

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISIÓN DE INGENIERÍA



Efecto de ácidos fúlvicos de dos orígenes, en la dinámica de
crecimiento de plántula de tomate
(*Lycopersicon esculentum* Mill.)

por:

JUAN JERÓNIMO GUTIÉRREZ JACAL

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

JUNIO DEL 2001

Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro

Efecto de ácidos fúlvicos de dos orígenes, en la dinámica de
crecimiento de plántula de tomate
(*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Por:

JUAN JERÓNIMO GUTIÉRREZ JACAL

Que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el Título de:

INGENIERO AGRÍCOLA Y AMBIENTAL

APROBADA

El Presidente del Jurado

M.C. RUBEN LÓPEZ CERVANTES

Sinodal

Sinodal

Dr. ALFONSO REYES LÓPEZ
CERVANTES

Dr. EDMUNDO PEÑA

Coordinador de la División de Ingeniería

M.C. JESÚS VALENZUELA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Junio del 2001

DEDICATORIA

Resulta difícil mencionar a todas aquellas personas que han formado parte en esta etapa de mi vida, la cual se sintetiza en este documento.

A todas ellas dedico este trabajo, en especial a quienes no puedo dejar de mencionar "mis padres".

AGRADECIMIENTOS

AL M.C. RUBEN LOPEZ CERVANTE, por el apoyo y consejo recibido durante la elaboración de este trabajo.

AL Dr. ALFONSO REYES LOPEZ, por su participación en el desarrollo de este trabajo.

AL Dr. EDMUNDO PEÑA CERVANTES, por las sugerencias realizadas, en mejora de este trabajo.

A MI UNIVERSIDAD.

INDICE DE CONTENIDO

	<i>Página</i>
INDICE DE CUADROS	VI
INDICE DE FIGURAS..... VII	
RESUMEN..... VIII	
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA.....	4
Las sustancias Húmicas.....	4
Propiedades De Las Sustancias Húmicas.....	10
Efecto de Sustancias Húmicas en el Crecimiento Vegetal.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS	23
RESULTADOS.....	26
DISCUSIÓN.....	68
CONCLUSIONES.....	71

ÍNDICE DE CUADROS

	<i>Página</i>
Cuadro 1. Propiedades químicas de las sustancias húmicas (Stevenson 1982).	12
Cuadro 2. Relación de tratamientos utilizados para el primer experimento.	24
Cuadro 3. Relación de tratamientos empleados en el segundo experimento.	25
Cuadro 4. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos en la longitud del tallo. Primer muestreo.	28
Cuadro 5. Análisis de varianza para el efecto dosis en longitud de tallo. Primer muestreo.	28
Cuadro 6. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos en la longitud de raíz. Primer muestreo.	31
Cuadro 7. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de raíz. Primer muestreo.	31
Cuadro 8. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre el área foliar. Primer muestreo.	34
Cuadro 9. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre el área foliar. Primer muestreo.	34
Cuadro 10. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre la longitud de tallo. Segundo muestreo.	37
Cuadro 11. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de tallo. Segundo muestreo.	37
Cuadro 12. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre la longitud de raíz. Segundo muestreo.	40

Cuadro 13.	Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de raíz. Segundo muestreo.	40
------------	--	-------	----

VI

			<i>Página</i>
Cuadro 14.	Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre el área foliar. Segundo muestreo.	43
Cuadro 15.	Análisis de varianza para el efecto dosis sobre el área foliar. Segundo muestreo.	43
Cuadro 16.	Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre longitud de tallo. Tercer muestreo.	46
Cuadro 17.	Análisis de varianza para el efecto dosis sobre longitud de tallo. Tercer muestreo.	46
Cuadro 18.	Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre longitud de raíz. Tercer muestreo.	49
Cuadro 19.	Análisis de varianza para el efecto dosis sobre longitud de raíz. Tercer muestreo.	49
Cuadro 20.	Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre el área foliar. Tercer muestreo.	52
Cuadro 21.	Análisis de varianza para el efecto dosis sobre el área foliar. Tercer muestreo.	52
Cuadro 22.	Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre la longitud de raíz. Primer muestreo.	55
Cuadro 23.	Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de raíz. Primer muestreo.	55
Cuadro 24.	Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre la longitud de tallo. Segundo muestreo.	58
Cuadro 25.	Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de tallo. Segundo muestreo.	58
Cuadro 26.	Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre la longitud de raíz. Segundo muestreo.	61
Cuadro 27.	Análisis de varianza para el efecto dosis		

sobre la longitud de raíz. Segundo muestreo. 61

VI

	<i>Página</i>
Cuadro 28. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre la longitud de tallo. Tercer muestreo.	64
Cuadro 29. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de tallo. Tercer muestreo.	64
Cuadro 30. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre la longitud de raíz. Tercer muestreo.	67
Cuadro 31. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de raíz. Tercer muestreo.	67

VI

ÍNDICE DE FIGURAS

		<i>Página</i>
Figura 1.	Modelo Estructural de Ácidos Húmicos (Stevenson 1982).	
14		
Figura 2.	Modelo Estructural de Ácidos Fúlvicos por Buffle	
15		
Figura 3.	Modelo de Ácido Fúlvicos (Schnitzer, 1985).	
15		
Figura 4.	Efectos principales para longitud de tallo, primer experimento.	
26		
Figura 5.	Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fúlvicos, primer experimento.	
27		
Figura 6.	Prueba de medias para longitud de tallo con dosis, primer experimento.	
27		
Figura 7 .	Efectos principales para longitud de raíz, primer experimento.	
29		
Figura 8.	Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, primer experimento.	
30		
Figura 9.	Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, primer experimento.	
30		

	Figura 10. Efectos principales para área foliar, primer experimento.
32		
	Figura 11. Prueba de medias para área foliar con ácidos fúlvicos, primer experimento
33		
	Figura 12. Prueba de medias para área foliar con dosis, primer experimento.
33		
	Figura 13. Efectos principales para longitud de tallo, primer experimento.
35		
	Figura 14. Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fúlvicos, primer experimento.
36		

VII

Página

	Figura 15. Prueba de medias para longitud de tallo con dosis, primer experimento.
36		
	Figura 16. Efectos principales para longitud de raíz, primer experimento.
38		
	Figura 17. Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, primer experimento.
39		
	Figura 18. Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, primer experimento.
39		
	Figura 19. Efectos principales para área foliar, primer experimento.
41		
	Figura 20. Prueba de medias para área foliar	

42	con ácidos fúlvicos, primer experimento.
Figura 21.	Prueba de medias para área foliar con dosis, primer experimento.
42		
Figura 22.	Efectos principales para longitud de tallo, primer experimento.
44		
Figura 23.	Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fúlvicos, primer experimento.
45		
Figura 24.	Prueba de medias para longitud de tallo con dosis, primer experimento.
45		
Figura 25.	Efectos principales para longitud de raíz, primer experimento.
47		
Figura 26.	Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, primer experimento.
48		
Figura 27.	Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, primer experimento.
48		
Figura 28.	Efectos principales para área foliar, primer experimento.
50		

VII

		Página
Figura 29.	Prueba de medias para área foliar con ácidos fúlvicos, primer experimento.
51		
Figura 30.	Prueba de medias para área foliar con dosis, primer experimento.
51		
Figura 31.	Efectos principales para longitud de raíz,	

53	segundo experimento.	
	Figura 32. Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, segundo experimento.	
54			
	Figura 33. Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, segundo experimento.	
54			
	Figura 34. Efectos principales para longitud de tallo, segundo experimento.	
56			
	Figura 35. Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fúlvicos, segundo experimento.	57
	Figura 36. Prueba de medias para longitud de tallo con dosis, segundo experimento.	57
	Figura 37. Efectos principales para longitud de raíz, segundo experimento.	
59			
	Figura 38. Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, segundo experimento.	
60			
	Figura 39. Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, segundo experimento.	
60			
	Figura 40. Efectos principales para longitud de tallo, segundo experimento.	
62			
	Figura 41. Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fúlvicos, segundo experimento.	
63			
	Figura 42. Prueba de medias para longitud de tallo con dosis, segundo experimento.	
63			

Página

Figura 43.	Efectos principales para longitud de raíz, segundo experimento.
65		
Figura 44.	Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, segundo experimento.
66		
Figura 45.	Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, segundo experimento.
66		

VII

RESUMEN

Siendo el cultivo de tomate la hortaliza de mayor importancia económica en México, resulta de vital importancia la producción de plántula de calidad con mínimos costos de producción y reducción de tiempo bajo condiciones de invernadero. Para lograr este objetivo es necesario el estudio de las reacciones fisiológicas de respuesta a la aplicación de ácidos fúlvicos .

Esta investigación se desarrollo en dos etapas, la primera consistió en el establecimiento de 18 tratamientos basado en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2 con tres colectas de material vegetativo. La segunda se efectúo a partir de los cuatro tratamientos mas significativos, con igual arreglo factorial.

Queda demostrado en este trabajo que las sustancias fúlvicas biológicas y de leonardita, favorecen el crecimiento de plántula de tomate en distinta manera para cada una de las variables estudiadas. En general la aplicación de dosis bajas favorece el proceso de crecimiento; el efecto de los ácidos fúlvicos biológicos extraídos de composta se observaron superiores a los provenientes de leonardita para la variable longitud de tallo; en longitud de raíz los ácidos fúlvicos de leonardita resultaron estadísticamente significativos.

VIII

INTRODUCCIÓN

La producción de hortalizas en nuestro país es una de las actividades agrícolas con mayor futuro en el ámbito comercial. Una de estas hortalizas es el jitomate o tomate siendo esta la de mayor importancia económica, con una producción en el año 1997 de 190867 toneladas. De esta se tienen niveles de exportación cercanos a las 628 mil toneladas, permitiéndole a nuestro país ocupar el tercer lugar en exportaciones en el ámbito mundial.

Alcanzar estos niveles de producción a requerido de la adopción de tecnologías generadas en otras latitudes, utilizando para ello paquetes tecnológicos que incluyen: semillas mejoradas, la optimización en el uso del agua, fertilizantes y agroquímicos, la aplicación de la plasticultura, producción bajo invernadero y producción hidropónica.

La obtención de plántula de calidad bajo invernadero resulta ser una eficaz forma para minimizar los factores adversos del medio ambiente. Dentro de este sistema de producción la utilización de métodos hidropónicos representa la necesidad de aplicar principios tecnológicos específicos, distintos a los requeridos en el manejo convencional de invernaderos, como es la utilización de sustratos, y soluciones nutritivas.

El empleo de soluciones nutritivas en investigación constituye el único método adecuado para el estudio de la captación de iones por la raíz y demás procesos fisiológicos relacionados con la nutrición vegetal. Dentro de estas investigaciones se han empleado sustancias húmicas, derivado del efecto de estas sobre el suelo y su fertilidad, entre otros.

Las sustancias húmicas son materiales orgánicos presentes en medios acuáticos y terrestres. Ellas juegan un papel preponderante en procesos geoquímicos, especialmente en el ciclo del carbono de la tierra y la transportación de metales y otros compuestos orgánicos e inorgánicos (Shinozuka y Hayano, 1987). Están involucrados en una gran variedad de procesos químicos del suelo e influyen directa e indirectamente en el crecimiento de las plantas (Gerasimowicz y Byler, 1985).

Bajo ciertas condiciones las sustancias húmicas estimulan el crecimiento vegetal interviniendo directamente en mecanismos como la formación de raíces adventicias, en la síntesis de proteínas, la división celular, entre otras, e indirectamente en la disponibilidad de iones y su translocación dentro de las plantas.

Por lo anterior el objetivo del presente estudio es:

Determinar el efecto de los ácidos fúlvicos de dos orígenes sobre la dinámica de crecimiento en plántula de tomate.

Hipótesis:

Los ácidos fúlvicos biológicos y de leonardita afectan positivamente el crecimiento en plántula de tomate.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Las Sustancias Húmicas

El término materia orgánica del suelo (MOS), se refiere a la suma de todas las sustancias orgánicas que contienen carbón. Químicamente y físicamente, consiste de una mezcla de residuos de plantas y animales en varios estados de descomposición, sustancias sintetizadas microbiológicas y/o químicamente, de productos desmenuzados, de cuerpos vivos y muertos de microorganismos y pequeños animales que permanecen descompuestos (Schnitzer y Khan, 1972 y 1978; Schnitzer y Schulten, 1995 y Schnitzer, 2000).

Las sustancias orgánicas componentes de la materia orgánica son: los carbohidratos, los cuales representan del 50% al 70% del peso de los vegetales (Holtzclaw y Sposito, 1979; Preston y Blackwell, 1985) y del 10 al 20% del total de la materia orgánica del suelo (Baes y Bloom, 1989), las proteínas, los lípidos, la celulosa y la lignina (Aleksandrova, 1988; Dormaar, 1972), estas son denominadas no húmicas (Christensen, 1986; Piccolo y Mbagwu, 1990).

Toda materia orgánica experimenta biodegradación, la cual es la conversión de sus compuestos no húmicos a moléculas cada vez más estables, en función de varias condiciones del medio ambiente, propias a la actividad microbiana

responsable del proceso (Baes y Bloom, 1989), y de la naturaleza de los compuestos del sustrato orgánico.

La descomposición de la materia orgánica depende de su naturaleza física y química, ya que los microorganismos por hidrólisis enzimática, usa a las proteínas como suministro de nitrógeno, a los carbohidratos de carbón y energía (Del'Angola y Ferrari, 1971; Kumada, 1965) y como fuente de sustrato para la formación del humus (Bidwell, 1797).

La descomposición de la materia orgánica sucede en dos fases: la mineralización y la humificación.

La mineralización es la formación de compuestos, en general soluble (nitratos, fosfatos, etc.) o gaseosos (CO_2), por la acción de microorganismos (Chen y Schnitzer, 1976) y la humificación, consiste en la síntesis química y/o biológica de compuestos de la degradación de residuos de plantas y animales por la actividad enzimática de los microorganismos (Christensen, 1986).

La transformación de estos, es promovida por la actividad de enzimas, por bacterias y hongos que viven en el suelo. La celulosa, las proteínas y las grasas, son fuentes rápidas de carbón para los microorganismos y donde otros compuestos como la lignina y otros constituyentes fenólicos de las plantas son

descompuestos mas lentamente (Duchanfour, 1975; Flaig et al., 1975 y Kibertus, 1991).

La materia orgánica del suelo, por convención, es dividida en dos grupos: sustancias no húmicas y húmicas (Flaig et al, 1975 y Schnitzer y Khan, 1978).

Las sustancias no húmicas son: carbohidratos, proteínas, grasas, ceras, resinas, pigmentos y compuestos de bajo peso molecular (ácidos orgánicos) (Felbeck, 1965), celulosa, hemicelulosa y lignina (Kononova, 1963, Schnitzer, 1978; Aleksandrova, 1994; Schnitzer y Schulten, 1995 y Yano et al, 1998).

Las sustancias húmicas son una mezcla heterogénea de macromoléculas orgánicas, con estructura química compleja, distinta y más estables que su forma original; provienen de la degradación de residuos de plantas y animales, así como de la actividad de síntesis de microorganismos (Schnitzer, 1978 y Stevenson, 1982).

Una vez que la materia orgánica es humificada, el humus es dividido en tres fracciones: ácidos fúlvicos (AF), húmicos (AH) y huminas residuales (HR) (Piccolo y Stevenson, 1982), las cuales son llamadas sustancias húmicas.

Las características generales de las sustancias húmicas son: color oscuro, ácidas, predominantemente aromáticas, hidrófilas, químicamente complejas,

polielectrolíticas, con un amplio rango de peso molecular, el cual va desde algunos cientos a algunos miles (Schintzer, 1978). Constituyen del 70 al 80 % de la materia orgánica en la mayoría de los suelos (Schnitzer, 1989 y Christopher, 1996).

Las sustancias húmicas son materiales orgánicos presentes en medios acuáticos y terrestres. Ellas juegan un papel preponderante en procesos geoquímicos, especialmente en el ciclo del carbono de la tierra y la transportación de metales y otros compuestos orgánicos e inorgánicos (Shinozuka y Hayano, 1987). Están involucrados en una gran variedad de procesos químicos del suelo e influyen directa e indirectamente en el crecimiento de las plantas (Gerasimowicz y Byler, 1985).

Los materiales húmicos han recibido especial atención, por su importancia en la fertilidad del suelo, por su acción como mejoradores del suelo y como fertilizantes orgánicos (Gerasimowicz y Byler, 1985) y su intervención en el metabolismo y nutrición mineral de las plantas (Adani et al. , 1998).

Las sustancias húmicas provienen de materiales orgánicos humificados de minerales fósiles de origen orgánico, cuyo elemento base de su formación es el carbón.

El origen de las sustancias húmicas, ha sido objeto de mucha especulación y existen una serie de hipótesis al respecto, sin embargo, no existe ninguna de validez universal, pero todas tienen algunos aspectos en común y coinciden al

decir: que las sustancias húmicas son amorfas, polímeros tridimensionales, ácidos de alto peso molecular y más o menos de naturaleza aromática (Felbeck, 1965; Nuez, Tello, Cuarteto y Segura, 1996; Aleksandrova, 1988; Christensen, 1986; Holtzclaw y Sposito, 1979; Schnitzer, 1978).

Las sustancias húmicas son compostas que hace millones de años, fueron formadas en deltas de ríos, lagunas y depresiones en el oeste de los Estados Unidos, en aguas salinas y no salinas.

El material orgánico consistió de plantas y animales muertos, depositados y cubiertos con arcilla y arena lentamente comprimidos en la tierra para formar aceite, carbón y humatos.

Después, estas áreas fueron expuestas al aire, la oxidación incrementó y por consiguiente los ácidos húmicos concentrados.

Las formas fósiles del humus son tres: el lignito, las turbas y la leonardita.

El lignito es un material muy meteorizado y oxidado por lo que tiene características próximas a la leonardita, materia prima muy utilizada por distintas empresas para la obtención de sustancias húmicas. Su contenido en C orgánico es alto, con un contenido alto en cenizas, sin embargo, el residuo insoluble en

ácidos, medido de la parte inerte, normalmente silicatos, de estas cenizas, puede considerarse bajo en relación con los otros minerales.

Las turbas son materiales sometidos a un largo proceso de humificación por lo que poseen normalmente un elevado contenido en humus estable, mientras que los intensos lavados a los que por lo general han sido sometidos sean bajos en ácidos fúlvicos. Contienen N en forma similar al lignito, una cantidad de K nada despreciable, y su riqueza en Fe es del 1.95% (Franco y Bañon, 1997).

La leonardita es la forma más oxidada del carbón de lignito. Este material es caracterizado por su contenido alto en oxígeno, lo cual es atribuido a la presencia de un gran número de grupos carboxílicos. Esto incrementa la solubilidad en alcali (O'Donnell, 1973).

Los ácidos húmicos y fúlvicos, son macromoléculas aromáticas complejas, muy estables, con estructura polimérica en forma de círculos, cadenas y racimos (Schnitzer, 1978; Ghosh y Schnitzer, 1980; Stevenson, 1982; Schnitzer y Schulten, 1995), y ciclos aromáticos condensados (eworobe-at-cc. Umanitoba.CA, 1996), con aminoácidos, amino-azúcares, péptidos y compuestos alifáticos (Stevenson, 1982; Schnitzer, 2000).

La forma de extracción de las sustancias húmicas, de suelos, compostas y otros materiales orgánicos, representan el punto más crítico para su estudio. La manera más eficiente, y con amplio uso, es por vía química, con álcalis y ácidos.

El compuesto con mas uso es el hidróxido de sodio (NaOH), a concentraciones de 0.1 y 0.5 N, en solución acuosa (Schnitzer y Skinner, 1962; Schnitzer, 1963, 1973, 1978; Kumada, 1965; Kan, 1971; Holtzclaw, et al., 1975; Sposito et al., 1976; Chen et al., 1978; Hatcher et al., 1981; Stevenson y Schnitzer, 1981; Wilson et al., 1983; Preston y Blackwell, 1985; Baes y Bloom, 1990; Krosshavn et al., 1992; Schnitzer et al., 1994; Senesi, 1994; Manunza et al., 1995; Sorge et al., 1994; Amalfitano et al., 1995; Schnitzer y Schulten, 1995).

Propiedades De Las Sustancias Húmicas

Las características básicas de los ácidos húmicos y fúlvicos son basadas en su solubilidad.

Ácidos húmicos (AH): esta fracción no es soluble en agua y bajo condiciones ácidas ($\text{pH} < 2$), pero es soluble a valores altos de pH. Los ácidos húmicos son el componente de mayor extracción de las sustancias húmicas, de color café oscuro a negro, alto peso molecular (30000 Kda), 62% de carbón y 30% de oxígeno.

Ácidos fúlvicos (AF): es la porción soluble en agua bajo todas las condiciones de pH. Ellos permanecen en solución después de la separación de los

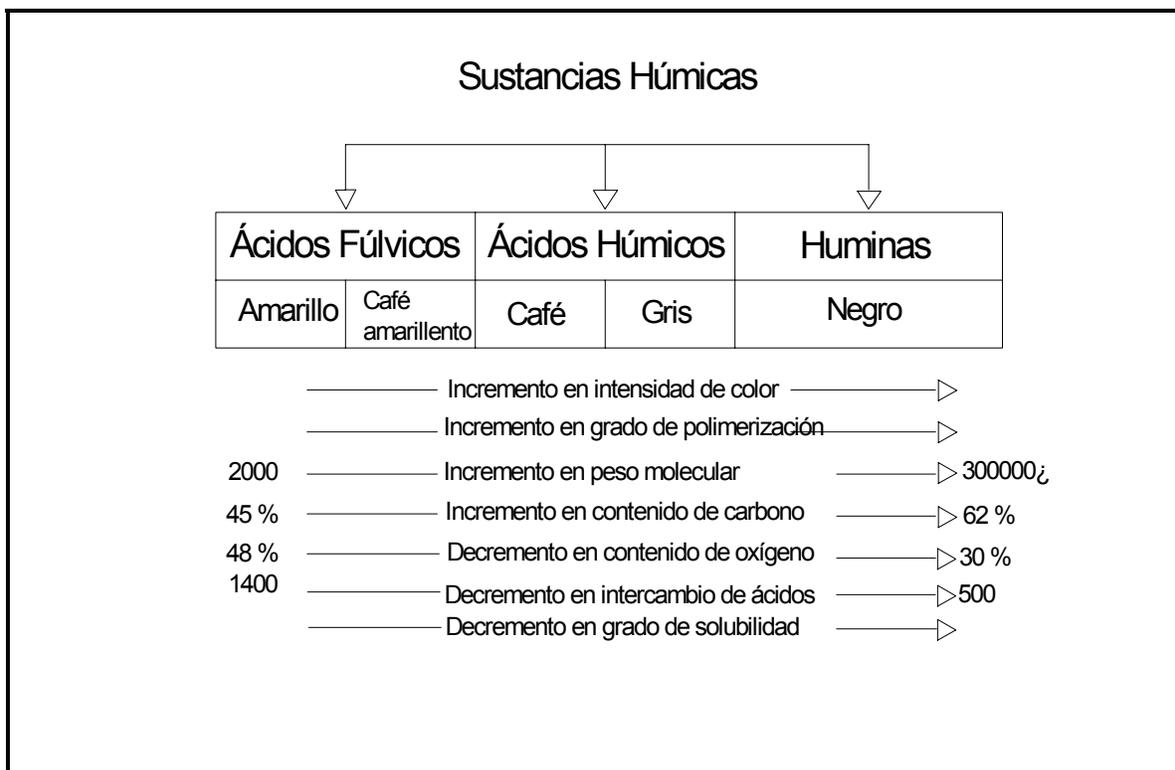
AH por acidificación. Los AF son de color amarillo claro a café – amarillento, de bajo peso molecular (de 170 a 2000 Kda), 45% de carbón y 48% de oxígeno.

Las huminas (H): es la parte de las sustancias húmicas no solubles en agua, ni en cualquier valor de pH, ni en medio ácido o alcalino. Es de color negro y con un peso molecular de 300000Kda, (Piccolo y Stevenson, 1982).

Las diferencias entre los ácidos húmicos y fúlvicos, pueden ser explicadas por la variación en el peso molecular, número de grupos funcionales (carboxilos, oxidrilos, etc.) y la extensión de la polimerización (Stevenson, 1998).

Los contenidos de oxígeno y carbón, la acidez y el grado de polimerización, cambian sistemáticamente con el incremento en peso molecular.

Los ácidos fúlvicos tienen bajo peso molecular, alto contenido de oxígeno, pero bajo de carbón, los ácidos húmicos son de alto peso molecular. Los ácidos fúlvicos contienen mas grupos funcionales de naturaleza ácida, particularmente COOH. La acidez total es de 900 a 1400 meq/100g y considerablemente más altos que los de los ácidos húmicos (400 a 870 meq/100g). El cuadro 1, presenta lo anterior (Stevenson, 1982).



Cuadro 1. Propiedades químicas de las sustancias Húmicas (Stevenson 1982).

Otra importante diferencia es que, el oxígeno de los ácidos fúlvicos puede ser considerado de gran manera, como grupos funcionales (-COOH, OH.C=O), unidos a cadenas alifáticas y ciclos aromáticos, mientras que en los ácidos húmicos, la mayor porción de oxígeno, parece estar presente como un

componente estructural del “núcleo” y/o ciclos aromáticos (Schnitzer, 1978; Stevenson, 1982; Stevenson y Schnitzer, 1982).

Observaciones al microscopio electrónico revelan que los AH's tienen estructura polimérica, apareciendo en forma de ciclos aromáticos y cadenas. La estructura de los AF's son polímeros de algunos ciclos aromáticos y cadenas alifáticas, fácil de degradar (2, 14), sin embargo, las estructuras químicas siempre serán distintas aún cuando los AH's y AF's provengan de la misma fuente.

Los ácidos húmicos son considerados como macromoléculas aromáticas complejas con aminoácidos, aminoazúcares, péptidos, compuestos alifáticos involucrados en la unión entre grupos aromáticos. La estructura hipotética contiene grupos OH fenólicos libres y unidos, estructuras quinónicas, nitrógeno y oxígeno unidos como puentes y varios grupos COOH localizados en los ciclos aromáticos, (Fig. 1).

La estructura hipotética de los ácidos fúlvicos contiene estructuras aromáticas y alifáticas, ambas extensivamente sustituidas con grupos funcionales que contienen oxígeno (Fig. 2). Los ácidos húmicos consisten de ciclos aromáticos los cuales son unidos covalentemente a cadenas alifáticas (Fig. 3), proponen que estos “bloques de construcción” son liberados durante la pirólisis de una estructura alquilaromática en forma de red que es hecha por los constituyentes (Schnitzer,

1978). Esta estructura contiene vacíos de varias dimensiones, los cuales pueden atrapar y/o unir otros compuestos orgánicos e inorgánicos.

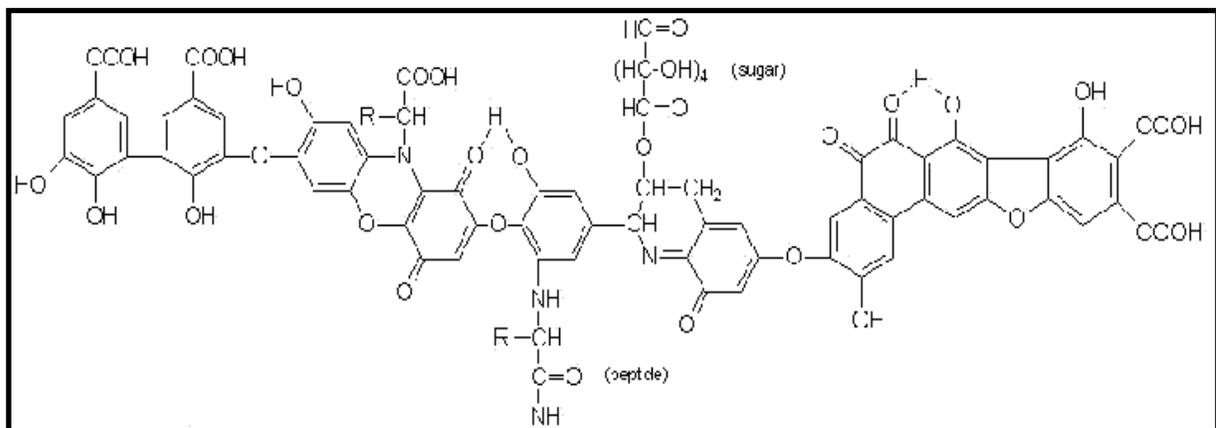


Figura 1. Modelo Estructural de ácidos húmicos (Stevenson)

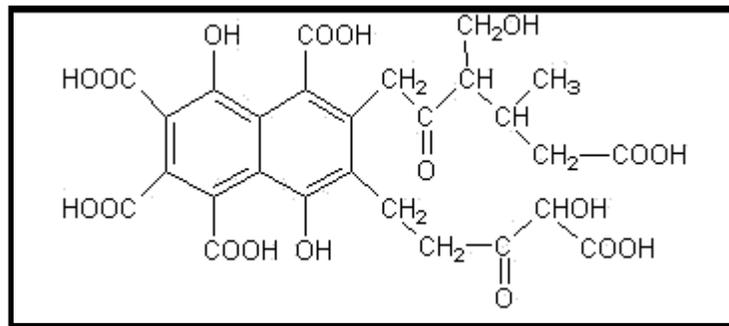


Figura 2. Modelo Estructural de Ácidos Húmicos por Buffle

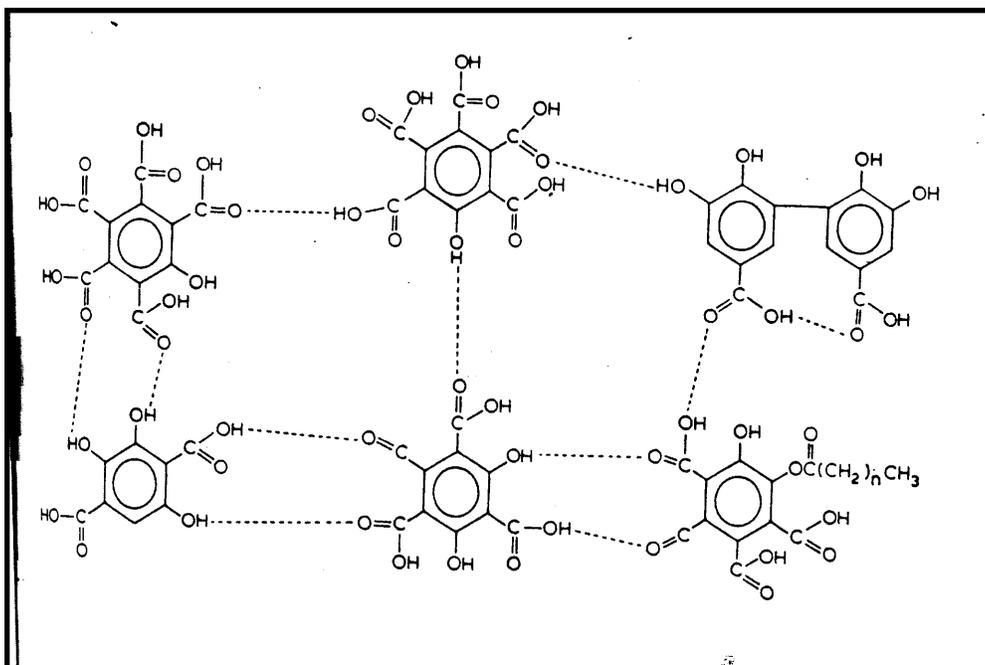


Figura 3. Modelo de Ácido Fúlvico (Schnitzer, 1985)

Efecto de Sustancias Húmicas en el Crecimiento Vegetal

Una gran discrepancia existe entre los fisiólogos y nutriólogos vegetales, para discernir la o las diferencias entre crecimiento y desarrollo vegetal.

El crecimiento, significa aumento de tamaño. A medida que los organismos pluricelulares crecen, no sólo aumentan en volumen, sino también en peso, número de células, cantidad de protoplasma y complejidad, aún cuando no sea siempre fácil de medir (Salisbury y Ross, 1994).

Las sustancias húmicas producen beneficios biológicos (Schnitzer y Khan, 1978; Franco y Bañon, 1997). Las sustancias húmicas, bajo ciertas condiciones, estimulan el crecimiento vegetal (Vaughan y Malcom, 1985), y afectan directa e indirectamente el proceso mencionado.

Los efectos directos implican la disponibilidad de las sustancias húmicas para raíces de las plantas, ya que se cree poseen actividad auxínica (O'Donnell, 1978), porque estimula la germinación de semillas, el crecimiento de hipo y epicotilos, la producción y respiración de raíces, la formación de raíces adventicias y la síntesis de proteínas.

Los efectos indirectos se refieren a que las sustancias húmicas actúan como suplemento y reguladores de la nutrición vegetal, similares a los iones sintéticos (fertilizantes químicos) (Rojas, 1995), es decir, intervienen en la utilidad de iones y translocación dentro de la planta (Linehan, 1977; Elgala et al., 1978; Rauthan y Schnitzer, 1981; Tyler y McBride, 1982; Vaughan y Malcolm, 1985 y Adani et al. 1998).

La mayoría de los experimentos, para establecer el efecto de las sustancias húmicas en el crecimiento vegetal, han sido establecidos en arena e hidroponía en invernadero.

Bajo estas condiciones, hay poca duda de que las sustancias húmicas pueden aumentar el crecimiento de las plantas, en términos de incremento en longitud y peso fresco y seco, en función del tiempo, fuente de las sustancias húmicas y condiciones de cultivo (Guminski, 1968; Khristeva y Luk'Yanenko, 1962).

En forma general, la respuesta de cereales y hortalizas, ha sido más grande a los ácidos fúlvicos que a los ácidos húmicos, cuando se aplican bajas concentraciones (Khristeva y Manoilova, 1950; Sladky, 1959; Khristeva y Luk'Yanenko, 1962; Vaughan y Malcolm, 1985). Cuando se aplican concentraciones altas, el crecimiento se inhibe (Mylonas y McCants, 1980;

Ranthan y Schnitzer, 1981; Vaughan y McDonald, 1971; Légala et al., 1978; Guminski et al., 1965).

La respuesta de las plantas, depende de la concentración y de la especie vegetal (Kononova, 1961), aunque también de la fuente de las sustancias húmicas (Hernando et al., 1977; Mylonas y Mc Cants, 1980; Ortega et al., 1968), y de la variable a medir (Vaughan y Malcolm, 1985).

Sladky (1959), afirmó que los ácidos fúlvicos, incrementaron la longitud de raíces de tomate, más que un testigo en un 10 %, pero el peso seco y fresco fueron aumentados en 245 y 390 % respectivamente. Los ácidos húmicos, estimularon la longitud de raíz en un 54 % y la de la parte aérea en 146 %. Pero, el contraste mas marcado, fue cuando la longitud de la parte aérea, de plantas de tomate, tratadas con ácidos fúlvicos, fue superior en 170 %, mientras que las raíces, sólo aumentaron un 10 %.

Un ejemplo muy claro del efecto de sustancias húmicas en el crecimiento de diferentes órganos, en plantas intactas fue presentado por Rauthan y Schnitzer (1981), para el efecto de ácidos fúlvicos en el crecimiento de pepinos. En este caso, los ácidos fúlvicos a concentraciones de 100 mg l^{-1} , incrementó la longitud de raíz en 31 % y el peso del tallo en 81 %, el peso seco de la planta en 130 %, el número de hojas por planta en 40 % y el número de flores por planta en 145 %.

En adición al incremento en longitud y peso fresco y seco, las sustancias húmicas pueden ejercer un efecto favorable en el desarrollo de raíces adventicias, en soluciones nutritivas (Kononova, 1961; Mylonas y Mc Cants, 1980; Smidova, 1960).

La composición y condiciones del medio de cultivo, son críticos para determinar la extensión a la cual, las sustancias húmicas pueden influenciar el crecimiento vegetal (Guminski et al., 1965).

Algunos trabajos usaron agua sola como medio de crecimiento y testigo (Smidova, 1960; Pokorna et al., 1963) y bajo estas condiciones, podría suponerse que las sustancias húmicas, aumentan el crecimiento de las plantas ya que proveen una fuente deseable de nutrientes (Vaughan y Malcolm, 1985).

Guminski et al. , (1965) y Guminski, (1968), presentaron que los ácidos húmicos aumentaron el crecimiento de plantas de tomate en solución nutritiva, bajo condiciones de pobre aireación. Adicionalmente, después de la estimulación por ácidos húmicos bajo condiciones inadecuadas de aireación, las plantas de tomate fueron considerablemente más pequeñas, que cuando crecieron en solución nutritiva sola bajo condiciones aeróbicas adecuadas.

En raíces de tomate, producidas en solución nutritiva, los húmicos fueron más efectivos que los ácidos fúlvicos, en el aumento del crecimiento (Helanova y Sladky, 1967). Sin embargo, podría parecer que estas dos fracciones húmicas,

influyen diferentes aspectos del crecimiento y los ácidos húmicos aumentan la elongación celular. Los ácidos fúlvicos producen efectos opuestos.

Schnitzer y Poapst (1967), demostraron que los ácidos fúlvicos estimulan la iniciación de la raíz en hipocotilos del frijol, *Phaseolus vulgaris*. La concentración óptima de los ácidos fúlvicos requeridos en los hipocotilos (3000 - 6000 mg l⁻¹). En raíces de tomate, producidas en solución nutritiva mezclados con ácidos húmicos, fueron considerablemente más grande que los 25 mg l⁻¹ reportados por Linehan (1976).

El uso por las plantas de ácidos fúlvicos, es más evidente que para los ácidos húmicos, porque éstos poseen alto peso y forma molecular (Tan y Giddens, 1972 y Adani et al. , 1998).

Las sustancias húmicas y fúlvicas naturales estimulan el crecimiento de tallos en varias plantas, cuando se aplican con soluciones nutritivas a diversas concentraciones (Chen y Aviad, 1990), y se provoca una mayor elongación de tallos y raíces, que cuando se usan materiales húmicos y fúlvicos comerciales (Linehan, 1976). Sin embargo, (Adani et al., 1998) el orden de magnitud de sustancias húmicas y fúlvicas, tanto naturales como comerciales, estimulan la producción y elongación de raíces y el crecimientos de tallos.

Estos mismos científicos, postularon que los grupos carboxilos y los hidroxilos fenólicos y alcohólicos de los ácidos fúlvicos, son los responsables para

la influencia de estos ácidos en la raíz de los hipocotilos, como un resultado de su actividad quelatante con el hierro.

Las sustancias húmicas intervienen en la actividad hormonal (Nardi et al., 1989), de la ATPasa, responsable de la transducción de energía en la membrana celular de la raíz (Maggioni et al., 1987).

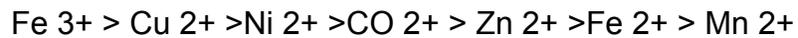
Gran cantidad de resultados contrastantes existen, del efecto de sustancias húmicas en la nutrición mineral de plantas. Sin embargo, la mayoría de las investigaciones establecen que las sustancias húmicas quelatan con los iones.

Un quelato es un complejo formado por dos o más posiciones de coordinación de un ion metálico ocupadas por un grupo orgánico donador.

La habilidad de complejar de los ácidos húmicos y fúlvicos, resulta en gran parte debido a los grupos funcionales que contienen oxígeno, como son los COOH, OH fenólicos y C = O.

Los compuestos de bajo peso molecular (ácidos fúlvicos) intervienen en la solución de iones metálicos y afectan en el transporte hacia las raíces de las plantas. En contraste, compuestos de alto peso molecular (ácidos húmicos), funcionan como una "piel" para los cationes polivalentes (Stevenson, 1982 y Moore et al, 1992).

El orden decreciente de los iones metálicos para quelatar es:



La complejación de las sustancias húmicas, con los iones metálicos, antes mencionados, es determinante para comprender el papel de éstos en la disponibilidad de iones para las plantas (Tipping y Woof, 1991; Tam y Sposito, 1993; Powell y Hawke, 1995; Kuiters y Mulder, 1993; Kaiser y Zech, 1998; y Tan, 1977), en función de pH del medio (Schulten et al, 1993; Kretzschmar et al; 1993 y Olk y Cassman, 1995). También es importante la complejación con aluminio (Kaiser y Zech, 1977).

Cationes básicos como el potasio (K^+) y el calcio (Ca^+), son fijados por las sustancias húmicas (Olk y Cassman, 1995).

El mecanismo por el cual los compuestos húmicos afectan la disponibilidad de los elementos, no es claro (Evangelou y Blevins, 1998).

Otro posible mecanismo es que la fijación incrementa la capacidad de intercambio catiónico (CIC), con el aumento del contenido de materiales orgánicos (Malavolta, 1985).

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente trabajo fueron realizadas dos experiencias en invernadero: la primera, consistió en la producción de plántula con 18 tratamientos. La segunda, fue con base en los tratamientos en los cuales se observó las mejores respuestas

Ubicación Del Experimento

El desarrollo de ambos experimentos se realizó durante los meses de septiembre a diciembre del año 2000 en invernadero del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con ubicación geográfica: 25°23'' Latitud Norte, 101°00'' Longitud Oeste del meridiano de Greenwich y una altitud de 1743 msnm.

Conducción de los Experimentos

Para el primer experimento, se usaron charolas germinadoras de 200 cavidades rellenas con perlita como sustrato inerte. El cultivar empleado fue el híbrido "Río Grande" de hábito indeterminado.

Los ácidos fúlvicos usados fueron: ácidos fúlvicos de composta (AFB) con las dosis 0.2 y 0.4 ml/L⁻¹ de agua y ácidos fúlvicos de leonardita (AFL), a las mismas cantidades. Además, mezclados con cuatro niveles de la solución nutritiva Douglas. Para la segunda experiencia, se utilizó peat moss como sustrato.

Diseño Experimental

Para el primer experimento el diseño experimental empleado fue completamente al azar, con arreglo factorial 2 x 2 con 10 repeticiones y tres colectas (cuadro 2). Situación similar fue empleada en el segundo trabajo (cuadro 3).

Tratamiento	Fuente	ml · l ⁻¹	% solución
1	AFB	0.2	25 %
2	AFB	0.2	50
3	AFB	0.2	75
4	AFB	0.2	100
5	AFB	0.4	25
6	AFB	0.4	50
7	AFB	0.4	75
8	AFL	0.2	25
9	AFL	0.2	50
10	AFL	0.2	75
11	AFL	0.2	100
12	AFL	0.4	25
13	AFL	0.4	50
14	AFL	0.4	75
15	AFL	0.4	100
16	Solución	Nutritiva	50
17	Solución	Nutritiva	75
18	Solución	Nutritiva	100

Cuadro 2.- Relación de tratamientos utilizados para el primer experimento.

Tratamiento	Fuente	ml · l ⁻¹	% solución
1	AFB	0.2	50
2	AFL	0.2	50
3	AFB	0.4	50
4	AFL	0.4	50

Cuadro 3.- Relación de tratamientos empleados en el segundo experimento.

Variables de Respuesta

Las variables medidas fueron: longitud de tallo, longitud de raíz y área foliar (Acevedo, 1975).

Estas fueron recopiladas cada diez días, a partir de la aparición de las primeras dos hojas verdaderas.

RESULTADOS

Primer Experimento

Longitud de Tallo

La figura 4 muestra los efectos principales de los ácidos fúlvicos y dosis sobre la variable longitud de tallo, para el primer muestreo. Esta permite observar que los ácidos fúlvicos biológicos a una dosis de 0.4 ml/L^{-1} de agua, mas la solución nutritiva al 25 %, fueran los mas significativos estadísticamente (cuadros 4 y 5). Lo anterior se demuestra al realizar la prueba de medias (figuras 5 y 6).

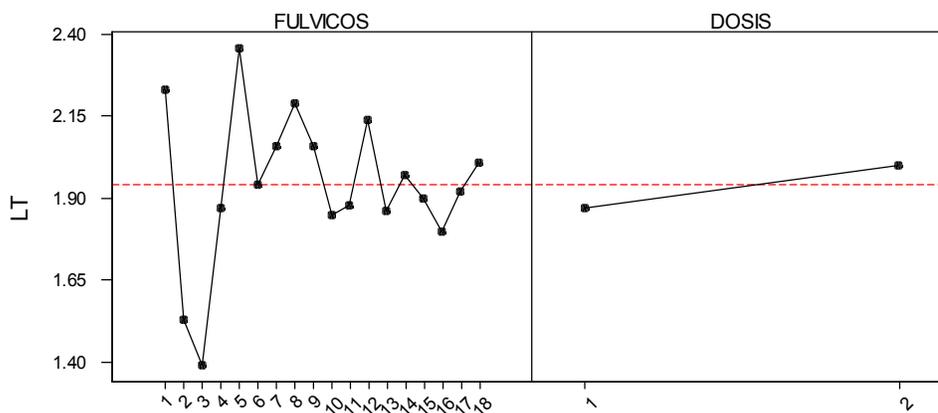


Figura 4. Efectos principales para longitud de tallo, primer experimento.

Figura 5. Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fulvicos, primer experimento.

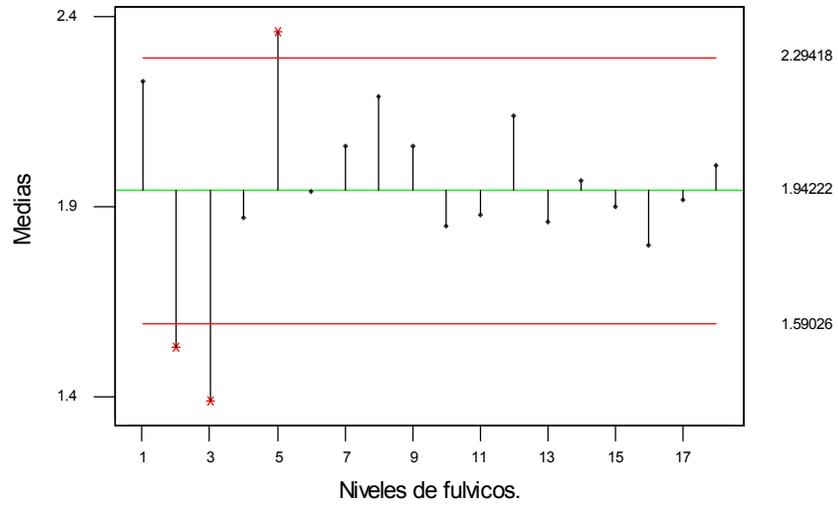
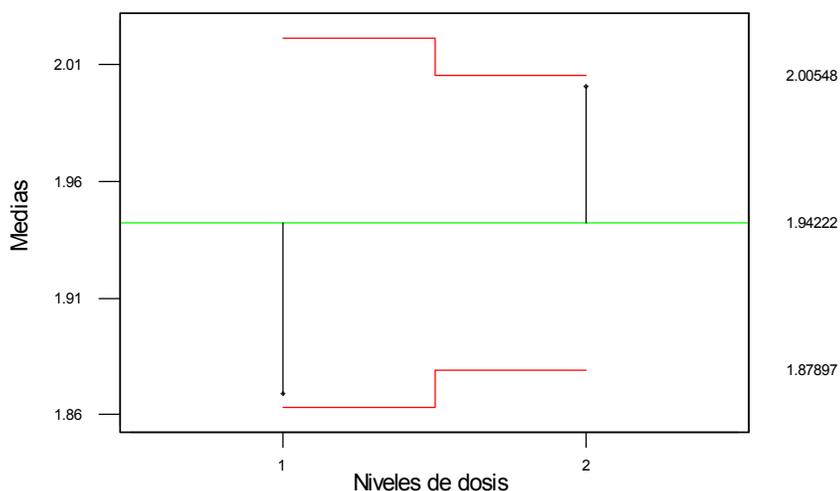


Figura 6. Prueba de medias para longitud de tallo con dosis, primer experimento.



Cuadro 4. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos en la longitud del tallo. Primer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C. M.	F	P
FULVICOS	17	9.1271	9.1271	0.5369	3.76	0.000 **
Error	162	23.1520	23.1520	0.1429		
Total	179	32.2791				

Cuadro 5. Análisis de varianza para el efecto dosis en longitud de tallo. Primer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C. M.	F	P
DOSIS	1	0.7773	0.7773	0.7773	4.39	0.038 *
Error	178	31.5018	31.5018	0.1770		
Total	179	32.2791				

Longitud De Raíz

La figura 7, presenta los efectos principales para la variable longitud de raíz. A partir de la figura, se determina que, en la primer colecta, los ácidos fúlvicos de leonardita a una cantidad de 0.4 ml/L^{-1} de agua y la solución nutritiva al 50 %, fueron estadísticamente superiores a los demás tratamientos (cuadros 6 y 7). Lo anterior se corrobora con la prueba de medias (figuras 8 y 9).

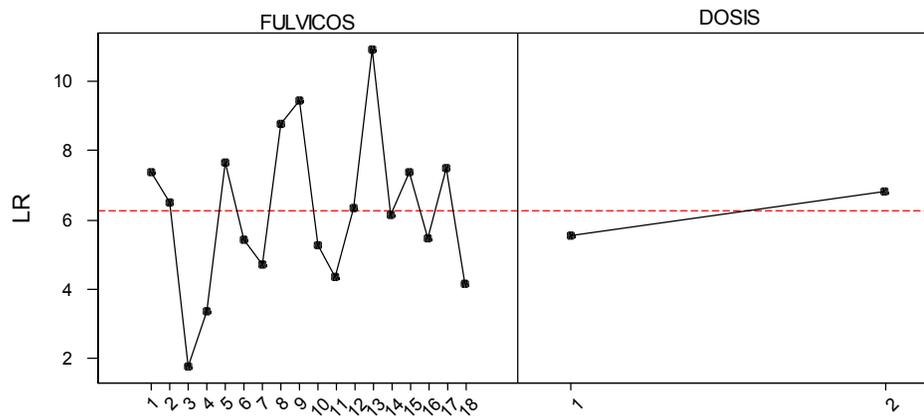


Figura 7. Efectos principales para longitud de raíz, primer experimento.

Figura 8. Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, primer experimento.

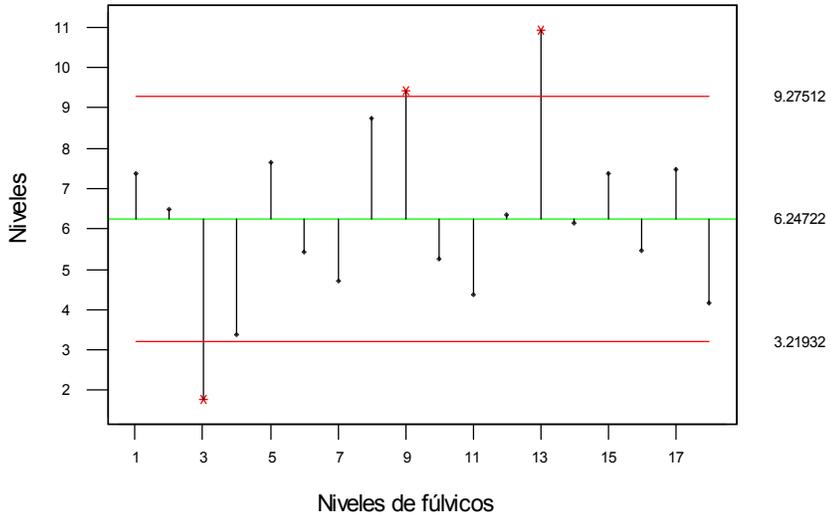
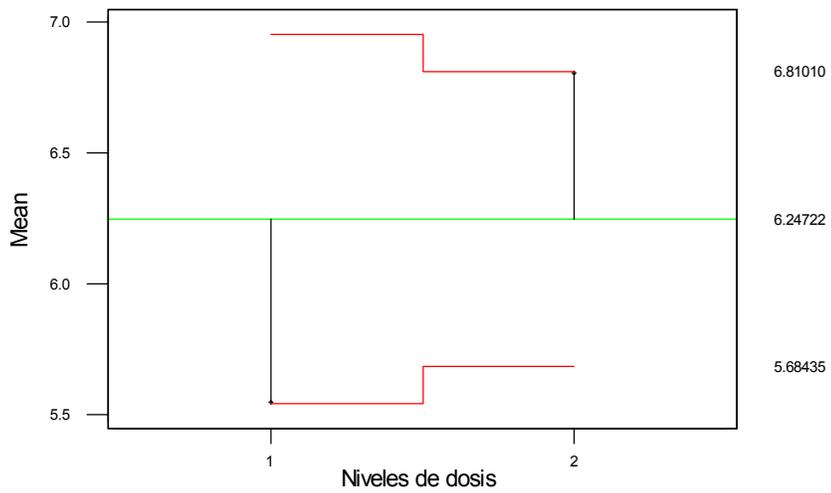


Figura 9. Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, primer experimento



Cuadro 6. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre la longitud de raíz. Primer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	17	851.06	851.06	50.06	4.73	0.000 **
Error	162	1713.49	1713.49	10.58		
Total	179	2564.55				

Cuadro 7. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de raíz. Primer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C. M.	F	P
DOSIS	1	70.25	70.25	70.25	5.01	0.026 *
Error	178	2494.30	2494.30	14.01		
Total	179	2564.55				

Area Foliar

Los efectos principales expuestos en la figura 10, en el primer muestreo de la variable área foliar, permiten observar que los ácidos fúlvicos de leonardita a razón de 0.4 ml/L⁻¹ de agua, mas la solución nutritiva al 50 %, resultaron estadísticamente superiores (cuadros 8 y 9). La comprobación con la prueba de medias (figuras 11 y 12).

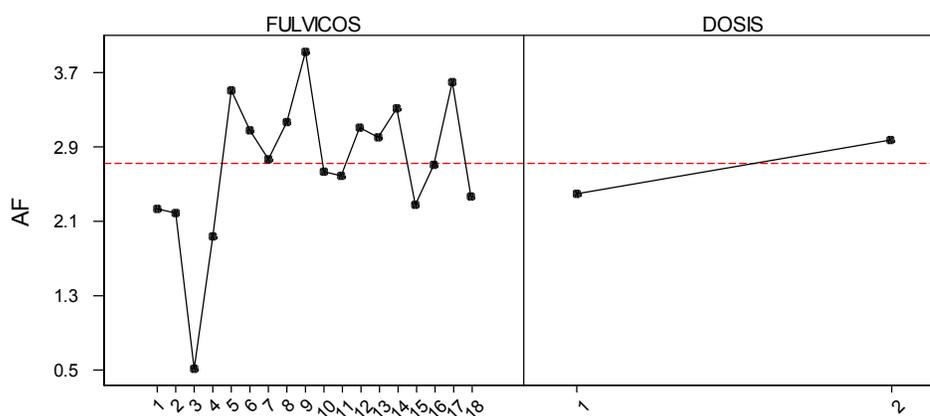


Figura 10. Efectos principales para área foliar, primer experimento.

Figura 11. Prueba de medias para área foliar con ácidos fúlvicos, primer experimento.

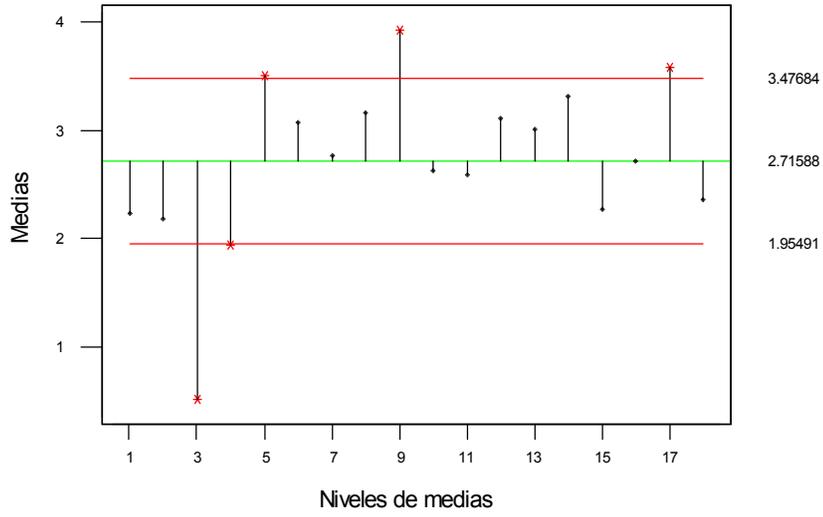
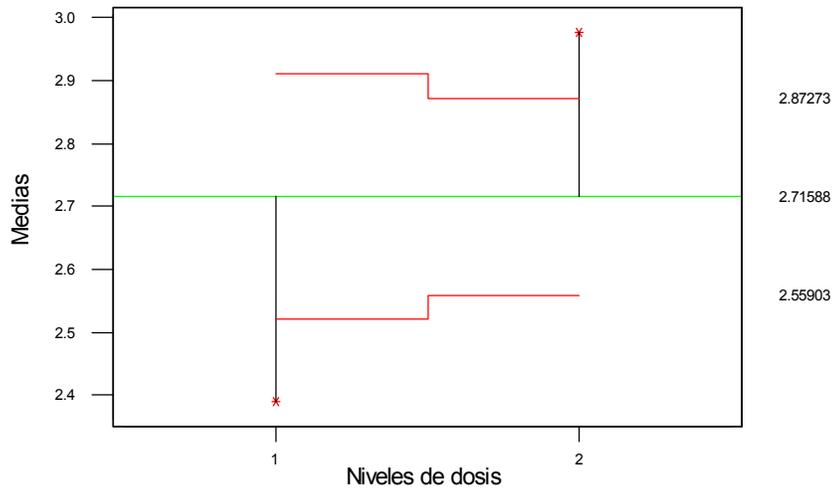


Figura 12. Prueba de medias para área foliar con dosis, primer experimento.



Cuadro 8. Análisis de varianza para el efecto de los ácidos fúlvicos sobre el área foliar. Primer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	17	100.7788	100.7788	5.9282	8.87	0.000 **
Error	162	108.2252	108.2252	0.6681		
Total	179	209.0040				

Cuadro 9. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre el área foliar. Primer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	15.317	15.317	15.317	14.08	0.000 **
Error	178	193.687	193.687	1.088		
Total	179	209.004				

Longitud de Tallo

La figura 13, para el segundo muestreo, exhibe los efectos principales para la variable longitud de tallo. El mismo tratamiento que en el primer muestreo, fue estadísticamente superior (cuadros 10 y 11 y figuras 14 y 15).

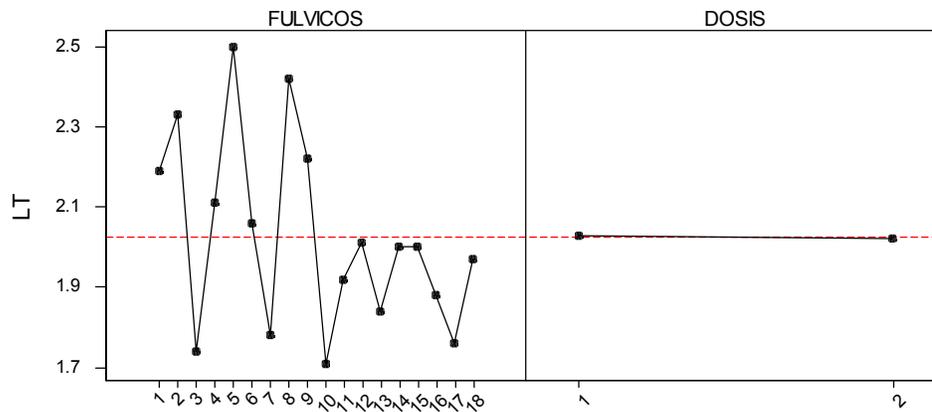


Figura 13. Efectos principales para longitud de tallo, primer experimento.

Figura 14. Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fúlvicos.

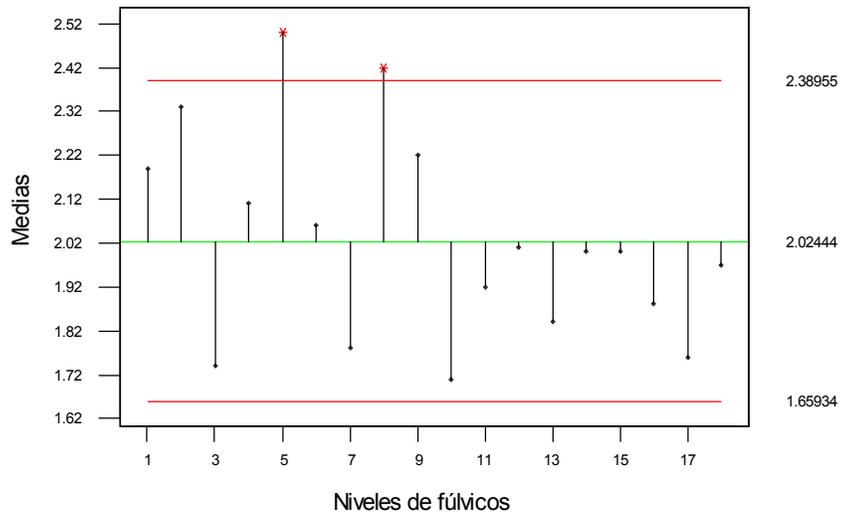
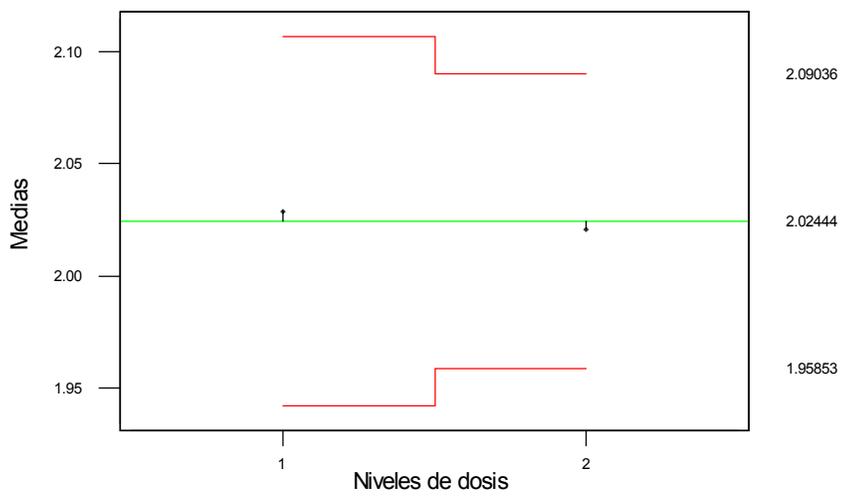


Figura 15. prueba de medias para longitud de tallo con dosis, primer experimento.



Cuadro 10. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre la longitud de tallo. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	17	9.2984	9.2984	0.5470	3.56	0.000 **
Error	162	24.9140	24.9140	0.1538		
Total	179	34.2124				

Cuadro 11. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de tallo. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	0.0027	0.0027		0.01	0.906 NS
Error	178	34.2098	34.2098	0.1922		
Total	179	34.2124				

Longitud de Raíz

La figura 16, manifiesta los efectos principales en la longitud de raíz, en la segunda colección de plantas, donde se manifiesta como los ácidos fúlvicos de leonardita a una dosis de 0.4 ml/L^{-1} de agua, mezclados con la solución nutritiva al 50 %, aparecen como los estadísticamente superiores (cuadros 12 y 13 y figuras 17 y 18).

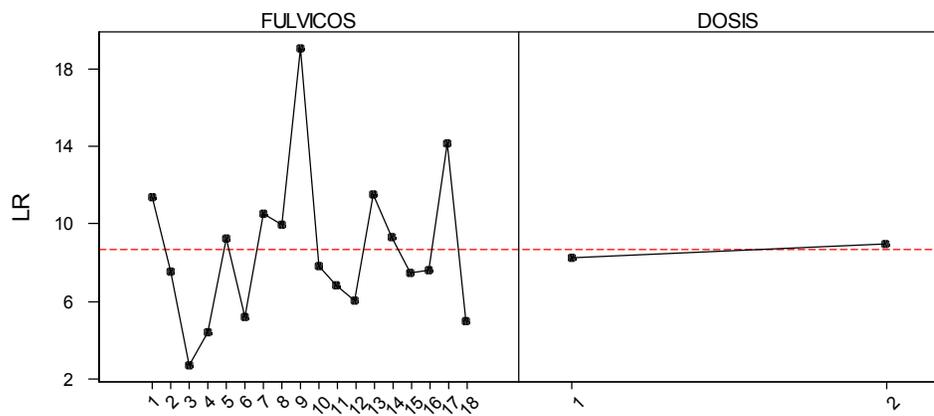


Figura 16. Efectos principales para longitud de raíz.

Figura 17. Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, primer experimento

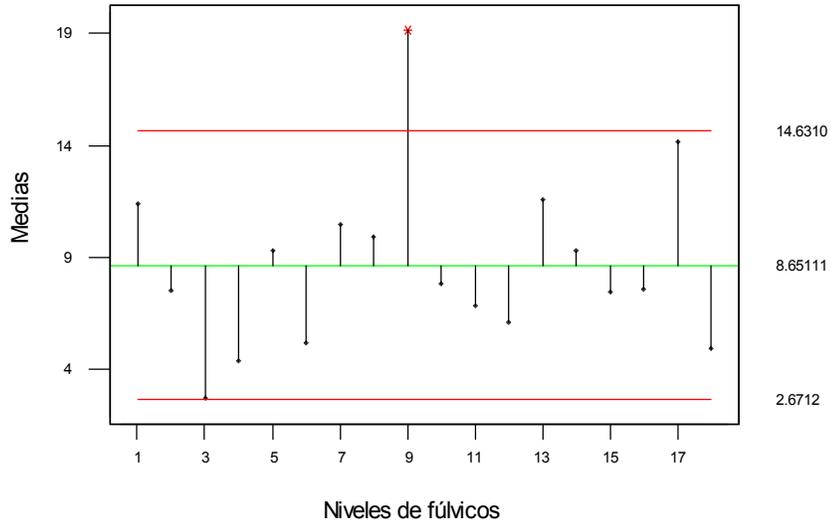
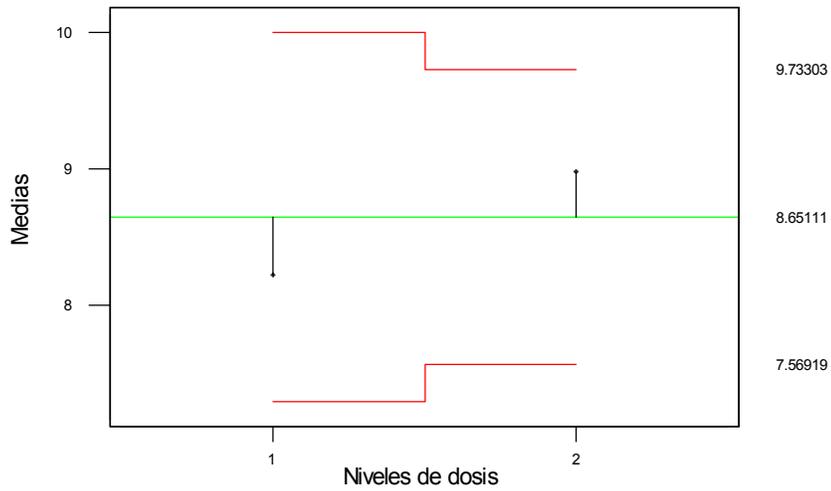


Figura 18. Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, primer experimento.



Cuadro 12. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre la longitud de raíz. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	17	2557.83	2557.83	150.46	3.65	0.000 **
Error	162	6683.16	6683.16	41.25		
Total	179	9240.99				

Cuadro 13. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de raíz. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C. M.	F	P
DOSIS	1	25.54	25.54	25.54	0.49	0.483 NS
Error	178	9215.45	9215.45	51.77		
Total	179	9240.99				

Área Foliar

La figura 19, en el segundo muestreo, da a conocer los efectos principales sobre el área foliar. Aquí, la solución nutritiva al 75 %, realizó el efecto mas significativo (cuadros 14 y 15). Las figuras 20 y 21, expone la comparación de medias.

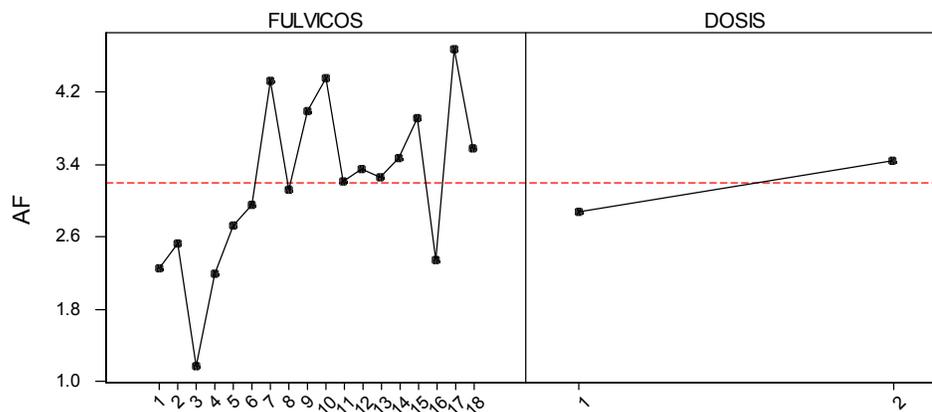


Figura 19. Efectos principales para área foliar, primer experimento.

Figura 20. Prueba de medias para área foliar con ácidos fúlvicos, primer experimento.

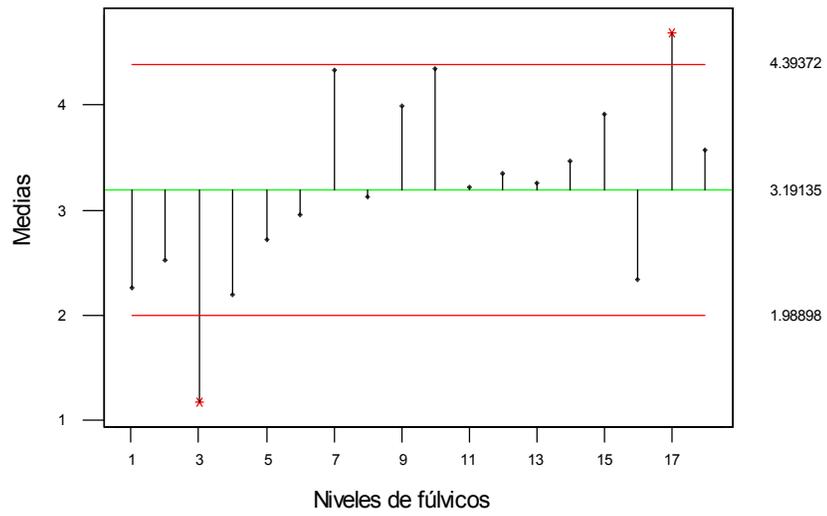
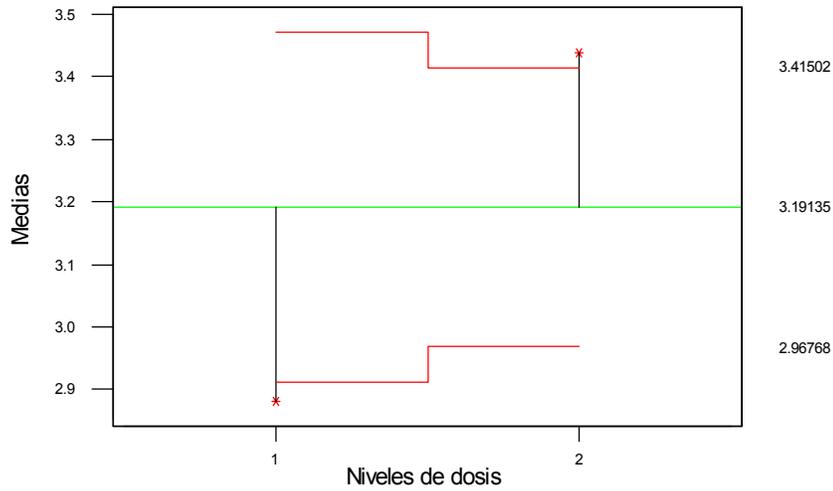


Figura 21. Prueba de medias para área foliar con dosis, primer experimento.



Cuadro 14. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre el área foliar. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	17	137.515	137.515	8.089	4.85	0.000 **
Error	162	270.192	270.192	1.668		
Total	179	407.706				

Cuadro 15. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre el área foliar. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	13.844	13.844	13.844	6.26	0.013 *
Error	178	393.863	393.863	2.213		
Total	179	407.706				

Longitud de Tallo

Los efectos principales para la variable longitud de tallo son mostrados en la figura 22. Para este tercer muestreo los ácidos fúlvicos biológicos a una dosis de 0.2 ml l^{-1} mas solución nutritiva al 25 % son presentados como los mas significativos estadísticamente (figuras 23 , 24 y cuadros 16, 17).

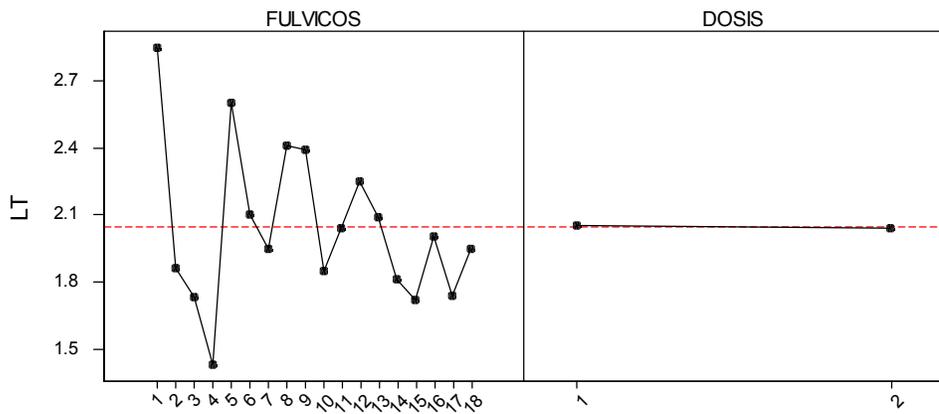


Figura 22. Efectos principales para longitud de tallo, primer experimento.

Figura 23. Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fúlvicos, primer experimento.

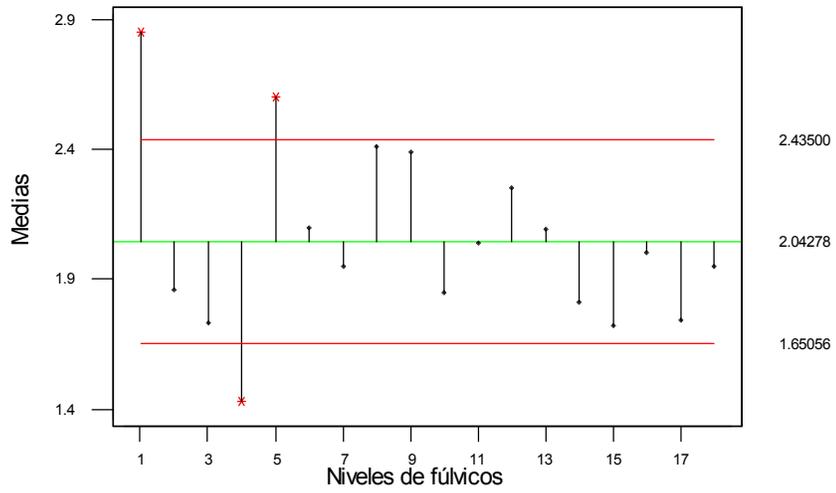
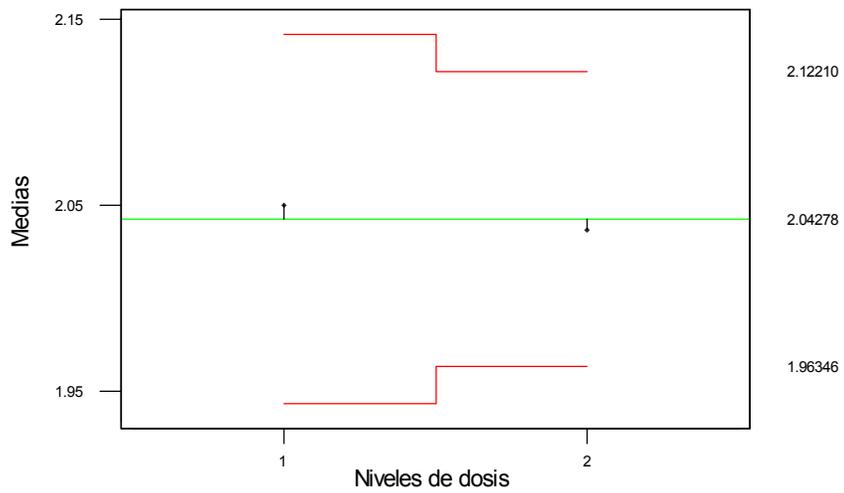


Figura 24. Prueba de medias para longitud de tallo con dosis, primer experimento.



Cuadro 16. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre longitud de tallo. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	17	20.7896	20.7896	1.2229	6.89	0.000 **
Error	162	28.7510	0.1775			
Total	179	49.5406				

Cuadro 17. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre longitud de tallo. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	0.0075	0.0075	0.0075	0.03	0.870 NS
Error	178	49.5331	49.5331	0.2783		
Total	179	49.5406				

Longitud de Raíz

Los efectos principales para la variable longitud de raíz en el tercer muestreo se indican en la figura 25. Los ácidos fúlvicos de leonardita mas solución nutritiva al 25 %, y dosis con $0.4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ demostraron ser los mas significativos estadísticamente (Figura 26 y 27, Cuadros 18 y 19)

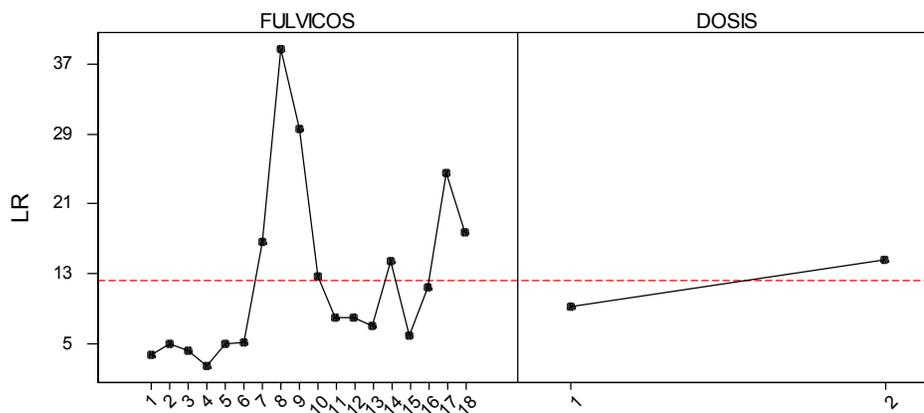


Figura 25. Efectos principales para longitud de raíz, primer experimento.

Figura 26. Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, primer experimento.

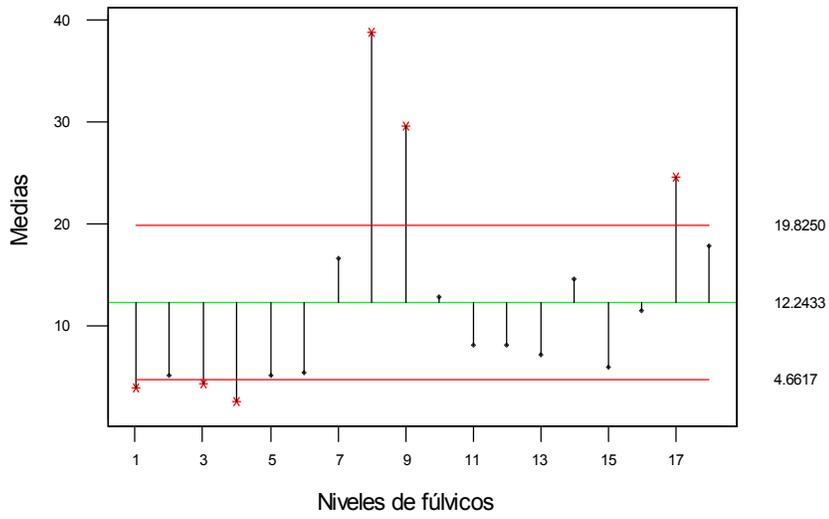
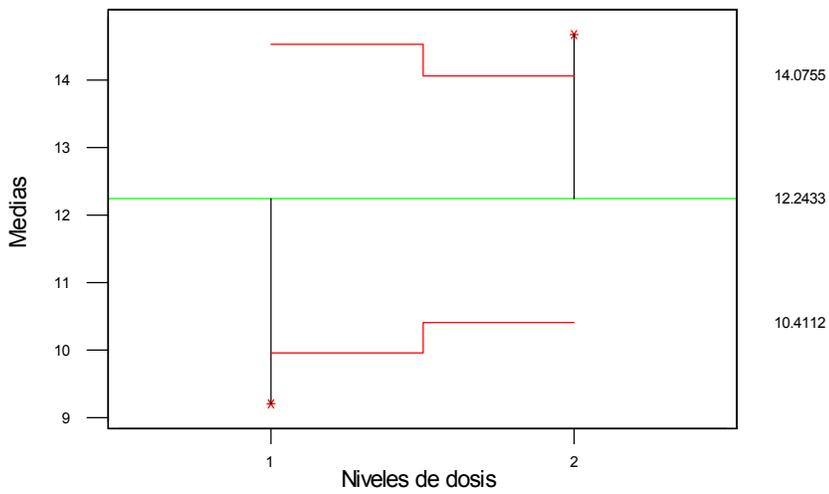


Figura 27. Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, primer experimento.



Cuadro 18. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre longitud de raíz. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	17	17010.2	17010.2	1000.6	15.09	0.000 **
Error	162	10743.1	10743.1	66.3		
Total	179	27753.3				

Cuadro 19. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre longitud de raíz. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	1327.1	1327.1	1327.1	8.94	0.003 **
Error	178	26426.1	26426.1	148.5		
Total	179	27753.3				

Área Foliar

Los efectos principales para la variable área foliar en el tercer muestreo se indican en la figura 28. Los ácidos fúlvicos biológicos más solución nutritiva al 75 %, y dosis con $0.4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ demostraron ser los más significativos estadísticamente (Figura 29 y 30, Cuadros 20 y 21)

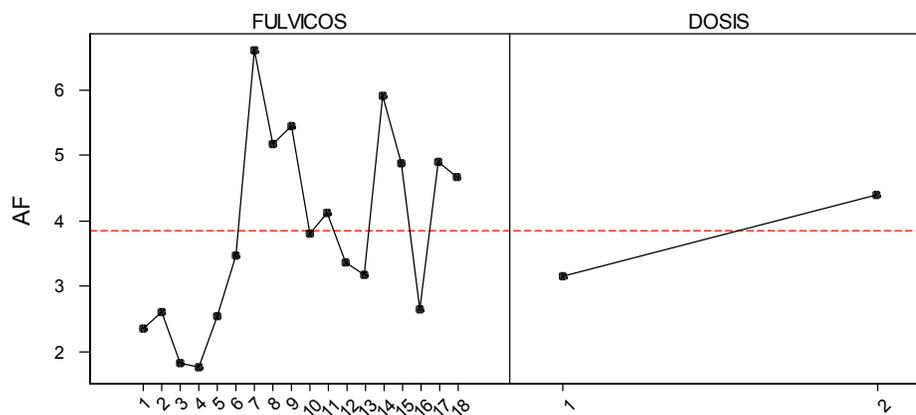


Figura 28. Efectos principales para área foliar, primer experimento.

Figura 29. Prueba de medias para área foliar con ácidos fúlvicos, primer experimento.

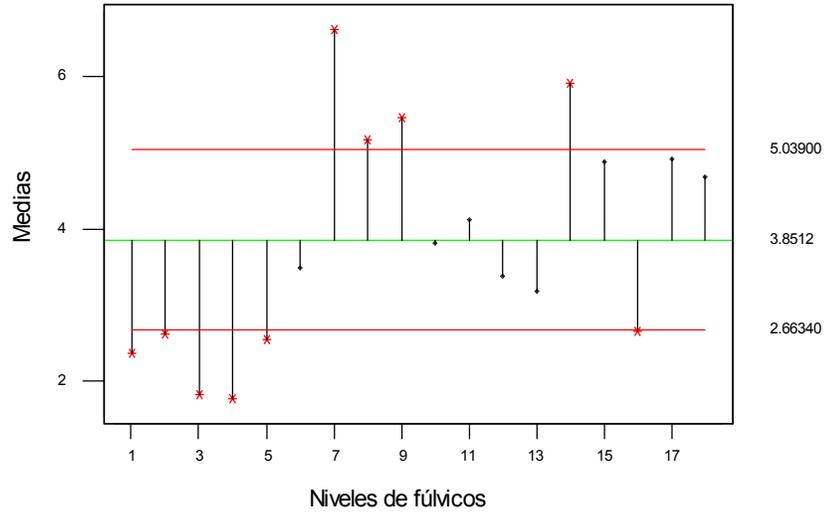
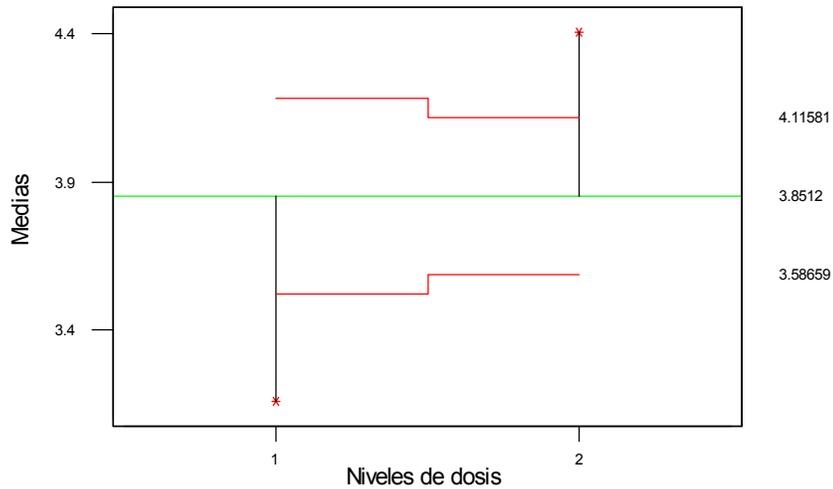


Figura 30. Prueba de medias para área foliar con dosis, primer experimento.



Cuadro 20. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre el área foliar. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	17	356.059	356.059	20.945	12.87	0.000**
Error	162	263.686	263.686	1.628		
Total	179	619.745				

Cuadro 21. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre el área foliar. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	68.516	68.516	68.516	22.12	0.000**
Error	178	551.229	551.229	3.097		
Total	179	619.745				

Segundo Experimento

Longitud de Raíz

La figura 31 muestra los efectos principales para la variable longitud de raíz. Los ácidos fúlvicos de leonardita a una dosis de $0.4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ y solución nutritiva al 50 %, mostraron para el primer muestreo ser estadísticamente significativos (Figuras 32,33 y cuadros 22,23).

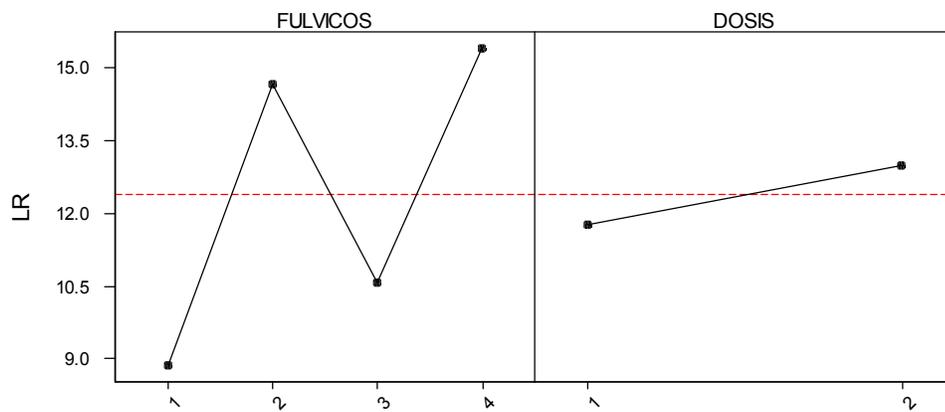


Figura 31. Efectos principales para longitud de raíz, segundo experimento.

Figura 32. Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, segundo experimento.

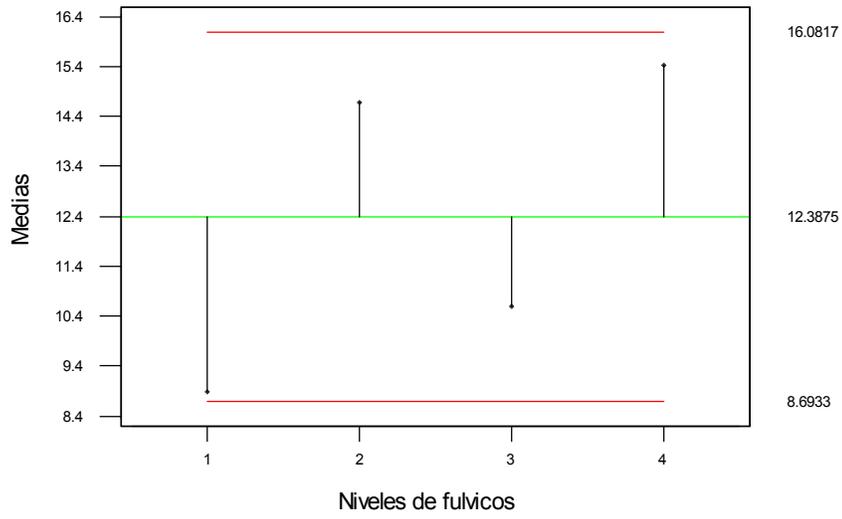
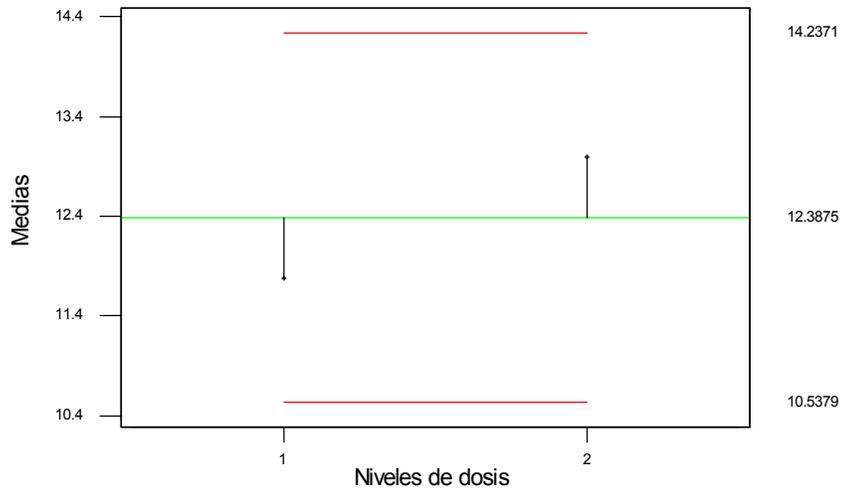


Figura 33. Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, segundo experimento.



Cuadro 22. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre la longitud de raíz. Primer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	3	300.91	300.91	100.30	3.67	0.021 *
Error	36	982.95	982.95	27.30		
Total	39	1283.86				

Cuadro 23. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de raíz. Primer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	15.01	15.01	15.01	0.45	0.507 NS
Error	38	1268.86	1268.86	33.39		
Total	39	1283.86				

Longitud De Tallo

Se presenta en la figura 34 los efectos principales para la variable longitud de tallo. En este segundo muestreo los ácidos fúlvicos de leonardita a una dosis de $0.2 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ y solución nutritiva al 50 % evidenciaron ser estadísticamente significativos, como lo fueron en el primer muestreo (figuras 35, 36 y cuadros 24, 25).

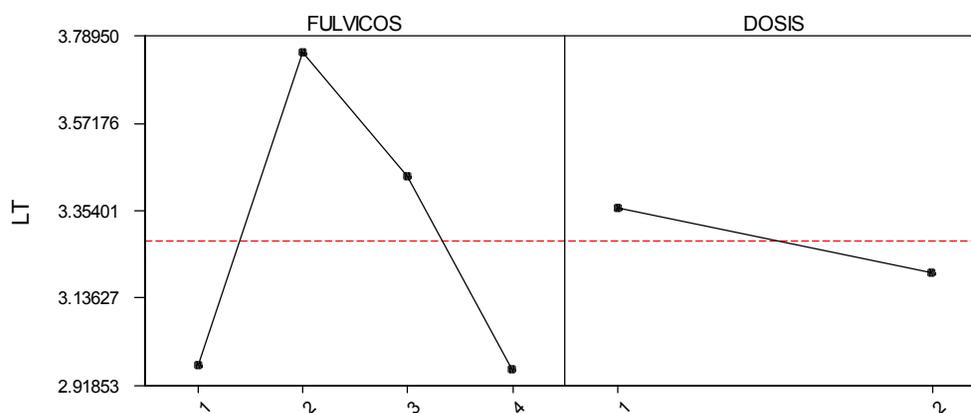


Figura 34. Efectos principales para longitud de tallo, segundo experimento.

Figura 35. Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fúlvicos, segundo experimento.

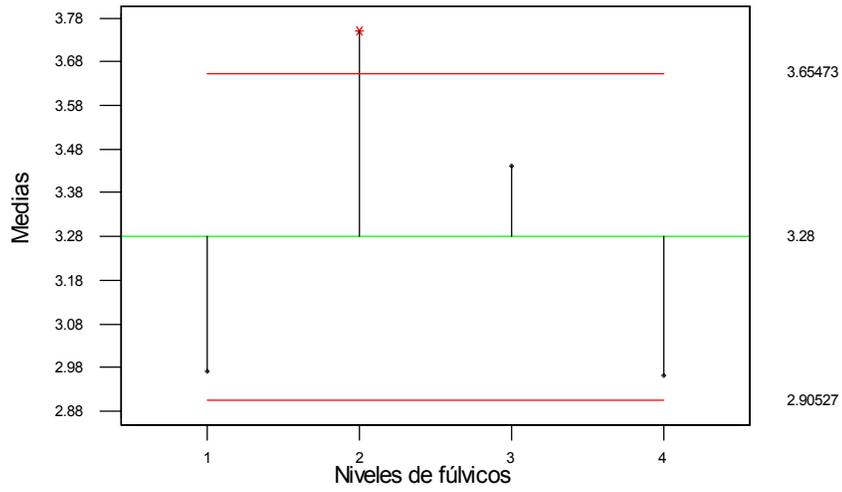
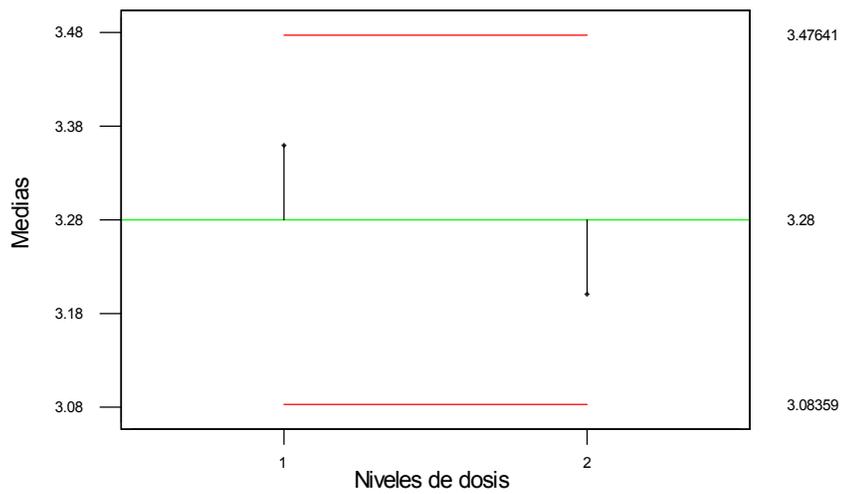


Figura 36. Prueba de medias para longitud de tallo con dosis, segundo experimento.



Cuadro 24. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre la longitud de tallo. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	3	4.4500	4.4500	1.4833	5.28	0.004 **
Error	36	10.1140	10.1140	0.2809		
Total	39	14.5640				

Cuadro 25. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de tallo. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	0.2560	0.2560	0.2560	0.68	0.415 NS
Error	38	14.3080	14.3080	0.3765		
Total	39	14.5640				

Longitud De Raíz

La figura 37 presenta los efectos principales para la variable longitud de raíz. Donde los ácidos fúlvicos de leonardita a $0.2 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ y solución nutritiva al 50 % mostraron ser estadísticamente significativos. Lo anterior se explica en las figuras 38, 39 y cuadros 26, 27.

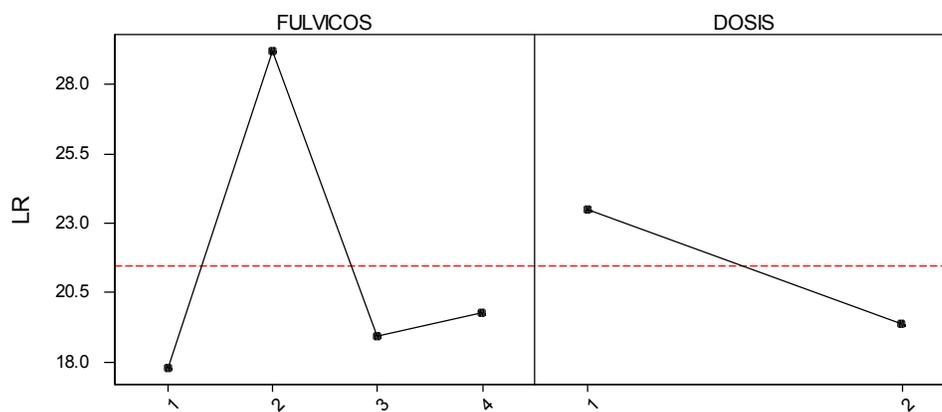


Figura 37. Efectos principales para longitud de raíz, segundo experimento.

Figura 38. Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, segundo experimento.

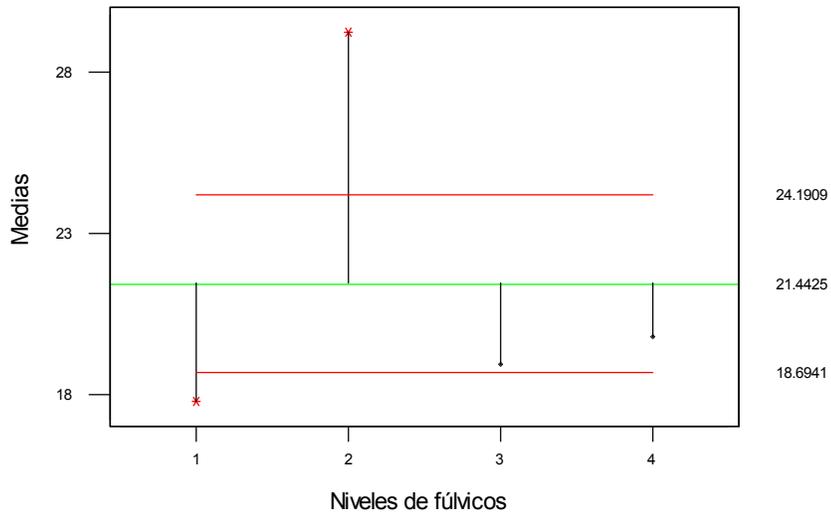
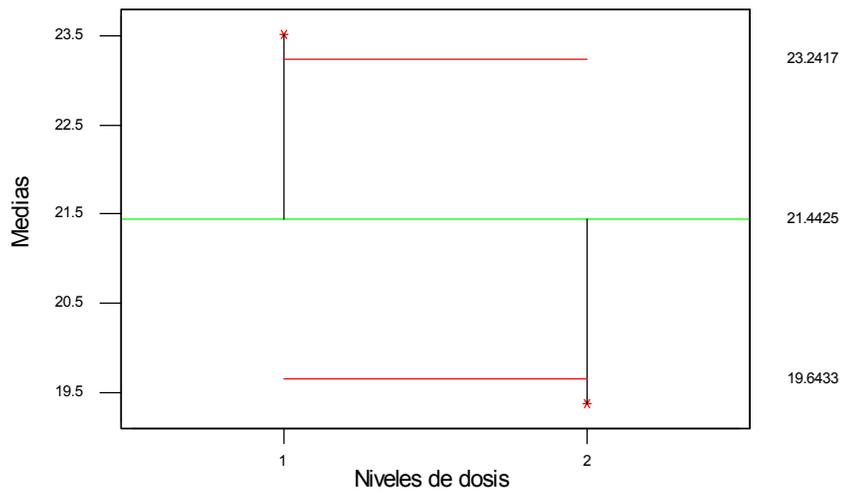


Figura 39. Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, segundo experimento.



Cuadro 26. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre la longitud de raíz. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	3	828.40	828.40	276.13	18.27	0.000 **
Error	36	544.06	544.06	15.11		
Total	39	1372.46				

Cuadro 27. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de raíz. Segundo muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	171.81	171.81	171.81	5.44	0.025 *
Error	38	1200.65	1200.65	31.60		
Total	39	1372.46				

Longitud De Tallo

Para el tercer muestreo los efectos principales se indican en la figura 40, se observa al igual que en los dos muestreos anteriores, a los ácidos fúlvicos de leonardita mas solución nutritiva al 50 % y dosis de $0.2 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ como estadísticamente significativos (figuras 41, 42 y cuadros 28, 29).

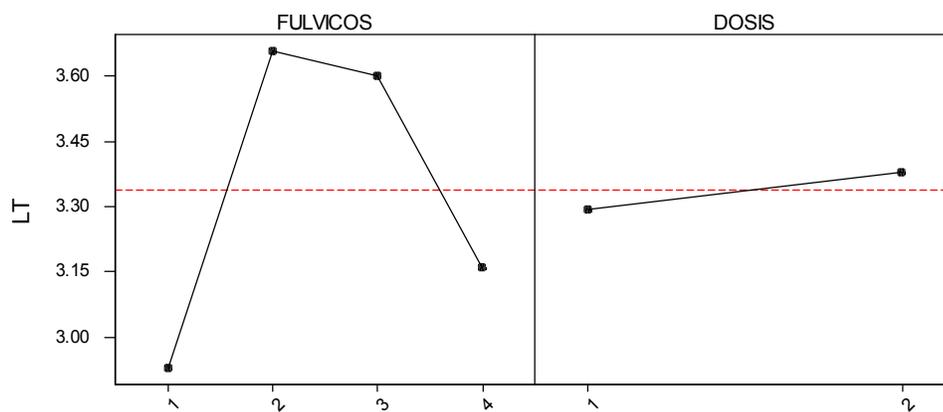


Figura 40. Efectos principales para longitud de tallo, segundo experimento.

Figura 41. Prueba de medias para longitud de tallo con ácidos fúlvicos, segundo experimento.

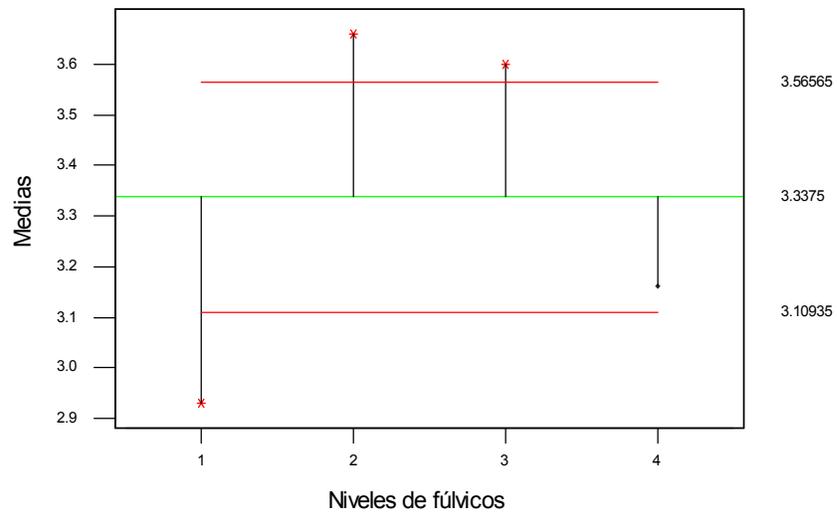
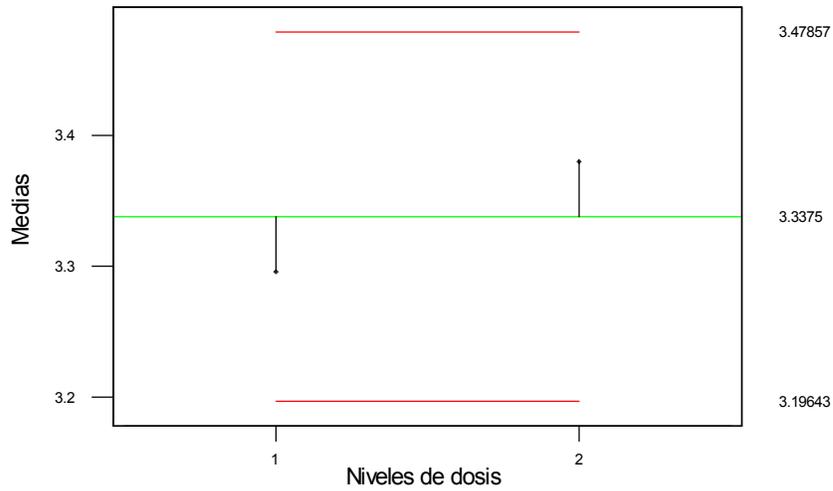


Figura 42. Prueba de medias para longitud de tallo con dosis, segundo experimento.



Cuadro 28. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre la longitud de tallo. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	3	3.7048	3.7048	1.2349	11.86	0.000 **
Error	36	3.7490	3.7490	0.1041		
Total	39	7.4538				

Cuadro 29. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de tallo. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	0.0723	0.0723	0.0723	0.37	0.546 NS
Error	38	7.3815	7.3815	0.1943		
Total	39	7.4538				

Longitud De Raíz

La figura 43 muestra los efectos principales para la variable longitud de raíz. En este tercer muestreo, los ácidos fúlvicos de leonardita mas solución nutritiva al 50 % a una dosis de $0.2 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ mostraron ser estadísticamente significativos (Figuras 44, 45 y Cuadros 30, 31). Esta respuesta se observa en el segundo muestreo.

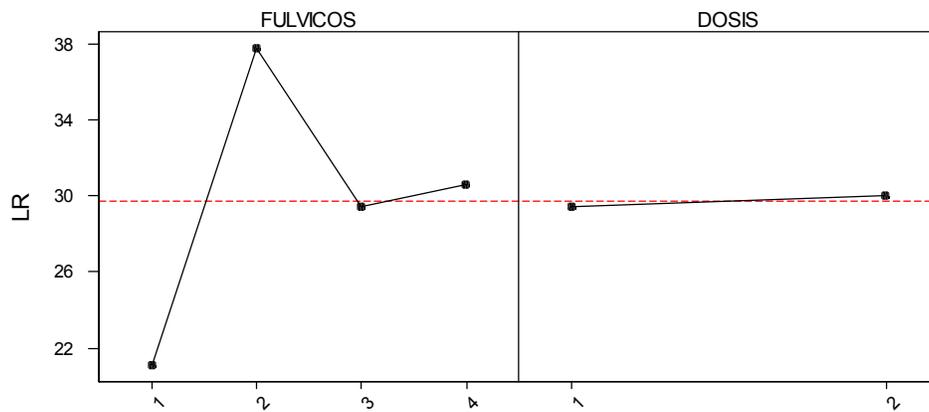


Figura 43. Efectos principales para longitud de raíz, segundo experimento.

Figura 44. Prueba de medias para longitud de raíz con ácidos fúlvicos, segundo experimento.

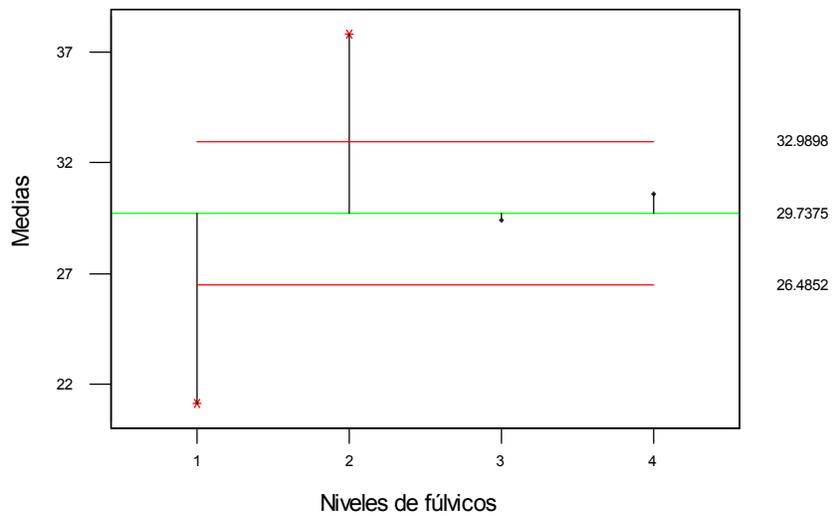
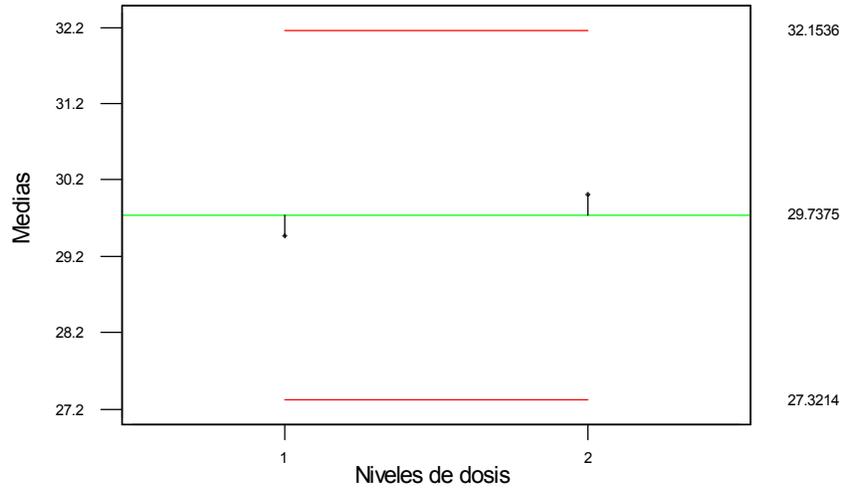


Figura 45. Prueba de medias para longitud de raíz con dosis, segundo experimento.



Cuadro 30. Análisis de varianza para el efecto ácido fúlvico sobre la longitud de raíz. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
FULVICOS	3	1406.29	1406.29	468.76	22.15	0.000 **
Error	36	761.86	761.86	21.16		
Total	39	2168.15				

Cuadro 31. Análisis de varianza para el efecto dosis sobre la longitud de raíz. Tercer muestreo.

Fuente	gl	S. C.	S.C. Adj	C M.	F	P
DOSIS	1	2.97	2.97	2.97	0.05	0.821 NS
Error	38	2165.18	2165.18	56.98		
Total	39	2168.15				

DISCUSIÓN

Longitud de Tallo

Para el primer experimento realizado, esta variable manifestó el aspecto significativo de los ácidos fúlvicos de origen biológico en dosis de $0.4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ y solución nutritiva al 25 % de concentración en las tres tomas de material vegetativo efectuadas. Contrario a este resultado los ácidos fúlvicos de leonardita en dosis de $0.2 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ presentaron niveles superiores a los biológicos en el segundo experimento. El incremento en la longitud de tallo para el primer experimento fue superior en un 30 % y de un 20 % para el segundo experimento.

Coincide esta investigación con Chen y Aviad (1990) al indicar una respuesta superior de las sustancias húmicas y fúlvicas de origen natural, contra aquellas de procedencia comercial . Donde las primeras estimulan el crecimiento de tallos en varias plantas, cuando son aplicadas con soluciones nutritivas a diversas concentraciones,

Longitud de Raíz

La respuesta a la aplicación de ácidos fúlvicos de origen biológico y de leonardita en el crecimiento longitudinal en raíz de plántula de tomate, pone de manifiesto a la dosis aplicada de $0.2 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ con resultados significativos respecto a la aplicación de la dosis a $0.4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$, lo cual corrobora lo expresado por Gumiski, (1983), Ranthan y Schnitzer (1981) , donde el crecimiento es inhibido a concentraciones mayores.

En el segundo experimento los ácidos fúlvicos de leonardita presentaron un incremento superior al 70 % con respecto a los biológicos, para crecimiento de raíz cuando fueron estos aplicados a la par con solución nutritiva al 50 % de concentración. Como lo fue en el primer experimento, la dosis mínima resulto significativa para este segundo experimento. Sladky (1959), menciona tan solo un incremento del 10 % en la longitud de raíz de tomate, donde los ácidos fúlvicos fueron comparados con un testigo.

Área Foliar

El incremento en área foliar durante el primer experimento fue determinado tanto por ácidos fúlvicos biológicos y de leonardita, así como por el tratamiento constituido únicamente por solución nutritiva al 75 % de concentración. En comparación los ácidos fúlvicos de leonardita mostraron niveles de significancia superior en cada uno de los tres muestreos realizados durante el segundo experimento con un 30 % en incremento.

Se puede decir que para el segundo experimento el incremento en el área foliar esta dado por la dosis a $0.2 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ siendo esta la dosis mínima aplicada, coincidiendo con Ranthan y Schnitzer (1981), donde se mostró que las dosis altas inhiben el crecimiento.

CONCLUSIONES

Esta demostrado que la aplicación de ácidos fúlvicos independientemente del origen favorecen el proceso de crecimiento en plantula de tomate, afectando de distinta manera a diferentes partes de la planta. Para longitud de raíz los ácidos fúlvicos de leonardita fueron superiores a los biológicos considerando también a la dosis mínima como superior. Mientras que para la variable longitud de tallo el origen biológico de las sustancias fúlvicas demostró ser significativo en su crecimiento longitudinal, sin ser afectada por la dosis empleada.

Para la variable área foliar en el primer experimento los dos ácidos fúlvicos empleados se mostraron igualmente significativos con la aplicación exclusiva de solución nutritiva. Para el segundo experimento los ácidos fúlvicos de leonardita presentaron un incremento mayor en comparación a los fúlvicos biológicos conforme transcurría el tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acevedo, E. 1975. The growth of maize(*Zea mays L.*) under field conditions as affected by its water relations. Ph. D. Thesis, University of California, Davis.
2. Albuzio, A., Ferrari, G., and Nardi, S. 1986. Effects of humic substances on nitrate uptake and assimilation in barley seedlings. *Can. J. Soil Sci.* 66: 731-736.
3. Aleksandrova, I. V. 1988. Problems of biochemistry of humus formation in the works of M. M. Kononova (dedicated to the 90th birthday anniversary). *Pochvovedeniye*, N°10.

4. Amalfitano, C., Quezada, R. A., Wilson, M. A., and Hanna, J. V. 1995. Chemical composition of humic acids: a comparison with precursor "lignin fraction" litter from different vegetations using spectroscopy techniques. *Soil Sci.* 159: 391-401.
5. ASERCA. 1998. *Claridades Agropecuarias*. Octubre 1998, No 62.
6. Baes, A. U., and Bloom, P. R. 1990. Fulvic acid ultraviolet-visible spectra: influence of solvent and pH. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54(5), 1248-1254.
7. Bidwell, R. G. S. 1979. *Fisiología Vegetal*, Primera edición. AGT, Editor, S. A. Impreso en México.
8. Castañón, C. M. 1993. *Horticultura manejo simplificado*, UACh.
9. Chen, Y., and T. Aviad. 1990. Effects of humic substances on plant growth. 161-186. In P. MacCarthy et al.(ed). *Humic substances in soil and crop sciences: Selected reading*. ASA and SSSa, Madison, Wi.
10. Chen, Y., and Schnitzer, M. 1976. Scanning electron microscopy of a humic acid and a fulvic acid and its metal and clay complexes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 40: 682-686.
11. Chen, Y., Senesi, N., and Schnitzer, M. 1978. Chemical and physical characteristics of humic and fulvic acids extracted from soils of the Mediterranean region. *Geoderma* 20: 87-107.
12. Christensen, B. T. 1986. Straw incorporation and soil organic matter in microaggregates and particle size fractions. *J. Soil Science* 37, 125-135.
13. Dell'Angola, G., and Ferrari, G. 1971. Molecular size and functional groups of humic substances extracted by 0.1M pyrophosphate from soil aggregates of different stability. *J. Soil Sci.* 22: 342-349.

14. Dormaar, J. F. 1972. Chemical properties of organic matter extracted from a number of Ah horizons by a number of methods. *Can. J. Soil Sci.* 52: 67-77.
15. Elgala A.M., Metwally A.J. and Khalil R.A. 1978. The effect of humic acid and Na₂ EDDHA on the uptake of Cu, Fe and Zn by barley in sand culture. *Plant soil*, 49, 41-48.
16. Felbeck, G. T. 1965. Structural Chemistry of Soil Humic Substances. *Advances in Agronomy*, volume 17. Academic Press.
17. Flaig, W., Beutelspacher, H., and Rietz, E. 1975. Chemical Composition and Physical Properties of Humic Substances. In J. Gieseking, *Soil Components*, Springer-Verlag, New York.
18. Ghosh, K. And Schnitzer, M. 1980. Macromolecular structures of humic substances. *Soil Science*. 29: 266-276.
19. Guminski S. 1968 Present-day views on physiological effects induced in plant organisms by humic compounds. *Soviet Soil Science*, 1250-1256.
20. Guminski S., Guminska A. and Sulej J. 1965. Effect of humate, agar-agar and EDTA on the development of tomato seedlings in aerated and non-aerated water cultures. *Journal of Experimental Botany*, 16, 151-162
21. Hatcher, P. G., Schnitzer, M., Dennis, L. W. , and Maciel, G. E. 1981. Aromaticity of humic substances in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45: 1089-1094.
22. Helanova I. And Sladky Z. 1967. The effect of glycine, humus substances and sucrose on the growth of tomato plants *in vitro*. *Biologia Plantarum*, 9, 276-284.
23. Hernando V., Ortega B. C. And Fournier C. 1977. (Study of the action of two types of humic acid on the maize plant). *In Soil Organic Matter*

Studies, Volume 2. Report of IAEA Meeting, Vienna. Pergamon Press, Oxford.

24. Holtzclaw, K. M. , and Sposito, G. 1979. Analytical properties of the soluble, metal complexing fractions in sluge-soil mixtures: IV. Determination of carboxil groups in fulvic acid. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43: 318-323.
25. Kaiser K. And Zech W.1998. Soil dissolved organic matter sorption as influenced by organic and sesquioxide coating and sorbed sulfate. *Soil Sci. Am. J.* 62:129-136
26. Khan, S. U., and Schnitzer, M. 1971. Sephadex gel filtration of fulvic acid: The identification of major components in two low molecular weight fractions. *Soil Sci.* 112:231-238.
27. Kilbertus, L. 1991. *Microbiologie des Sols. Apuntes de Clase.* D. E. A. De Pedologie. INA-PG, Paris, France.
28. Kononova, M. M. 1961. *Soil organic matter, its nature, its role ing soil formation and soil fertility.* Pergamon Press, Oxford.
29. Kononova, M. M., and Bel"chikova, N. P. *Sov. Soil Sci.* 1963. 1112-1121.
30. Khristeva, L. A. And Luk'Yanenko. 1962. Role of physiologically active substances in the soil-humic acids, bitumens and vitamins B, C, P-P and D in the life of plants and their replenishment. *Soviet Soil Science*, 1137-1141.
31. Krosshavn, M., Kögel-Knaber, I., Southon, T. E., and Steinnes, E. 1992. The influence of humus fractionation on the chemical composition of soil organic matter studied by solid-state ¹³CNMR. *Journal of Soil Sci.* 43: 473-483.
32. Kumada, K.1965.

33. Linehan, d. J. 1976. Some effects of a fulvic acid component of soil organic matter on the growth of cultured excised tomato roots. *Soil Biology and Biochemistry*, 8, 511-517.
34. Linehan, D. J. 1977. A comparison of the carboxylic acids extracted by water from an agricultural top soil with those extracted by alkali. *Journal of soil science*, 28, 369-378.
35. Manunza, B. ,Deiana, S., Maddav, V., Gessa, C, and Seeber, R. 1995. Stability constants of metal-humate complex: Titration data analyzed by bimodal Gaussian distribution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59: 1570-1575.
36. Mylonas V. A. and McCants C.b. 1980. Effect of humic and fulvic acids on growth of tobacco. 1. Root initiation and elongation. *Plant and Soil*, 54, 485-490.
37. Moore, T. R., W. De Souza, and J.-F. Koprivnjak. 1992. Controls on the sorption of dissolved organic carbon by soils. *Soil Sci.* 154:120-129
38. Nuez, Rodriguez, F., Tello, R. A., Cuartero, J., y Segura, J. 1996. *El Cultivo del Tomate*. Editorial Aedos. S. A. Primera edición. Barcelona España.
39. O'Donnell, R. W. 1973. The auxin-like effects of humic preparations from leonardite. *Soil Science*, 116: 106-112.
40. Ortega, C. B., Hernando V. And Sanchez C. 1968. Different effects on maize of humic acid extracted from monure or peat. In report IAEA/FAO Meeting Vienna, Pergamon Press, Oxford.
41. Piccolo, A. 1988.

42. Piccolo, A., and Mbagwu, J. S. C. 1990. Effects of different organic waste amendements on soil microaggregates stability and molecular size of humic substances. *Plant and Soil*, 123: 27-37.
43. Piccolo, A., and Stevenson, F. J. 1982. Infrared spectra of Cu²⁺, Pb²⁺, and Ca²⁺ complexes of soil humic substances. *Geoderma*, 27: 195-208.
44. Pokarna V., Lustinec J. And Petru E. 1963. The influence on Na-humate on the respiration of wheat roots and leaves. *Biologia Plantarum*, 5: 265-270.
45. Preston, C. M., and Blackwell, B. A. 1985. Carbon-13 nuclear magnetic resonance for a humic acid and fulvic acid: Signal-to-noise optimization, quantitation, and spin-echo techniques. *Soil Sci.* 139: 88-96.
46. Rojas, G. M. 1995. *Manual de Herbicidas y Fitorreguladores. Aplicados y Uso de Productos Agrícolas*. Editorial UTEHA. Tercera edición. México, D. F.
47. Rauthan B. S. and Schnitzer M. 1981. Effects of soil fulvic acid on the growth and nutrient content of cucumber (Cucumis Sativus) plants. *Plant and Soil*, 63, 491-495.
48. Schnitzer, M. 1978. *Humic Substances: Chemistry and Reactions: in Soil Organic Matter* (Ed.) Schnitzer y Khan. *Soil Organic Matter*. Elsevier, Amsterdam.
49. Schnitzer, M. 1986. Binding of humic substances by soil colloids. In *Interactions of soil minerals with natural organics and microbes* (P. M. Huang and M. Schnitzer, eds.) Spec. Publ. N° 17. Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI.

50. Schnitzer, M. A. 2000. life time perspective on the chemistry of soil organic matter. D. L. Sparks (Ed.) *Advances in Agronomy*, volume 98: 3-58 Academic Press.
51. Schnitzer, M. And Khan, S. U. 1972. *Humic Substances in the Environment*. Dekker, New York.
52. Schnitzer, M. And Khan, S. U. 1978. *Soil Organic Matter*. Elsevier, Amsterdam.
53. Schnitzer, M. And Poapst P. A. 1967. Effects of soil humic compound on root initiation. *Nature*, London, 213, 598-59
54. Schnitzer, M. and Riffaldi, R., 1973. *Soil Sci.*, 115: 349-356
55. Schnitzer, M. And Schulten, H-R. 1989. Pyrolysis-soft ionization mass spectrometry of aliphatics extracted from a soil clay and humic substances. *Sci. Total Environ.* 81/82: 19-30
56. Schnitzer, M. And Schulten, H-R. 1995. Analysis of organic matter in soil extracts and whole soils by pyrolysis-mass spectrometry. (Ed.) D.L. Sparks. *Advances in Agronomy*, volume 55: 167-217. Academic Press.
57. Schnitzer, M., and Skinner, S. I. M. 1962. Organo-Metallic interactions in soil: 1. Reactions between a number of metal ions and the organic matter of a podzol Bh horizon. *Can. J. Of Soil Sci.* Oct. 22: 86-93.
58. Schnitzer, M., Kodama, H., and Schulten, H.R. 1994. Mineral effects on the pyrolysis-field ionization mass spectrometry of fulvic acid. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58: 1100-1107.

59. Schulten, H.-R., and Leinweber, P. 1995. Dithionite- Citrate- Bicarbonate- Extractable Organic Matter in Particle-Size Fractions of a Haplaquoll. *Soil Sci. Am. J.* 59: 1019-1029.
60. Shulten, H.-R., and schnitzer, M. (1993). A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften* 80, 29-30.
61. Senesi, N. 1994. Spectroscopic studies of metal ion-humic substance complexation in soil. 15th World Congress of Soil Science. Vol. 3^a. Comission II. Acapulco, México.
62. Sladky Z. 1959. The effect of extracted humus substances on growth of tomato plants. *Biologia Plantarum*, 1, 142-150.
63. Smidova. M. 1960. The influence of humus acid on the respiration of plant roots. *Biologia Plantarum*, 2, 152-164.
64. Sorge, C., Schnitzer, M., Leinweber, P., and Schulten, H-R. 1994. Molecular-chemical characterization of organic matter in whole soil and particle-size fractions of a Spodosol by pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Soil Sci.* 158: 189-203.
65. Sposito, G., Holtzclaw, K. M. ,and Bahan, J. 1976. Analytical properties of the soluble, metal-complexing fractions in sludge-soil mixtures: II. Comparative structural chemistry of fulvic acid. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 40: 691-698.
66. Stevenson, F. J. 1982. *Humus Chemistry*. Wiley, New York.
67. Stevenson, F. L., and Schnitzer, M. 1981. Transmission electron microscopy of extracted fulvic and humic acids. *Soil Sci.* 133: 197-185.
68. Stevenson, I. L., and Schnitzer, M. 1982. Transmission electron microscopy of extracted fulvic and hmic acids. *Soil Sci.* 133: 179-185.

69. Tan, R.H. and Giddens, J. E. 1972. Molecular weights and spectral characteristics of humic and fulvic acids. *Geoderma* 8, 221-229
70. Tan, R.H. 1978. Effects of humic and fulvic acids on release of fixed potassium. *Geoderma*, 21: 67-74
71. Tyler, L. D. and McBride M.B. 1982. Influence of Ca, pH, and humic acid on Cd uptake. *Plant and soil*, 64, 259-262.
72. Tipping, E. 1981. The adsorption of humic substances by iron oxides. *Geochim. Cosmochim. Acta* 45:191-199
73. Vaughan D. and Malcom. 1988. Soil organic matter and biological activity. In *developments in plant and soil sciences*. Volume 16. Martinus Nijhoff/ Dr W. Junk Publishers.
74. Vaughan D. and McDonald I. R. 1971. Effects of humic acid on protein synthesis and ion uptake in beet discs. *Journal of Experimental botany*, 22, 400-410.
75. Wilson, M. A., Heng, S., Goh, K. M., Pugmire, R. J., and Grant, D. M. 1983. Studies of litter and acid insoluble soil organic matter fractions using ¹³C-cross polarization nuclear magnetic resonance spectroscopy with magic angle spinning. *Journal of Soil Sci.*, 34: 83-97.