

REVISIÓN: POSIBILIDADES DE BIOESTIMULACIÓN CON ÁCIDOS HÚMICOS EN PLANTAS UTILIZADAS PARA FITORREMEDIACIÓN

REVIEW: VIABILITY OF HUMIC ACIDS BIOSTIMULATION ON PLANTS USED FOR PHYTORREMEDIACTION

Michel Caballero Castaño ¹, Nelson Osvaldo Valero Valero ^{2*}, Manuel Pantoja Guerra ³.

1 Universidad de La Guajira, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Grupo de investigación DESTACAR. Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-5007-7204>. mmcaballero@uniguajira.edu.co

2 Universidad de La Guajira, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Grupo de investigación DESTACAR. Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-9186-6245>. nvalerov@uniguajira.edu.co

3 Universidad Popular del Cesar, Departamento de Microbiología, Grupo de investigación en Microbiología Agrícola y Ambiental. Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-0485-7605>. manuelpantojag@unicesar.edu.co

*Autor para correspondencia

Recibido: Febrero 10 de 2022 Aceptado: Abril 20 de 2022

RESUMEN

Los ácidos húmicos son una fracción de la materia orgánica humificada con efectos bioactivos que influyen en la fisiología de las plantas, promueven el desarrollo del sistema radical, estimulan el metabolismo primario y secundario, promueven la fotosíntesis, la respiración celular y mejoran la respuesta de las plantas frente a condiciones de estrés; por lo anterior han sido ampliamente estudiados como agentes bioestimulantes, principalmente en plantas de interés agrícola. Sin embargo, no se han explorado opciones de bioestimulación de plantas con otros propósitos, por ejemplo la fitorremediación. El objetivo de esta revisión es analizar evidencias científicas para proponer la bioestimulación con ácidos húmicos como una estrategia para aumentar la remoción de contaminantes a través de plantas fitorremediadoras. En este documento se relacionan aspectos de la estructura y bioactividad de los ácidos húmicos, los conceptos de fitorremediación y bioestimulación, y se analiza como el efecto bioactivo de los ácidos húmicos sobre las plantas podría influir en las diferentes estrategias de fitorremediación. La información analizada permite concluir que los AH se podrían utilizar como pre acondicionadores de plantas que serán utilizadas para la remoción de contaminantes en agua y suelo, a través de fitorremediación, lo cual se puede convertir en una estrategia biotecnológica promisorio para coadyuvar en procesos de tratamiento de ambientes contaminados.

Palabras clave: sustancias húmicas; biorremediación; contaminación ambiental.

ABSTRACT

Humic acids are a humified organic matter fraction that exhibit bioactive effects, which influence plant physiology, enhance root system development, stimulate primary and secondary metabolism, promote photosynthesis, cellular respiration and improve plant responses under stress conditions; therefore, they have been widely studied as biostimulant agents, mainly in plants of agricultural interest. However, plant biostimulation options for other purposes, for example phytoremediation, have not been explored. The objective of this review is to analyze scientific evidence that leads to propose biostimulation with humic acids as a strategy to increase the removal of contaminants through phytoremediation plants. This document relates aspects of the structure and bioactivity of humic acids, the concepts of phytoremediation and biostimulation, and analyzes how the bioactive effect of humic acids on plants could influence the different phytoremediation strategies. The information analyzed can conclude that the AH will be used as plant pre-conditioners that will be used for removal of contaminants in water and soil through phytoremediation, which can become a promising biotechnological strategy to assist in treatment processes of contaminated environments.

Keywords: humic substances; bioremediation; environmental pollution.

INTRODUCCIÓN

Las sustancias húmicas (SH) son sustancias orgánicas polielectrolíticas complejas, organizadas en una estructura supramolecular muy polidispersa que contiene dominios con grupos funcionales de tipo carbonilo ($-C=O$), carboxilo ($C(=O)OH$), hidroxilo ($C-OH$), sulfhidrilo ($-SH$), como también grupos funcionales de aminas ($R-NH_2$) y amidas ($R-CO-NR_2$), los cuales, junto a otras propiedades estructurales, confieren la propiedad de actuar análogamente a las hormonas vegetales (Nardi *et al.*, 2021), regulando diferentes procesos fisiológicos en la planta.

Así, el efecto mejor descrito de las SH es que se comportan como las auxinas en las plantas; induciendo la actividad H^+ -ATPasa en la membrana plasmática de las células de la raíz, lo cual promueve el alargamiento celular, responsable del crecimiento y proliferación de raíces y pelos radicales, lo que provoca cambios notables en la arquitectura radical y el aumento del área superficial radical (Canellas & Olivares, 2014), en consecuencia se incrementa la capacidad de absorción de nutrientes y agua, así como el volumen efectivo de suelo explorado.

Los ácidos húmicos (AH), no solo ocasionan efectos fisiológicos sobre el sistema de raíces, sino que también consiguen estimular el metabolismo primario y secundario (Nardi *et al.*, 2021), regulan positivamente el metabolismo de carbohidratos, ácidos grasos, aminoácidos, nucleótidos y proteínas; también promueven diferentes procesos asociados a la eficiencia fotosintética y la respiración celular; por lo anterior promueven integralmente el crecimiento y desarrollo vegetal; así mismo mejoran la respuesta adaptativa de las plantas frente al estrés biótico y abiótico, dado que promueven la producción de metabolitos secundarios como antioxidantes y solutos compatibles (Canellas & Olivares, 2014). Debido a estos efectos se ha extendido su utilización como bioestimulantes para mejorar el rendimiento de la cosecha en diferentes cultivos de importancia agrícola, entre ellos se destacan el arroz (*Oryza sativa* L.), maíz (*Zea mays* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Huertas *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2019; Machiani *et al.*, 2019; Reyes *et al.*, 2020).

Debido a que los estudios de fitoestimulación con AH se han centrado en plantas de interés agronómico, se ha dejado de lado el hecho de que la evidencia científica sobre sus efectos también se podría aplicar desde una perspectiva ambiental, para mejorar los procesos de fitorremediación, así, tales efectos podrían contribuir con la eficiencia en la descontaminación mediada por las plantas en medios acuáticos y terrestres.

La fitorremediación es una tecnología que busca disminuir la concentración de contaminantes en el medio a través de la actividad de las plantas; a pesar de ser una de las estrategias de tratamiento biológico más aplicadas en el tratamiento de medios acuáticos y terrestres contaminados, a menudo presenta limitaciones en su efectividad (León 2017; Montenegro *et al.*, 2019; Ning *et al.*, 2021). Para lograr la eficiencia de la remoción de contaminantes a través de la fitorremediación, se requiere que las plantas tengan buena tasa de crecimiento y producción de biomasa; también es necesario que cuenten con un buen desarrollo del sistema radical, dado que los contaminantes del suelo y el agua interactúan principalmente con la raíz (Paredes, 2017; Wang *et al.*, 2021).

Es conveniente el estudio de nuevos enfoques para mejorar el desempeño de las plantas utilizadas en la tecnología de fitorremediación. Esta perspectiva puede sustentarse desde el punto de vista que la bioestimulación con AH proporciona a las plantas mayor capacidad para crecer, producir biomasa y aumentar el sistema radical, a su vez, estas condiciones son las que necesitan las plantas fitorremediadoras para llevar a cabo de forma eficiente la descontaminación de ambientes acuáticos y terrestres.

Naturaleza y estructura de los ácidos húmicos

La materia orgánica del suelo (MOS) es el conjunto de sustancias naturalmente resultante de la descomposición y transformación de restos biológicos, dichas sustancias son muy variables en peso molecular (100-600 kDa); integrando principalmente dos grupos de sustancias; en primer lugar están las estructuras moleculares que pueden ser simples, como carbohidratos, lípidos, proteínas y sus productos de descomposición, estas moléculas se definen como la fracción lábil de la MOS, debido a la facilidad de consumo por parte de la microbiota edáfica (Trevisan *et al.*, 2010 ; Kopecký *et al.*, 2021). En segundo lugar está el grupo de moléculas de mayor complejidad estructural, que corresponden a segmentos alifáticos, núcleos aromáticos y poliaromáticos, hidroxiquinonas, grupos funcionales de carácter polar como el hidroxilo y el fenol, grupos funcionales carboxílicos como el ácido carboxílico, el éster y la cetona; estas moléculas son más resistentes al consumo por la microbiota, están organizadas en complejos supramoleculares polidispersos originados en los procesos de humificación, por lo cual se define como materia orgánica humificada (MOH), o más genéricamente como SH. (García *et al.*, 2018; Dou *et al.*, 2020).

Las SH son vitales para mantener el buen funcionamiento del suelo debido a su interacción entre iones metálicos, óxidos e hidróxidos de Fe y Al, compuestos minerales arcillosos, y grupos funcionales de materia orgánica que intervienen en la formación de agregados hidrosolubles e insolubles en agua (Angst *et al.*, 2021; Trevisan *et al.*, 2010). La agregación y estabilidad del suelo se debe a las características poliméricas y de adsorción de las SH, las cuales actúan como amortiguador ante los cambios de pH, ejercen una influencia considerable en la estructura del suelo y se encuentran directamente relacionadas con la capacidad de intercambio catiónico, además los grupos funcionales ácidos presentes en las SH mejoran la solubilización del fósforo en los suelos, lo que aumenta la biodisponibilidad de este elemento para las plantas, mejorando la fertilidad del suelo (García *et al.*, 2018 ; Yoon *et al.*, 2020).

La descripción de la composición molecular de las SH ha cambiado significativamente durante las últimas décadas, la caracterización de estas sustancias sigue siendo un desafío, aún se desconocen aspectos sobre su estructura, composición y reactividad, debido a su complejidad estructural, heterogeneidad, variabilidad geográfica y los límites de los técnicas analíticas actualmente disponibles (análisis elemental, espectroscopia ultravioleta-visible, espectroscopia infrarroja, resonancia magnética nuclear, termochemolisis, cromatografías de alta eficiencia, entre otras) (Calderín *et al.*, 2016 ; Yoon *et al.*, 2020).

Actualmente las SH se describen como organizaciones supramoleculares poliméricas, heterogéneas polidispersas, de moderado y alto peso molecular (500–10.000.000 Da) (Hansima *et al.*, 2022); dichas sustancias proceden de la descomposición microbiana de la materia orgánica (MO), específicamente de residuos microbianos, animales y

vegetales; la lenta oxidación bioquímica de grandes moléculas, origina moléculas jóvenes de menor tamaño que no se mineralizan por completo, estas son dinámicas, sin forma definida y experimentan una transformación continua (Mielnik *et al.*, 2021), esto se debe a la capacidad que tienen las SH para participar en reacciones de óxido – reducción, debido a la gran cantidad de grupos funcionales con capacidad oxidativa (fenólicos, quinonas y semiquinonas) que tiene en su estructura, los cuales le confieren mayor estabilidad a través de uniones simples como: puentes de hidrogeno, fuerzas de Van der Waals y enlaces iónicos, estos enlaces permiten la unión entre regiones hidrófilas e hidrófobas que se auto ensamblan, originando la reorganización constante de las SH (Mazzei & Piccolo, 2012 ; Baldotto & Borges, 2014).

Para su estudio, las SH se han dividido en tres fracciones que se definen operativamente de acuerdo con su solubilidad en ácido y base, estas fracciones son: las huminas, ácidos fúlvicos y AH (Martínez *et al.*, 2013; López *et al.*, 2014). Las huminas tienen un peso molecular de 100.000 a 10.000.000 Da, estas son insolubles en agua, los AF son de bajo peso molecular (1.000–10.000 Da) y se solubilizan a cualquier pH, también están los AH con peso molecular de 10.000 a 100.000 Da, los cuales son solubles en soluciones con valores de pH superior a 2 (Hansima *et al.*, 2022).

Los AH se describen como un conjunto de moléculas orgánicas heterogéneas, reunidas en agregados orgánicos, estabilizadas por enlaces de hidrogeno e interacciones hidrofóbicas (Seguel *et al.*, 2019). Martínez *et al.*, (2013) describen a los AH como la fracción de las SH más estable, la cual posee restos estructuras aromáticas, poli aromáticas, alifáticas, cadenas polimetilénicas, ácidos grasos, compuestos esteroides y residuos de biopolímeros de carbono, como la lignina, con alta funcionalidad. Las fracciones de diferente tamaño de estos arreglos moleculares se estabilizan a pH neutro al unirse mediante enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y enlaces electrostáticos unidos por metales (Piccolo *et al.*, 2021). Los AH son la fracción más estudiadas de las SH, son solubles en condiciones alcalinas, pero no en condiciones acidas, del 25 al 45% de los componentes de los AH, son compuestos aromáticos, otros compuestos como amino azúcares, aminoácidos y compuestos alifáticos, se incorporan en sus estructuras aromáticas (Kukuls *et al.*, 2019).

Los ácidos húmicos en descontaminación ambiental

Debido a la capacidad que tienen los AH para movilizar y transformar contaminantes del medio como: sustancias orgánicas, pesticidas y metales pesados (Pensini *et al.*, 2018; Chianese *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021), muchos autores han informado su gran utilidad en la descontaminación de ambientes acuáticos y terrestres (de Melo *et al.*, 2016). Por ejemplo, Zingaretti *et al.*, (2018) Comprobaron la eliminación de clorofenol en aguas contaminadas artificialmente, gracias a la utilización de AH extraídos de compost, los cuales actuaron como sorbentes de estos compuestos orgánicos hidrófobos, los AH se utilizaron en concentraciones de 100, 500 y 1.000 mg/L, siendo la concentración de 1.000 mg/L, la más efectiva al eliminar cerca del 15% del contaminante del agua.

Rasouli *et al.*, (2019) evaluaron el efecto de AH en la descontaminación de suelos enriquecidos con plomo (Pb) en presencia de la planta *Artemisia absantium*, en donde utilizaron diferentes concentraciones de AH (0, 100 y 200 mg/kg⁻¹) en el suelo, concluyeron que los AH funcionan como quelantes de Pb que incrementan la

biodisponibilidad de este metal para la planta, por lo que aumentan la absorción y el depósito de Pb en raíces y brotes; así mismo los AH en concentración de 200 mg/kg⁻¹ disminuyen los efectos negativos del estrés en la planta, reflejado en el descenso del porcentaje de prolina (54,5%) en plantas expuestas a altos niveles de Pb (1000 mg/kg⁻¹).

También se han modificado nanopartículas magnéticas de quitosano con AH para lograr la eliminación de Uranio (U), la combinación de estas partículas mostró gran eficiencia de eliminación de este contaminante a través de sorción (> 95%) (Basu *et al.*, 2019). Al tomar nanopartículas de hematita recubiertas con AH, con el fin de medir la adsorción de dos contaminantes orgánicos hidrófobos (pentaclorofenol ionizable y fenantreno no ionizable), concluyeron que las nano partículas de hematita recubiertas con AH aumentan la capacidad de sorción de pentaclorofenol y fenantreno, esto se evidenció con la reducción de la polaridad y cambios en los grupos funcionales de la superficie de estas nanopartículas (Xu *et al.*, 2019).

Entonces las SH suelen interactuar con los contaminantes y tienen la capacidad para enlazarse con diversas sustancias, participando en gran cantidad de reacciones de oxidación-reducción; esto debido a que poseen en su estructura una amplia variedad de grupos funcionales fenólicos, quinonas y semiquinonas, los cuales se relacionan positivamente con la capacidad oxidativa (Baldoto & Borges, 2014).

Algunos procesos químicos y físicos naturales o inducidos, tales como: cambios en el pH, reacciones con otras sustancias, cambios en la temperatura, exposición a diferentes tipos de radiación, entre otros, ionizan vía protonación o deprotonación la estructura química y el estado de óxido-reducción de contaminantes orgánicos e inorgánicos. De esta manera se generan moléculas ionizadas positiva o negativamente, las cuales son estabilizadas, vía complementariedad de cargas, con la estructura química de las sustancias húmicas, debido a su naturaleza poli-electrolítica (Dercová *et al.*, 2007; Murphy & Zachara, 1995).

Los contaminantes pueden ser adsorbidos en la superficie de las SH mediante la formación de enlaces iónicos, de hidrógeno y covalentes, transferencia de carga o electricidad, mecanismos de transferencia de electrones, fuerzas de Van der Waals e intercambio de ligandos; en este escenario, los contaminantes son inmovilizados y su biodisponibilidad en los ecosistemas se reduce considerablemente (Gevao *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2009). Este fenómeno de adsorción entre contaminantes orgánicos y fracciones de la materia orgánica humificada, fue aplicado por Díaz-Fuenmayor *et al.*, (2017), quienes evaluaron el efecto de la adición de carbón lignito humolítico y bacterias solubilizadoras de carbón sobre la biodisponibilidad de dicloro difenil tricloroetano (DDT) en un suelo contaminado bajo condiciones controladas; concluyeron que las SH derivadas de este carbón, así como su configuración física, ocasiona la disminución significativa de la concentración de DDT en la fracción acuosa del suelo, en un porcentaje de 58,86%.

Por otro lado, la polaridad de muchos contaminantes como hidrocarburos aromáticos policíclicos como el pireno, o hidrocarburos clorados como el DDT, les impide ser depurados vía fitorremediación, debido a que su baja solubilidad en agua los hace poco disponibles para la planta; entonces, la polaridad de los dominios hidrofóbicos de las SH facilita la solubilidad de estos compuestos, en consecuencia, la probabilidad de ser absorbidos por los sistemas radiculares de plantas utilizadas comúnmente en procesos

de fitorremediación aumenta considerablemente (Conte *et al.*, 2005; Ke *et al.*, 2009; Stehlickova *et al.*, 2009 ; Whitfield *et al.*, 2010).

Bioactividad y mecanismos de acción de los ácidos húmicos sobre la fisiología de las plantas

Además del papel que tienen los AH en las propiedades del suelo y en la descontaminación, por sí mismos, de medios acuáticos y terrestres, como se describió anteriormente, también tienen efectos bioactivos sobre las plantas. Así, regulan la actividad celular, promueven el metabolismo, actúan como análogos de hormonas como las auxinas, citoquininas y giberelinas, lo cual se traduce en el desarrollo de respuestas fisiológicas que conducen al favorecimiento del crecimiento, desarrollo, producción de biomasa y rendimiento vegetal (Jannin *et al.*, 2012; Veobides *et al.*, 2018; Seguel *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2021).

En este aspecto, la fracción de AH se caracteriza por su efecto bioestimulante, biofertilizante y biorregulador, por lo cual influyen positivamente en el desempeño de las plantas (Alarcón *et al.*, 2018). A través del efecto biofertilizante mejoran la absorción de macronutrientes y micronutrientes, a través del efecto bioestimulante aumentan el crecimiento de raíces y atenúan el efecto del estrés abiótico cuando las plantas se desempeñan bajo condiciones adversas, y a través del efecto biorregulador regulan positivamente el metabolismo (Olivares *et al.*, 2015; Veobides *et al.*, 2018).

Debido a su acción estimulante sobre las plantas, los AH son utilizados con éxito en la agricultura (Ekin, 2019), se ha probado su efecto en una variedad de especies, en las cuales consistentemente se demuestra la influencia en la captación de nutrientes, incremento del desarrollo de variables morfométricas, la producción de biomasa y el rendimiento de la cosecha. En la tabla 1 se presenta un listado de plantas de cultivo en las cuales ha sido probado el efecto fitoestimulante de los AH (Pantoja *et al.*, 2016; Pérez *et al.*, 2017; Rivero & Solórzano, 2019; Seguel *et al.*, 2019 ; Reyes *et al.*, 2020).

También se ha reportado que los AH inducen la expresión de genes que codifican enzimas como la anhidrasa carbónica que participa en el transporte de carbono inorgánico, aumentando el número de cloroplastos, la fotosíntesis neta, la fijación de carbono y la síntesis de almidón; inducen la expresión de genes que codifican inhibidores de proteasas, las cuales limitan la degradación de clorofila y aumentan la vida útil de las hojas (Jannin *et al.*, 2012).

Por otro lado se han utilizado AH para quelar partículas de óxido de zinc y mejorar la nutrición de las plantas a través de una liberación lenta y continua de estos nano micronutrientes según las necesidades de la planta (Rahale *et al.*, 2021). Así mismo se ha descrito la capacidad que tienen los AH para promover la absorción de NO_3^- , NH_4^+ y nutrientes como N, P, S y Fe a través de las raíces, lo cual se debe a que los exudados orgánicos de las raíces fraccionan la superestructura de los AH permitiendo que las subunidades biológicamente activas accedan a las raíces, desencadenando en la membrana plasmática la actividad H^+ -ATPasa, que estimula la absorción de nutrientes (Huertas *et al.*, 2016).

También se ha documentado el potencial de los AH como “estresores positivos” de las plantas; estos, en concentraciones adecuadas interactúan con las raíces y provocan el aumento moderado de los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) –ROS (H₂O₂, O₂-), ciertos niveles acumulados de ROS actúan como moléculas señalizadoras y estimulan otras moléculas que contribuyen con el crecimiento de la planta; esto se evidencia cuando las raíces entran en contacto con los AH y disminuye la actividad fotoquímica de la planta, luego de la caída inicial de la fotosíntesis, se da un aumento en el rendimiento fotosintético, aumentando el metabolismo del nitrógeno y el crecimiento de la planta (Van Tol *et al.*, 2021).

Tabla 1 Ejemplos de Fitoestimulación de plantas de cultivo con ácidos húmicos.

Especie	Efectos de la fitoestimulación
Achicoria (<i>Cichorium intybus</i> L.)	- Mejora del rendimiento y propiedades fitoquímicas como el contenido total de compuestos fenólicos y flavonoides (Gholami <i>et al.</i> , 2018).
Maíz (<i>Zea mays</i> L.)	- Incremento significativo en el área foliar (Pantoja <i>et al.</i> , 2016) y la superficie total de raíces (Canellas <i>et al.</i> , 2002; Nunes <i>et al.</i> , 2019).
Trigo (<i>Triticum</i> spp.)	- Mayor producción de biomasa y aumento del rendimiento (Seguel <i>et al.</i> , 2019).
Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	- Mayor acumulación de biomasa en la planta, tallos, hojas y raíces y mejora en la captación de nutrientes por las plantas (Reyes <i>et al.</i> , 2020).
Zanahoria (<i>Daucus carota</i> L.)	- Aumento de la biomasa y el desarrollo de las variables morfométricas de las plantas (Pérez <i>et al.</i> , 2017).
Ají dulce (<i>Capsicum annuum</i> L.)	- Incremento en la germinación y emergencia de semillas, mayor altura y diámetro de tallos, incremento de la biomasa fresca y seca de las plántulas e incremento en la producción de frutos por planta (Rivero & Solorzano, 2019).
Arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	- Aumento de la eficiencia fotosintética, mayor producción de biomasa (Huertas <i>et al.</i> , 2020). - Modificación de la entrada de NO ³⁻ o NH ⁴⁺ , incrementando la nutrición de las plantas (Huertas <i>et al.</i> , 2016).
Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	- Aumento de la concentración de nitrato y crecimiento de los brotes (Mora <i>et al.</i> , 2010).
Canola (<i>Brassica napus</i> L.)	- Estimulación de la absorción de nitrógeno y acumulación de sulfato y aumento del número de cloroplasto por célula (Jannin <i>et al.</i> , 2012).
Soya (<i>Glycine max</i> L.)	- Mayor tolerancia al estrés por salinidad e incremento de la biomasa seca radical (Matuszak <i>et al.</i> , 2017).
Frijol común	- Aumento en la altura de plantas, del peso fresco y seco de los granos y vainas y el número y tamaño de vainas (Aguilar, 2012)

(<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	
Fresa (<i>Fragaria x ananassa</i> Duch.)	- Reducción de los efectos adversos del estrés por salinidad, mayor acumulación de materia seca del sistema radical, aumento de la tasa fotosintética, aumento de la transpiración, mayor intensidad en la coloración del fruto, mayor acumulación de antocianinas (Soppelsa <i>et al.</i> , 2019).
Frijol caupi (<i>Vigna unguiculata</i> L.)	- Aumento de la acumulación de biomasa foliar y radical, aumento del peso seco y fresco, de la acumulación de N en las hojas y de la nodulación por rizobios (Valero <i>et al.</i> , 2021).
Caña de azúcar (<i>Saccharum officinarum</i> L.)	- Aumento del diámetro y longitud del tallo (de Oliveira <i>et al.</i> , 2018).
Avena (<i>Avena sativa</i> L.)	- Aumento del rendimiento y la calidad del forraje, mayor rendimiento de materia seca, aumento del número de panículas, aumento del número de granos por planta (Alabdulla, 2019).
Maní (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	- Aumento del rendimiento de la planta (Centeno, 2015)
Lechuga Batavia (<i>Lactuca sativa</i>)	- Aumento en la concentración de los contenidos foliares de Zn, Cu, Fe y aumento del rendimiento de la planta (Suárez, 2021).

Fuente: <https://www.doi.org/10.5281/zenodo.6724352>

Los AH incrementan la secreción de carbono orgánico por la raíz, a través de la exudación de moléculas utilizadas como fuente de energía que estimula el incremento de microorganismos rizosféricos (Jannin *et al.*, 2012), estas moléculas exudadas también mejoran la condición física del suelo al promover la formación de agregados y con ello la retención de agua, nutrientes y oxígeno, esto a la vez conlleva a estimular la proliferación de microorganismos, dado que se mejoran las condiciones de su hábitat; la proliferación de microorganismos benéficos en la rizósfera incrementa la concentración enzimática y hormonal del suelo, lo cual retroalimenta el desempeño de las plantas, al mejora el crecimiento y la eficiencia del uso de los recursos (Gholami *et al.*, 2018).

Canellas *et al.*, (2002) demostraron que los AH extraídos de vermicompost aumentan la proliferación de sitios de emergencia y el crecimiento de raíces en plantas de maíz. Nuñez *et al.*, (2019) reafirmaron que los AH influyen en el aumento del número, diámetro y longitud de raíces, además, evidenciaron una mayor expresión de proteínas asociadas al metabolismo energético. Pantoja *et al.*, (2016), también evaluaron el efecto de los ácidos húmicos, al estimular plantas de maíz con AH obtenidos por solubilización alcalina y solubilización bacteriana de carbón, en respuesta registraron incrementos significativos en el área foliar y la superficie total de raíces.

Los cambios en las raíces son los efectos más notorios de la acción bioestimulante de los AH en las plantas, influyen en la formación de nuevas raíces, la elongación radicular, en el aumento general de la superficie radicular (Ekin, 2019), e intervienen en la exudación de ácidos orgánicos de la raíz (Canellas *et al.*, 2008), generando cambios en las poblaciones microbianas del suelo, como también en la disponibilidad y asimilación de nutrientes (Baldoto & Borges, 2014).

Todos estos efectos de los AH en las plantas se explican por su estructura supramolecular, la cual define sus propiedades tales como hidrofiliidad/hidrofobicidad, alifaticidad/aromaticidad, recalcitrancia, labilidad, polaridad, y estas propiedades definen la función que conlleva a la bioactividad (Calderín *et al.*, 2016).

Por otra parte, se ha evidenciado que la conformación micelar de las SH ocasiona la formación de micrositios donde quedan atrapadas formas activas de auxinas y otras fitohormonas o pequeñas moléculas con actividad similar a las auxinas (como ácidos carboxílicos y aminoácidos) las cuales estimulan en las plantas las bombas H^+ ATPasa⁻ (Scaglia *et al.*, 2017), de esta forma se estimula el crecimiento de las plantas, a lo cual se le denomina “efecto like- auxin” (Pantoja *et al.*, 2016; Huertas *et al.*, 2016).

Canellas *et al.*, (2015) explican que el incremento de la actividad H^+ -ATPasa en la membrana celular genera energía y un gradiente electroquímico protónico que activa el transporte secundario de iones, facilitando el transporte de nitratos y el crecimiento de la planta. Cuando se activa la bomba H^+ -ATPasa se liberan iones H^+ hacia el apoplasto, lo cual reduce el pH y activa enzimas y proteínas que dan inicio al ablandamiento y la elongación de la pared celular, a este mecanismo se le denomina “crecimiento ácido de la raíz” (Canellas & Olivares, 2014; Nardi *et al.*, 2016).

Cuando la supraestructura de los AH entra en contacto con la raíz, los ácidos orgánicos exudados pueden fraccionar la supramoléculas y exponer los grupos funcionales responsables de la bioactividad, para que establezcan contacto con la superficie celular, desencadenando el señalamiento que conlleva a su actividad biológica, o bien, tras el fraccionamiento se liberan los compuestos hormonales y similares, quedando libres para entrar en contacto con la superficie de la raíz y llevar a cabo su actividad biológica.

Por otro lado, también se ha descrito la sobre expresión en la síntesis de ácido indol acético y otras fitohormonas en sistemas radiculares por efecto del tratamiento con ácidos húmicos (Mora *et al.*, 2012). Lo cual podría desencadenar subsecuentemente los efectos previamente descritos sobre el crecimiento de las plantas, la proliferación de raíces y en la permeabilidad celular.

Fitorremediación

La fitorremediación es un conjunto de estrategias de degradación, transformación, estabilización e inactivación de contaminantes a través de las plantas, especialmente a través de la actividad asociada a los sistemas radicales; se basa en la interacción física o metabólica de contaminantes con la raíz, la materia orgánica circundante y los microorganismos que habitan la rizósfera. Es una herramienta sencilla, rentable y respetuosa con el ambiente; eficiente para remover una amplia gama de contaminantes orgánicos e inorgánicos (Ayala *et al.*, 2018; Debiec *et al.*, 2020; Méndez *et al.*, 2020; Gao *et al.*, 2021; Kurade *et al.*, 2021).

La fitorremediación de varios contaminantes se lleva a cabo mediante los mecanismos de fitoextracción, fitoestabilización, fitovolatilización, rizodegradación, fitodegradación, y fitoestimulación, los cuales se dan total o parcialmente, involucrando el sistema radical y se describen a continuación (kurade *et al.*, 2021).

En la fitoextracción las plantas utilizan las raíces para absorber metales pesados y otros contaminantes del ambiente, estos son transportados por la corriente transpiratoria y se

acumulan en brotes y hojas; la fitoestabilización hace referencia a la inmovilización de metales pesados, a través de la absorción, acumulación y precipitación en las raíces, gracias a la producción de sustancias quelantes y demás compuestos estabilizadores y adsorbentes de la contaminación, secretados por la planta o los microorganismos habitantes de la rizosfera (Wang *et al.*, 2021)

En el mecanismo de fitovolatilización, la planta absorbe contaminantes por la raíz y luego estos pasan a las hojas, a través de las cuales son liberados al aire en la corriente transpiratoria; la rizodegradación, consiste en la metabolización de contaminantes por parte de los microorganismos rizosféricos; ambos mecanismos son ideales para tratar contaminantes orgánicos (Gabriele *et al.*, 2021).

En la fitodegradación las plantas y microorganismos asociados tienen la capacidad de degradar contaminantes orgánicos, hasta convertirlos en compuestos inofensivos, en este proceso los contaminantes luego de ser absorbidos por las raíces, son metabolizados dentro de los tejidos vegetales y se producen enzimas como la deshalogenasa y la oxigenasa, que ayudan a catalizar la degradación (Bernal, 2014).

En la fitoestimulación, los exudados de las raíces de las plantas (azúcares simples, aminoácidos, compuestos alifáticos y aromáticos, nutrientes, enzimas y oxígeno), estimulan el crecimiento de microorganismos de la rizosfera capaces de degradar contaminantes (Arias *et al.*, 2010).

Cada uno de estos mecanismos depende del sistema radical para llevar a cabo distintos procesos como: la inmovilización, degradación, absorción, volatilización y acumulación de diversos contaminantes en varios órganos de la planta (Paredes, 2017). Así mismo el sistema radical tiene un papel indispensable en ambientes contaminados ya que además sus características se pueden utilizar para monitorear diferentes condiciones ambientales en el medio como: el contenido de agua, los niveles de nutrientes y la presencia de elementos tóxicos (Meng *et al.*, 2019).

Importancia del sistema radical en los procesos de fitorremediación

La eficiencia de la fitorremediación depende de la tasa de crecimiento de las plantas y el rendimiento en biomasa (Wang *et al.*, 2021), pero también depende en gran medida del sistema radical y su arquitectura (Paredes, 2017). A través de las raíces, las plantas crean la corriente transpiratoria que transporta agua y sustancias disueltas desde el suelo, o sustrato en el que las plantas crecen, hacia todos los tejidos y finalmente a la atmósfera, de esta manera pueden absorber nutrientes necesarios para su crecimiento; a través de las raíces, las plantas también pueden desarrollar mecanismos que utiliza para censar condiciones e interactuar con el ambiente; mediante la rizodeposición pueden regular la dinámica poblacional y la actividad metabólica de los microorganismos que se desarrollan en la rizósfera (Oliveros *et al.*, 2009 ; Betterman *et al.*, 2021).

Por lo anterior, las raíces pueden determinar en gran medida el éxito de los procesos de fitorremediación, dado que pueden aprovechar su fisiología para transportar diversos contaminantes del medio externo hacia el interior de la planta (Zhu *et al.*, 2020). Al mismo tiempo la población de microorganismos que se desarrolla en la rizosfera puede regular la absorción de contaminantes del medio, su degradación, transformación o inactivación (Lin *et al.*, 2021), este microbioma biorremediador puede en todo momento estar siendo estimulado por los exudados de las raíces de las plantas.

La interacción entre los contaminantes y el sistema radical es fundamental para el éxito de los tratamientos de fitorremediación, a mayor acumulación de biomasa en raíces, mayor será la eficiencia de la fitorremediación; si se utilizan plantas con un área de superficie radical aumentada, mayor será la fitodegradación de contaminantes (Oniosun *et al.*, 2019).

Por ejemplo, el aumento de número de pelos en la raíz, le confiere una mayor capacidad de tolerar, acumular y eliminar diversos contaminantes, a través de varios mecanismos como la captación, transformación, conjugación y compartimentación de contaminantes en vacuolas y / o paredes celulares; también aumenta la degradación de contaminantes a través de la liberación de exudados radiculares y enzimas como las peroxidasas y las lacasas, que eliminan algunos contaminantes orgánicos. (Agostini *et al.*, 2013).

Por su parte las raíces primarias y laterales, también cumplen funciones importantes en la fitorremediación, Wu *et al.*, (2020), describen que las raíces laterales recién emergidas y el ápice de las raíces primarias, son sitios principales de captación y concentración de contaminantes como Cd, lo cual se debe al desarrollo incompleto de suberina que facilita la entrada de agentes bióticos y abióticos, que mediante la vía del apoplasto y promueven la hiperacumulación en la planta.

En la tabla 2 se presentan algunas plantas utilizadas en fitorremediación y características de su sistema radical. La mayoría de estas plantas cuentan con un área superficial radical reducida, lo cual puede ser una limitante para la eficiencia de los procesos de fitorremediación, entonces sería conveniente mejorar esta característica con la finalidad de hacer más eficiente el proceso de descontaminación.

Tabla 2 Plantas utilizadas en fitorremediación y características del sistema radical.

Monocotiledóneas		Dicotiledóneas	
Especie	Característica de la raíz	Especie	Característica de la raíz
Lirio acuático (<i>Eichhornia crassipes</i>)	Raíces adventicias que carecen de pelos radicales (Mahmood <i>et al.</i> , 2005)	Pira brava (<i>Amaranthus spinosus</i>)	Constituida por uno o varios pivotes gruesos ramificados (Quispe, 2021).
Col de agua (<i>Pistia stratiotes</i>)	Raíz fasciculada con pelos radicales sumergida en agua (Santa Rosa <i>et al.</i> , 2019).	Verdolaga (<i>Portulaca oleracea</i>)	Presenta una raíz primaria con raíces fibrosas secundarias (Ortiz, 2010).
lenteja de agua (<i>Lemna minor</i>)	Una sola raíz delgada de color blanco (Arroyave, 2004).	Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	Raíz pivotante fuerte, con raíces laterales densas y fibrosas, alcanza profundidades hasta de 1,5m (Fornaris, 2007).
Enea (<i>Typha latifolia</i>)	La raíz está en forma de penachos delgados (Moore <i>et al.</i> , 1999)	Ricino (<i>Ricinus communis</i>)	Raíz principal que alcanza hasta 1m de profundidad, numerosas raíces laterales que permanecen en la capa superficial (Guerron & Meneses, 2009).

Fuente: <https://www.doi.org/10.5281/zenodo.6724348>

Perspectivas sobre usos de los AH como fitoestimulantes en fitorremediación

Los AH ejercen un efecto directo en el desarrollo del sistema radical de las plantas, tienen la capacidad de aumentar el crecimiento, proliferación de pelos radicales y la emergencia de raíces laterales, además influyen positivamente en la captación de nutrientes y favorece la interacción de bacterias en la rizosfera (Huertas *et al.*, 2016; Ekin 2019; Huertas *et al.*, 2020).

Entonces el efecto bioactivo de los AH sobre las raíces puede ser de utilidad aplicada para ayudar a mejorar el desempeño de las plantas en los procesos de fitorremediación. Puede entenderse que si la bioestimulación con AH sobre las especies vegetales usadas en fitorremediación conduce a un mejor desarrollo, entonces se logrará influir en los procesos de fitorremediación. Porque aumentaría la absorción y degradación de contaminantes asociada a la raíz, como también la adhesión de los microorganismos que los metabolizan (Ayala *et al.*, 2018; Aioub *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2021).

Awad *et al.*, (2021) Agregaron AH en suelos contaminados con metales pesados (Pb, Zn y Cu) en el cual cultivaron *Amaranthus tricolor* L. para reducir la carga de metales pesados en el suelo; describieron que los AH aumenta el peso seco de *A. tricolor* y al mismo tiempo aumentan el factor de remediación del suelo.

Ke *et al.*, (2003) Adicionaron AH (6.67% w/w AH: sedimento) en microcosmos de manglares para eliminar el pireno de los sedimentos contaminados, al finalizar el experimento, encontraron que la reducción del contaminante fue menor en los microcosmos modificados con HA, dado que el pireno se unió con la materia orgánica y disminuyó la capacidad del microcosmos del manglar para eliminar el pireno.

También se ha documentado la potencialidad que tienen los AH para la fitominería de metales pesados, se ha demostrado que la aplicación de pequeñas cantidades de AH en el medio, aumenta la absorción de metales pesados por parte de la raíz y la transferencia de estos al tallo (Rasouli *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2021).

Otro posible mecanismo para favorecer la fitorremediación mediante el tratamiento de las plantas con AH es utilizar los AH por sus cualidades para desencadenar el “priming químico”, este efecto, descrito por Canellas *et al.*, (2020), consiste en la previa exposición de la planta ante un agente químico, con el objetivo de hacer un preacondicionamiento, para que la planta active los mecanismos de respuesta ante futuras condiciones que puedan provocar estrés biótico y abiótico; por ejemplo, se ha evaluado el uso de AH como pre acondicionadores de plantas expuestas posteriormente a condiciones perjudiciales como ambientes con alta salinidad, sequía y presencia de contaminantes como metales pesados, el pretratamiento de las plantas con AH condujo a una respuesta adaptativa, a nivel transcripcional, donde en fue modulada positivamente la expresión de genes involucrados las rutas de señalización hormonal del ácido abscísico, giberelinas y auxinas, así como genes involucrados en la respuesta para reducir el estrés generado por los contaminantes.

De esta manera, las plantas utilizadas en fitorremediación de ambientes contaminados, bajo condiciones ambientales normales o generadoras de estrés adicional, podrían adquirir mayor capacidad de tolerar tanto el estrés como la toxicidad en si misma causada por el contaminante.

CONCLUSIÓN

En esta revisión se analiza un adecuado volumen de evidencia que permite sugerir la bioestimulación con AH como estrategia de precondicionamiento para mejorar el desempeño de plantas utilizadas en fitorremediación, entendiendo que gracias a las propiedades multifuncionales descritas para los AH, las plantas pueden generar un conjunto de respuestas positivas en el crecimiento del sistema radical, el metabolismo, la interacción con los microorganismos rizosféricos y la modulación de respuestas de tolerancia ante el estrés causado por la contaminación.

LITERATURA CITADA

- Agostini, E., Talano, M., González, P., Wevar, A., & Medina, M. (2013). Application of hairy roots for phytoremediation: what makes them an interesting tool for this purpose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97: 1017–1030. <https://doi.org/10.1007/s00253-012->
- Aguilar Marín, M. B. (2012). *Efectos de la aplicación de ácidos húmicos en dos variedades del cultivo de fréjol Phaseolus vulgaris L.* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Machala]. Repositorio digital Universidad Técnica de Machala <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/625>
- Aioub, A., Li, Y., Qie, X., Zhang, X., & Hu, Z. (2019). Reduction of soil contamination by cypermethrin residues using phytoremediation with *Plantago major* and some surfactants. *Environmental Sciencels Europe*, 31(1): 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0210-4>
- Alabdulla, S. A. (2019). Effect of foliar application of humic acid on fodder and grain yield of oat (*Avena sativa L.*). *Research on Crops*, 20(4): 880-885. DOI: 10.31830/2348-7542.2019.130
- Alarcón, A., Barreiro, P., Boicet, T. Ramos, M & Morales, J. (2018). Influencia de ácidos húmicos en indicadores bioquímicos y físico-químicos de la calidad del tomate. *Revista Cubana de Química*, 30 (2): 243-255. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212018000200006&lng=es&nrm=iso
- Angst, G., Mueller, K. E., Nierop, K. G., & Simpson, M. J. (2021). Plant-or microbial-derived? A review on the molecular composition of stabilized soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 156, <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108189>
- Arias, S. A., Betancur, F. M., Gómez, G., Salazar, J. P., & Hernández, M. L. (2010). Fitorremediación con humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales porcinas. *Informador Técnico (Colombia)*. 74: 12 - 22. <https://doi.org/10.23850/22565035.5>

- Arroyave, María del Pilar. (2004). La lenteja de agua (*Lemna minor* L.): una planta acuática promisoría. *Revista EIA*, (1): 33-38. ISSN 1794-1237. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372004000100004&lng=en&nrm=iso
- Awad, M., El-Desoky, M. A., Ghallab, A., Kubes, J., Abdel-Mawly, S. E., Danish, S., & Sabagh, A. (2021). Ornamental Plant Efficiency for Heavy Metals Phytoextraction from Contaminated Soils Amended with Organic Materials. *Molecules*, 26(11), 3360. doi: 10.3390/molecules26113360
- Ayala, R., Calderon, E., Rascon, J., & Collazos, R. (2018). Fitorremediación de aguas residuales domésticas utilizando las especies *Eichhornia crassipes*, *Nymphoides humboldtiana* y *Nasturtium officinale*. *Revista de Investigación en Agroproducción Sustentable*, 2(3): 48-53. <http://dx.doi.org/10.25127/aps.20183.403>.
- Baldotto, M., & Borges, L. (2014). Ácidos húmicos. *Revista Ceres* [online], 61: 856-881. <https://doi.org/10.1590/0034-737x201461000011>
- Basu, H., Saha, S., Viveck, M., & Kumar, R. (2019). Novel hybrid material humic acid impregnated magnetic chitosan nano particles for decontamination of uranium from aquatic environment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(3). DOI:10.1016/j.jece.2019.103110
- Bernal, F. (2014). Phyto-remediation in soils restoration: a general vision. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 5(2): 245-258.
- Bettermann, A., Zethof, J. H., Babin, D., Cammeraat, E. L., Solé-Benet, A., Lázaro, R., & Vogel, C. (2021). Importance of microbial communities at the root-soil interface for extracellular polymeric substances and soil aggregation in semiarid grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 159: 108301.
- Calderín, A., Ambrosio, L., Pereira, M., Castro, R., García, J., Zonta, E., Goncalves, F., & Louro, R. (2016). Structure-Property-Function Relationship in Humic Substances to Explain the Biological Activity in Plants. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep20798>
- Canellas, L. & Olivares, F. (2014). Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chem. Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 1(3): 1- 11. <https://doi.org/10.1186/2196-5641-1-3>
- Canellas, L. P., Canellas, N. O., Irineu, L. E., Olivares, F. L., & Piccolo, A. (2020). Plant chemical priming by humic acids. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 7(1): 1-17. <https://doi.org/10.1186/s40538-020-00178-4>
- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia horticultrae*, 196: 15-27. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.013>

- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Okorokova, A. L., & Façanha, A. R. (2002). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant physiology*, 130(4): 1951-1957. DOI: 10.1104/pp.007088
- Canellas, L. P., Teixeira Junior, L. R. L., Dobbss, L. B., Silva, C. A., Medici, L. O., Zandonadi, D. B., & Façanha, A. R. (2008). Humic acids crossinteractions with root and organic acids. *Annals of Applied Biology*, 153(2): 157-166. DOI:10.1111/j.1744-7348.2008.00249.x
- Centeno, L. E. (2015). *Respuesta de dos variedades de frejol (Phaseolus vulgaris L.) a la aplicación de tres ácidos húmicos en el valle de Moquegua*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/1750>
- Chianese, S., Fenti, A., Iovino, P., Musmarra, D., & Salvestrini, S. (2020). Sorption of organic pollutants by humic acids: A review. *Molecules*, 25(4): 918. <https://doi.org/10.3390/molecules25040918>
- Conte, P., Agretto, A., Spacciani, R., Piccolo, A. (2005). Soil remediation: humic acids as natural surfactants in the washings of highly contaminated soils. *Environmental Pollution*, 135(3): 515-522. DOI: 10.1016/j.envpol.2004.10.006.
- de Melo, B., Lopez, F., & Andrade, M. (2016). Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Materials Science and Engineering*: 62: 967–974. DOI: 10.1016/j.msec.2015.12.001
- de Oliveira, R., Baldotto, M. A., Andrade, M. A., Baldotto, L. E. B., & Oliveira, H. P. D. (2018). Performance of pre-sprouted sugarcane seedlings in response to the application of humic acid and plant growth-promoting bacteria. : *Ciências Agrárias*, 39(3): 1365-1370. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n3p1365>
- Debiec, K., Krucon, T., Piatkowska, K., Drewniak, L. (2020). Enhancing the plants growth and arsenic uptake from soil using arsenite-oxidizing bacteria. *Environmental Pollution*, 264. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114692
- Dercová, K., Sejková, Z., Skokanová, M., Barančíková, G., & Makovníková, J. (2007). Bioremediation of soil contaminated with pentachlorophenol (PCP) using humic acids bound on zeolite. *Chemosphere*, 66 (5): 783-790. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.06.061
- Díaz-Fuenmayor, K. J., Pantoja-Guerra, M., Torres-Palma, R. A., & Valero, N. (2017). Changes on the bioavailability of DDT in soil by addition of lignite and coal solubilizing bacteria. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33(2), 259-268. <https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.02.07>.
- Dou, sen.,U., Shan, J., Song, X., Cao, R. Wu, M., Chenglin, L. I., & Guan, S. (2020). Are humic substances soil microbial residues or unique synthesized compounds? A perspective on their distinctiveness. *Pedosphere*, 30(2), 159-167. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(20\)60001-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(20)60001-7)

- Dubach, P., & Metha, N. (1963). The chemistry of soil humic substances. *Soils Fertil.*26:293–300. [https://doi.org/10.1016/S0166-2481\(08\)70123-5](https://doi.org/10.1016/S0166-2481(08)70123-5)
- Ekin, Z. (2019). Integrated use of humic acid and plant growth promoting rhizobacteria to ensure higher potato productivity in sustainable agriculture. *Sustainability*, 11(12): 3417. <https://doi.org/10.3390/su11123417>
- Fornaris, G. J. (2007). *Características de la planta 2*. Conjunto Tecnológico para la Producción de Tomate de Ensalada. (Publicación 166). Estación experimental agrícola Universidad de Puerto Rico.
- Gabriele, I., Race, M., Papirio, S., & Esposito, G. (2021). Phytoremediation of pyrene-contaminated soils: A critical review of the key factors affecting the fate of pyrene. *Journal of Environmental Management*, 293. DOI: 10.1016/j.jenvman.2021.112805
- Gao, J. J., Peng, R. H., Zhu, B., Tian, Y. S., Xu, J., Wang, B. & Yao, Q. H. (2021). Enhanced phytoremediation of TNT and cobalt co-contaminated soil by AfSSB transformed plant. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 220. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112407
- García, A., Combatt, E., & Palencia, M. (2018). Estudio estructural de la humina y sus interacciones con ácidos húmicos mediante espectroscopia de infrarrojo medio con transformada de Fourier. *Journal of Science with Technological Applications*, 4. 28-39
- Gevao, B., Semple, K., & Jones, K. (2000). Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution*, 108 (1): 3-14. DOI: 10.1016/s0269-7491(99)00197-9
- Gholami, H., Saharkhiz, MJ., Fard, FR., Ghani, A., & Nadaf, F. (2018). Humic acid and vermicompost increased bioactive components, antioxidant activity and herb yield of Chicory (*Cichorium intybus* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 14: 286-292.
- Guerron, J.J., & Meneses, C. A. (2009). *Evaluación agronómica de tres variedades de higuera (Ricinus communis) en las condiciones del corregimiento de La Rejoya, municipio de Popayán*. [Tesis de pregrado, Universidad del Cauca]. Repositorio Universidad del Cauca <http://repositorio.unicauca.edu.co:8080/xmlui/handle/123456789/722>
- Hansima, M. K., Jayaweera, A. T., Ketharani, J., Ritigala, T., Zheng, L., Samarajeewa, D. R.,... & Weerasooriya, R. (2022). Characterization of humic substances isolated from a tropical zone and their role in membrane fouling. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107456>
- Huertas, O. C., Azevedo, L. A., Ferreira, L. M., Sperandio, J., da Rocha, A., García, L., Dobbs, R., Berbara, S., de Sousa, M., & Fernandes, M. S. (2016). Humic acid differentially improves nitrate kinetics under low- and high-affinity systems and alters the expression of plasma membrane H⁺-ATPases and nitrate transporters in rice. *Annals of Applied Biology*, 170(1): 89–103. DOI: 10.1111/aab.12317

- Huertas, O. C., Azevedo, L. A., Filho, D., Ferreira, L., García, A., Van Tol, T., Zonta, E., Pereira, M. & Fernandes, M. (2020). Response surface modeling of humic acid stimulation of the rice (*Oryza sativa* L.) root system. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 67: 1-14. DOI: 10.1080/03650340.2020.1775199
- Jannin, L. *et al.* (2012). Microarray analysis of humic acid effects on *Brassica napus* growth: Involvement of N, C and S metabolisms. *Plant Soil*, 359: 297–319. DOI:10.1007/s11104-012-1191-x
- Ke, L., Bao, W., Chen, L., Wong, Y., & Yee, N. (2009). Effects of humic acid on solubility and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid media and mangrove sediment slurries. *Chemosphere*, 76 (8); 1102-1108. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.04.022
- Ke, L., Wong, W., Wong, A., Wong, H., Wong, Y., & Tam, N. (2003). Negative effects of humic acid addition on phytoremediation of pyrene-contaminated sediments by mangrove seedlings. *Chemosphere*, 52(9); 1581-1591. DOI: 10.1016/S0045-6535(03)00498-3
- Kononova, M. (1961). *Soil organic matter. Its Nature, Its Role in Soil Formation and in Soil Fertility*. Pp, 450. Pergamon Press, New York. 19610604629
- Kopecký, M., Peterka, J., Kolář, L., Konvalina, P., Maroušek, J., Váchalová, R., & Tran, D. K. (2021). Influence of selected maize cultivation technologies on changes in the labile fraction of soil organic matter sandy-loam cambisol soil structure. *Soil and Tillage Research*, 207, <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104865>
- Kukuļs, I., Kļaviņš, M., Nikodemus, O., Kasparinskis, R., & Brūmelis, G. (2019). Changes in soil organic matter and soil humic substances following the afforestation of former agricultural lands in the boreal-nemoral ecotone (Latvia). *Geoderma Regional*, 16. <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2019.e00213>
- Kurade, M. B., Ha, Y. H., Xiong, J. Q., Govindwar, S. P., Jang, M., & Jeon, B. H. (2021). Phytoremediation as a green biotechnology tool for emerging environmental pollution: A step forward towards sustainable rehabilitation of the environment. *Chemical Engineering Journal*, 415: 12904. Q1, IF 13.273.
- León Romero, J. A. (2017). Una Mirada a la Fitorremediación en Latinoamérica. [Trabajo de grado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia]. Repositorio Universidad Nacional Abierta y a Distancia <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/13866>
- Li, R., Wen, B., Zhang, S., Pei, Z., & Shan, X. (2009). Influence of organic amendments on the sorption of pentachlorophenol on soils. *J Environ Sci*. 21(4):474-80. DOI: 10.1016/s1001-0742(08)62294-9
- Lin, H., Liu, C., Li, B., & Dong, Y. (2021). *Trifolium repens* L. regulated phytoremediation of heavy metal contaminated soil by promoting soil enzyme activities and beneficial rhizosphere associated microorganisms. *Journal of Hazardous Materials*, 402: 123829. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.123829

- Liu, M., Wang, C., Wang, F., & Xie, Y. (2019). Maize (*Zea mays*) growth and nutrient uptake following integrated improvement of vermicompost and humic acid fertilizer on coastal saline soil. *Applied Soil Ecology*, 142: 147-154. DOI:10.1016/J.APSOIL.2019.04.024
- López, R., González, G., Vázquez, R., Olivares, E., Vidales, J., Carranza, R., & Ortega, M. (2014). Metodología para obtener ácidos húmicos y fúlvicos y su caracterización mediante espectrofotometría infrarroja. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(8): 1397-1407. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014001001397&lng=es&nrm=iso
- Machiani, M., Rezaei-Chiyaneh, E., Javanmard, A., Maggi, F., & Morshedloo, M. (2019). Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed yield and quali-quantitative production of the essential oils from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in intercropping system under humic acid application. *Journal of Cleaner Production*, 235: 112-122. DOI:10.1016/j.jclepro.2019.06.241
- Mahmood, Q., Siddiqi, M. R., Islam, E. U., Azim, M. R., Zheng, P., & Hayat, Y. (2005). Anatomical studies on water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) under the influence of textile wastewater. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 6(10), 991–998. <https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B0991>
- Martínez, C., Bravo, I., & Martin, F. (2013). Composición molecular de ácidos húmicos evaluada mediante pirólisis-cromatografía de gases-masas e hidrólisis térmica asistida y metilación, en suelos altoandinos–Colombia. *Revista colombiana de química*, 42(1): 22-29. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/44408>
- Matuszak, R., Bejger, R., Cieśla, J., Bieganowski, A., Koczańska, M., Gawlik, A., & Gołębiowska, D. (2017). Influence of humic acid molecular fractions on growth and development of soybean seedlings under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 83(3): 465-477. DOI:10.1007/s10725-017-0312-1
- Mazzei, P., & Piccolo, A. (2012). Quantitative Evaluation of Noncovalent Interactions between Glyphosate and Dissolved Humic Substances by NMR Spectroscopy. *Environ. Sci. Technol*, 46 (11): 5939–5946. DOI: 10.1021/es300265a
- Méndez, N. L., Parrado, C., & Henríquez, L. (2020). *Procesos de fitorremediación en suelos contaminados con cadmio: Revisión de Literatura*. [Trabajo de grado, Escuela agrícola panamericana]. <http://hdl.handle.net/11036/6760>
- Meng, F., Xiang, D., Zhu, J., Li, Y., & Mao, C. (2019). Molecular mechanisms of root development in rice. *Rice*, 12(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12284-018-0262-x>
- Mielnik, L., Hewelke, E., Weber, J., Oktaba, L., Jonczak, J., & Podlasiński, M. (2021). Changes in the soil hydrophobicity and structure of humic substances in sandy soil taken out of cultivation. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 319. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107554>

- Montenegro, S. P., Pulido, S. Y., & Vallejo, L. F. C. (2019). *Prácticas de biorremediación en suelos y aguas. Sello Editorial UNAD Universidad Nacional Abierta y a Distancia*. (1.^a edición). Disponible en <https://doi.org/10.22490/notas.3451>
- Moore, M.T., Huggett, D.B., Huddleston, G.M., Rodgers J.H., Cooper, C.M. (1999). Herbicide effects on *Typha latifolia* (Linneaus) germination and root and shoot development. *Chemosphere*, 38(15), 3637-3647. DOI: 10.1016/s0045-6535(98)00561-x
- Mora, V., Bacaicoa, E., Zamarreño, A, Aguirre, E., Garnica, M., Fuentes, M., & García-Mina, J. (2010). Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. *Journal of Plant Physiology*. 167(8): 633-642. DOI: 10.1016/j.jplph.2009.11.018
- Mora, V., Baigorri, R., Bacaicoa, E., Zamarreno, A., & García, J. (2012). The humic acid-induced changes in the root concentration of nitric oxide, IAA and ethylene do not explain the changes in root architecture caused by humic acid in cucumber. *Environmental and Experimental Botany*, 76: 24-32. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2011.10.001
- Murphy, E., & Zachara, J. (1995). The role of sorbed humic substances on the distribution of organic and inorganic contaminants in groundwater. *Geoderma*. 67 (1–2): June 1995, 103-124. [https://doi.org/10.1016/0016-7061\(94\)00055-F](https://doi.org/10.1016/0016-7061(94)00055-F)
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., & Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*, 73: 18-23. DOI: 10.1590/0103-9016-2015-0006
- Nardi, S., Schiavon, M., & Francioso, O. (2021). Chemical Structure and Biological Activity of Humic Substances Define Their Role as Plant Growth Promoters. *Molecules*. 26: 2256. <https://doi.org/10.3390/molecules26082256>
- Ning, W., Li, W., Pi, W., Xu, Y., Cao, M., & Luo, J. (2021). Effects of decapitation and root cutting on phytoremediation efficiency of *Celosia argentea*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 215. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112162>
- Nunes, R. O., Domiciano, G. A., Alves, W. S., Melo, A. C. A., Nogueira, F. C. S., Canellas, L. P., & Soares, M. R. (2019). Evaluation of the effects of humic acids on maize root architecture by label-free proteomics analysis. *Scientific reports*, 9(1): 12019. DOI: 10.1038/s41598-019-48509-2
- Olivares, F.L., Oliveira, N., Carriello, R., & Canellas, L.P., (2015). Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promotingbacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes. *Scientia Horticulturae*, 183: 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.11.012>

- Oliveros, A. D. J., Macías, F. A., Fernández, C. C., Marín, D., & Molinillo, J. M. (2009). Exudados de la raíz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas. *Química nova*, 32: 198-213. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100035>
- Oniosun, S., Harbottle, M., Tripathy, S., & Cleall, P. (2019). Plant growth, root distribution and non-aqueous phase liquid phytoremediation at the pore-scale. *Journal of environmental management*, 249, 109378. DOI: 10.1016/j.jenvman.2019.109378
- Ortiz, V. D. (2010). *Determinación de la presencia de ácidos grasos omega 3 en el huevo de gallina Lohmann roja bajo un sistema de pastoreo, con suplementación ad libitum de verdolaga (Portulaca oleracea)*. [Tesis de pregrado, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Repositorio del sistema bibliotecario Universidad de San Carlos de Guatemala <http://www.repositorio.usac.edu.gt/id/eprint/7926>
- Pantoja Guerra, M., Almanza Pérez, Y., & Valero Valero, N. (2016). Evaluación del efecto auxin-like de ácidos húmicos en maíz mediante análisis digital de imágenes. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 19(2): 361-369 <https://doi.org/10.31910/rudca.v19.n2.2016.90>
- Paredes Páliz, K. I. (2017). *Fitoestabilización de metales pesados en sedimentos costeros asistida por bacterias rizosféricas*. [Tesis de pregrado, Universidad de Sevilla]. Depósito de investigación Universidad de Sevilla <http://hdl.handle.net/11441/64416>
- Pensini, E., Tchoukov, P., Yang, F., & Xu, Z. (2018). Effect of humic acids on bitumen films at the oil-water interface and on emulsion stability: Potential implications for groundwater remediation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 544: 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.02.024>
- Pérez, J., Pacheco, F., Yepes, Á., Luna, R., Zambrano, D., Vázquez, V. F., Cabrera, D., Guzmán, Y., Torres, J., & Rodríguez, W. (2017). Ácidos Húmicos y su efecto sobre variables morfométricas en plantas de zanahoria (*Daucus carota* L.). *Biotecnia*, 19(2), 25-29. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v19i2.381>
- Piccolo, A., De Martino, A., Scognamiglio, F., Ricci, R., & Spaccini, R. (2021). Efficient simultaneous removal of heavy metals and polychlorobiphenyls from a polluted industrial site by washing the soil with natural humic surfactants. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(20), 25748-25757. DOI: 10.1007/s11356-021-12484-x
- Quispe, G. J. (2021). *Efecto analgésico de un gel elaborado a base del extracto Hidroalcohólico de las hojas de Amaranthus spinosus Linn (Yuyo Colorado Espinoso) AL 1% EN Rattus rattus var albinus*. [Tesis de pregrado, Universidad Católica los Ángeles de Chimbote]. Repositorio institucional Universidad Católica los Ángeles de Chimbote <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/20579>

- Rahale, C. S., Lakshmanan, A., Sumithra, M. G., & Kumar, E. R. (2021). Humic acid involved chelation of ZnO nanoparticles for enhancing mineral nutrition in plants. *Solid State Communications*, 333: 114355. <https://doi.org/10.1016/j.ssc.2021.114355>
- Rasouli, M., Karimi. H., Ashrafi, S., Khodaverdiloo, H. (2019). The Effect of Humic Acid on the Phytoremediation Efficiency of Pb in the Contaminated Soils by Wormwood Plant (*Artemisia absantium*). *Journal of Water and Soil Science*. 22 (4):261-278 DOI: 10.29252/jstnar.22.4.261
- Reyes, J., Enríquez, A., Ramírez, M., Rodríguez, A. T., & Rodríguez, A. (2020). Efecto de ácidos húmicos, micorrizas y quitosano en indicadores del crecimiento de dos cultivares de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Terra Latinoamericana*, 38(3): 653-666. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.671>
- Rivero, M., Solórzano, Arturo. (2019). *Efecto de quitosano, hongos micorrízicos y ácidos húmicos sobre el crecimiento y desarrollo en variedades de pimiento (Capsicum annum L) bajo condiciones protegidas*. [Tesis de pregrado, Universidad Técnica estatal de Quevedo]. Repositorio digital Universidad Técnica estatal de Quevedo. <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3848>
- Santa Rosa, A. C., Ferreira, M. H., de Carvalho, V., & Silveira, M. J. (2019). Morfoanatomia da raiz, caule e folha de *Pistia stratiotes* l. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, 14(2): 42-47. Disponible en: <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/2930>
- Scaglia, B., Pognani, M., & Adani, F. (2017). The anaerobic digestion process capability to produce biostimulant: the case study of the dissolved organic matter (DOM) vs. auxin-like property. *Science of the Total Environment*, 589: 36-45. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.223>
- Seguel, O., Parra, C., Homer, I., Kremer, C., & Beyá-Marshall, V. (2019). Efecto del ácido húmico sobre las propiedades físicas de un Haplohumult cultivado con trigo. *Agro Sur*, 47(3): 27-38. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2019.v47n3-04>
- Soppelsa, S., Kelderer, M., Casera, C., Bassi, M., Robatscher, P., Matteazzi, A., & Andreotti, C. (2019). Foliar applications of biostimulants promote growth, yield and fruit quality of strawberry plants grown under nutrient limitation. *Agronomy*, 9(9): 483. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090483>
- Stehlickova, L., Svab, M., Wimmerova, L., & Kozler, J. (2009). Intensification of phenol biodegradation by humic substances. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(7), 923-927. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.06.007>
- Suárez, A. V. (2021). *Efecto de la aplicación de ácidos húmicos sobre propiedades químicas del suelo y plantas de lechuga Batavia*. [Tesis de posgrado, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio institucional Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/79720>

- Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S., & Nardi, S. (2010). Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors. *Plant signaling & behavior*, 5(6): 635-643. doi: 10.4161/psb.5.6.11211
- Valero, N. O. V., Vergel, C. M., Ustate, Y. E., & Gómez, L. C. (2021). Bioestimulación de frijol guajiro y su simbiosis con *Rhizobium* por ácidos húmicos y *Bacillus mycoides*. *Bioteología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 19(2): 154-169. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1608>
- van Tol, A. T., Louro, R. L., Huertas, O. C., da Graça, D. F., Gomes, E., Barros, C., Maqueira, L., & Calderín, A. (2021). Humic acids induce a eustress state via photosynthesis and nitrogen metabolism leading to a root growth improvement in rice plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 162: 171-184. DOI: 10.1016/j.plaphy.2021.02.043
- Veobides, H., Guridi, F., & Vázquez, V. (2018). Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. *Cultivos Tropicales*, 39(4): 102-109. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362018000400015&lng=es&nrm=iso
- Wang, X., Lyu, T., Dong, R., Liu, H., & Wu, S. (2021). Dynamic evolution of humic acids during anaerobic digestion: Exploring an effective auxiliary agent for heavy metal remediation. *Bioresource Technology*, 320: 124331. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124331>
- Whitfield, M., Lunney, A., Rutterb, A., & Zeeb, A. (2010). Effects of amendments on the uptake and distribution of DDT in *Cucurbita pepo* ssp *pepo* plants. *Environmental Pollution*, 158 (2): 508-513. DOI: 10.1016/j.envpol.2009.08.030
- Wu, Y., Ma, L., Liu, Q., Vestergård, M., Topalovic, O., Wang, Q., Zhou, Q., Huang, L., Yang, X., & Fen, Y. (2020). The plant-growth promoting bacteria promote cadmium uptake by inducing a hormonal crosstalk and lateral root formation in a hyperaccumulator plant *Sedum alfredii*. *Journal of Hazardous Materials*. 395. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122661
- Xu, B., Lian, Z., Liu, F., Yu, Y., He, Y., Brookes, P. C., & Xu, J. (2019). Sorption of pentachlorophenol and phenanthrene by humic acid-coated hematite nanoparticles. *Environmental Pollution*, 248: 929 - 937. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.02.088
- Yoon, H. Y., Jeong, H. J., Cha, J. Y., Choi, M., Jang, K. S., Kim, W. Y., & Jeon, J. R. (2020). Structural variation of humic-like substances and its impact on plant stimulation: Implication for structure-function relationship of soil organic matters. *Science of the Total Environment*, 725, 138409.

- Zhu, H., Chen, L., Xing, W., Ran, S., Wei, Z., Ameer, M., & Chen, K. (2020). Phytohormones-induced senescence efficiently promotes the transport of cadmium from roots into shoots of plants: a novel strategy for strengthening of phytoremediation. *Journal of hazardous materials*, 388, 122080. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122080
- Zingaretti, D., Lombardi, F., & Baciocchi, R. (2018). Soluble organic substances extracted from compost as amendments for Fenton-like oxidation of contaminated sites. *Science of the Total Environment*, 619: 1366-1374. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.11.178
- Zou, J., Zhang, H., Yue, D., & Huang, J. (2021). Is the traditional alkali extraction method valid in isolating chemically distinct humic acid. *Chemical Engineering Journal Advances*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.ceja.2020.100077>