Vázquez, V. (2018). Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. *Cultivos Tropicales*, 4, 102-109.