

Auxin-like in liquid humus

Auxin-like en humus líquido

Castro-Barrales, Sergio¹; Totosaus-Sánchez, Alfonso¹; García-Martínez, Ignacio^{1*}

Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec. Ecatepec de Morelos, Estado de México, México, C. P. 55210.

*Autor de correspondencia: dr_igm@yahoo.com.mx

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of liquid humus samples (HL) on the percentage, index and rate of germination of *Lepidium sativum*, *Medicago sativa* and *Raphanus sativus*.

Design/methodology/approximation: Liquid humus (HL) samples were obtained from the aqueous extract of a commercial vermicompost. A completely randomized design was performed using different HL:water concentration gradients (1 to 10^{-4} mg mL⁻¹) and compared to the effect of a 10^{-10} to 10^{-2} mol/L concentration gradient of indoleacetic acid. (AIA). An infrared spectroscopy analysis was performed on the HL and AIA samples to compounds identification and/or similar molecular structures between both samples.

Results: The seeds less sensitive to the bioactive compounds present in the sample of HL are *M. sativa* with the lower inhibition in all treatments. Seeds of *L. sativum* and *R. sativus* were more sensitive. The TC, TD and TE treatments corresponding to the HL extracts showed to have biological activity similar to the treatments T06, T07 and T08 of the AIA, with the germination index as the main bioassay to observe this response. The FT-IR analysis of the HL extract showed similarity when compared to the AIA spectrum, finding similarities in the bands corresponding to the indole group, which is the base functional group of the AIA.

Limitations on the study/implications: Is recommended to carry out a second stage of research that includes the extraction of indole compounds to HL samples and their subsequent purification and identification, using spectroscopic techniques.

Findings/Conclusions: Both stimulant and inhibitory effects of germination are due to the presence of bioactive compounds with biological activity similar to plant growth regulators. Therefore, HL samples were analyzed using an infrared spectroscopy, finding signals of compounds with functional groups similar to AIA. This indicate the possibility of the presence of AIA and look for the characterization of the HL extract using purification and identification techniques, such as mass spectrometry.

Keywords: Liquid humus, vegetable growth regulators, germination, inhibition

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto de muestras de humus líquido (HL) en el porcentaje, índice y velocidad de germinación de *Lepidium sativum*, *Medicago sativa* y *Raphanus sativus*.

Diseño/metodología/aproximación: Se evaluó el efecto de muestras de humus líquido (HL), que se obtuvo a partir del extracto acuoso de una vermicomposta comercial. Se realizó un diseño completamente al azar empleando diferentes gradientes de concentración HL:agua (1 a 10^{-4} mg mL⁻¹) y se comparó con el

Agroproductividad: Vol. 12, Núm. 6, junio. 2019. pp: 69-74.

Recibido: marzo, 2019. **Aceptado:** junio, 2019.



efecto de un gradiente de concentración de 10^{-10} a 10^{-2} mol L⁻¹ de ácido indolacético (AIA). Se realizó un análisis de espectroscopia de infrarrojo a las muestras de HL y AIA, para la identificación de compuesto y/o estructuras moleculares similares entre ambas muestras.

Resultados: Las semillas menos sensibles a los compuestos bioactivos presentes en la muestra de HL son *M. sativa* al presentar menor inhibición en todos los tratamientos, siendo más sensibles las semillas de *L. sativum* y *R. sativus*. Los tratamientos TC, TD y TE correspondientes a los extractos de HL mostraron tener actividad biológica similar a los tratamientos T06, T07 y T08 del AIA, siendo el índice de germinación el principal bioensayo en donde se observa esta respuesta. El análisis de FT-IR del extracto de HL mostró semejanza al ser comparado con el espectro de AIA, encontrándose similitudes en las bandas correspondientes al grupo indol, que es el grupo funcional base del AIA.

Limitaciones del estudio/implicaciones: Se recomienda realizar en una segunda etapa de investigación que incluya la extracción de compuestos indólicos a muestras de HL y su posterior purificación e identificación, mediante técnicas espectroscópicas

Hallazgos/conclusiones: Los efectos estimulantes e inhibitorios de la germinación se deben a la presencia de compuestos bioactivos con actividad biológica similar a los reguladores del crecimiento vegetal, por ello se analizaron las muestras de HL, empleando un equipo de espectroscopia de infrarrojo, encontrándose señales de compuestos con grupos funcionales similares al AIA. Esto nos permite dejar abierta la posibilidad a la presencia de AIA y buscar la caracterización del extracto de HL empleando técnicas de purificación e identificación como la espectrometría de masas.

Palabras clave: germinación, humus líquido, inhibición.

sinérgicos de estas sustancias en la germinación y el crecimiento de las plantas (Csicsor, 1994; Qadir *et al.*, 2005; Llori *et al.*, 2007; Miransari y Smith, 2014; Tarkowská, 2014).

Diversas metodologías han sido puestas a punto con este objetivo; y entre ellas, la de mayor alcance corresponde a la determinación del índice de germinación utilizando berro de agua (*Lepidium sativum*) en extractos de compost propuesta por García-Martínez y González (2005) y Varnero *et al.* (2007).

Diversos autores (Enríquez-Peña *et al.*, 2004; Slavik, 2005; Sharifi *et al.*, 2007; Varnero *et al.*, 2007; García-Martínez y Arozarena, 2009) determinaron el índice y la velocidad de germinación. Con base en lo anterior, se emplearon semillas de *Lepidium sativum*, *Medicago sativa* y *Raphanus sativus*, debido a que fueron las especies que mostraron mayor sensibilidad a sustancias bioestimulantes (Varnero *et al.*, 2007), con el fin de evaluar su porcentaje, índice y velocidad de germinación en presencia de un extracto acuoso de humus líquido y ácido indolacético determinando la actividad de sustancias bioactivas o bioestimulantes o inhibitorias de una vermicomposta comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon muestras de humus líquido (HL), extracto acuoso de vermicomposta comercial elaborada a partir de residuos agrícolas (Happy Flower, S.A. de C.V.). El estándar de ácido indolacético (AIA) utilizado durante el desarrollo del trabajo experimental fue grado analítico (Sigma Chemical Co., St. Louis Missouri, USA). Los reactivos y disolventes empleados fueron grado analítico (J.T. Baker).

INTRODUCCIÓN

El vermicomposteo es un proceso donde los residuos orgánicos biodegradables se descomponen, bajo condiciones controladas, generando CO₂, H₂O y materia orgánica estabilizada o "vermicompost" (Varnero *et al.*, 2007; García-Martínez y Arozarena, 2009). Este producto final puede ser utilizado como componente base para la elaboración de sustratos especializados de uso agrícola. Sin embargo, emplearlos sin análisis, puede provocar diversos efectos en los cultivos, tales como deformaciones de follaje, retraso de la maduración e irregularidad en el tamaños de fruto, inhibición de la germinación, entre otros; debidos a la presencia de metabolitos o compuestos bioactivos, que pueden ser algún regulador del crecimiento vegetal (auxinas, citocininas, giberelinas) (De Kock, 1955; Chuko *et al.*, 1996, Enríquez-Peña *et al.*, 2004; Suthar, 2010; Mirasari y Smith, 2014; Tarkowská *et al.*, 2014). Estos compuestos bioactivos, pueden generar efectos perjudiciales en el desarrollo de las plantas, inhibiendo la germinación de semillas o el crecimiento de raíces por lo que es altamente riesgosa su utilización en cultivos. La determinación de estas sustancias bioactivas en forma independiente encarece los análisis. Esto ha incentivado el uso de los bioensayos con semillas sensibles (Gaur, 1964; Slavik, 2005; Varnero *et al.*, 2007), para evaluar los efectos

Determinación de pH y conductividad. Se pesaron 10 g de la muestra de HL, a la cual se le incorporaron 100 mL de agua desionizada, se homogenizó mediante ultrasonido, empleando un sonicador (Cole Parmer, PC620R-2) durante 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo las muestras se filtraron utilizando papel Whatman de poro grueso y el filtrado obtenido se utilizó para la determinación de pH y conductividad eléctrica empleando un conductímetro (Conductronic modelo PC18), las determinaciones se realizaron a temperatura ambiente.

Determinación de cenizas. Cinco gramos de muestra seca se colocaron en una mufla, en donde la temperatura fue aumentando gradualmente hasta llegar a la calcinación, aproximadamente 800 °C, transcurrida 1 h a esta temperatura, se dejó enfriar la muestra en un desecador y posteriormente se pesó.

Determinación de la materia orgánica. El análisis se realizó de acuerdo con la Norma Mexicana (NMX-AA-021, SAGARPA, 2007). A muestras de 0.1 g de HL, se les agregaron 10 mL de $K_2Cr_2O_7$ 1 N y 20 mL de H_2SO_4 concentrado, la mezcla se agitó vigorosamente durante 1 min, dejándola reposar por 30 min a temperatura ambiente, posteriormente se adicionaron 100 mL de agua desionizada, 10 mL de H_3PO_4 y 0.5 mL de difenilamina, la muestra se homogenizó perfectamente mediante ultrasonido, colocándola en un sonicador por 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente se dejó reposar por 10 min y se tomó una alícuota de 25 mL, la cual se tituló empleando $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 N.

Preparación de los extractos acuosos de la vermicomposta comercial. Se realizaron diluciones acuosas empleando agua destilada como diluyente, hasta obtener un gradiente de concentraciones de 1, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} mg de HL por mL, homogenizando las soluciones en un sonicador (marca Cole Parmer, PC620R-2) por un periodo de 15 min a temperatura ambiente, estas diluciones se envasaron y conservaron en refrigeración y obscuridad hasta su uso; se utilizó agua destilada como testigo.

Como estándar de referencia se utilizó ácido indolacético (AIA), el cual se pesó y disolvió primeramente empleando 1 mL de metanol y posteriormente se aforó hasta un volumen de 10 mL con agua destilada; para posteriormente obtener un gradiente de concentraciones de 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} y 10^{-10} M de AIA.

Se emplearon semillas de *Lepidium sativum*, *Medicago sativa* y *Raphanus sativus*, (Happy Flower, S. A. de C. V.), las cuales se lavaron con agua destilada estéril tres veces, seguido de tres lavados sucesivos con $NaClO$ al 1%v/v y nuevamente volver a lavar cinco veces con agua destilada estéril, para finalizar las semillas se sumergieron en 100 mL de agua destilada por 60 min; con las semillas desinfectadas se realizó una selección homogénea en cuanto a forma y tamaño.

Bioensayo de la germinación. En 55 cajas Petri de 10 cm de diámetro, se colocó una base de papel filtro de poro grueso, el total de las cajas se dividieron en 11 lotes de, cada lote se humedeció hasta saturación (10 mL aproximadamente) con: agua

destilada (testigo), los tratamientos de HL (1 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} mg mL⁻¹) y los correspondientes al estándar (10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} y 10^{-10} M AIA). Se colocaron 10 semillas en cada una de las cajas Petri, se taparon para evitar la evaporación y se llevaron a la cámara de incubación; la germinación se efectuó en un cuarto oscuro dentro de una cámara con humedad constante y una temperatura de 24 °C, la duración del bioensayo fue de 4 d, considerando germinadas las semillas cuando presentaban emergencia de la radícula (Enriquez-Peña et al., 2004; Miransari y Smith, 2014).

El índice de germinación (IG), definido como la medida del tiempo de germinación en relación con la capacidad germinativa, y la velocidad de germinación (M), definida como la relación del número de semillas germinadas con el tiempo de germinación, se calcularon de acuerdo con Enriquez-Peña et al. (2004) mediante las ecuaciones:

$$IG = \frac{\sum(n_i t_i)}{N} M = \sum \frac{(n_i)}{t}$$

Donde IG=índice de germinación; n_i =número de semillas germinadas en el día i ; t_i =número de días después de la siembra; N =total de semillas sembradas; M =velocidad de germinación; t =tiempo de germinación de la siembra hasta la germinación de la última semilla.

Los resultados obtenidos se analizaron empleando PROC ANOVA del paquete estadístico S.A.S. versión 6.0 (SAS Institute, 1989). Las diferencias entre las medias de los tratamientos se determinaron mediante un análisis de medias de Tukey

($\alpha=0.05$), para evaluar el efecto de las variables relacionadas con la respuesta de germinación.

Análisis por FTIR. Los espectros de infrarrojo se realizaron en un espectrofotómetro (Thermo Nicolet modelo Avatar 300 FT-IR) con transformada de Fourier equipado con un detector DTGS de KBr. El tratamiento de los espectros se realizó con el programa EZ OMNIC. Las muestras de HL y AIA se analizaron directamente en un espectrofotómetro de IR, empleando para su análisis un accesorio de reflectancia difusa, para ello previamente se evaporó el solvente de las muestras, eliminando el exceso de agua y etanol, para así evitar la contaminación del sistema óptico del equipo al trabajar en vacío. Los espectros de infrarrojo de ambas muestras de HL y AIA se realizaron con 64 barridos de la muestra en modo de transmisión con intervalo de longitud de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , colocando de manera directa las muestras en el accesorio de reflectancia difusa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis efectuados a las muestras de HL se realizaron por triplicado, con el fin de verificar la reproducibilidad de los datos. En el Cuadro 1 muestra los resultados del análisis de calidad de las muestras analizadas, e indican que los valores de pH están dentro del rango óptimo para el crecimiento de las plantas (Suthar y Sharma, 2013; Wani *et al.*, 2013). En cuanto a los niveles de sales solubles que presenta el HL, permitiría clasificarlos como de buena calidad.

Extractos de humus líquido en la germinación de *Medicago sativa*, *Lepidium sativum* y *Raphanus sativus*

Las semillas de *M. sativa* presentaron el mayor porcentaje de germinación de manera global (100%), solo hubo inhibición de la germinación en el tratamiento TA (1 mg mL^{-1}), mientras que los valores más bajos (0%) correspondieron a *Lepidium sativum* y *Raphanus sativus* (Cuadro 2). Las muestras de HL y AIA en sus diferentes concentraciones, prácticamente no afectaron el patrón de

Parámetro evaluado	Valor
pH	9.3±0.130
Conductividad Eléctrica ($\mu\text{S/cm}$)	18.02±0.060
Cenizas (%)	0.70±0.002
Materia orgánica (%)	81.98±2.690

Cuadro 2. Porcentajes de germinación de semillas de *Lepidium sativum*, *Medicago sativa* y *Raphanus sativus* tratadas con humus líquido (HL) y ácido indolacético (AIA).

Tratamiento	Concentración	<i>L. sativum</i>	<i>M. sativa</i>	<i>R. sativus</i>
Testigo	00 (mg mL^{-1})	100 a	100a	100a
HL	TA: 1	0 b	0 d	0 b
	TB: 10^{-1}	0 b	50 c	0 b
	TC: 10^{-2}	100 a	100 a	100 a
	TD: 10^{-3}	100 a	100 a	100 a
	TE: 10^{-4}	100 a	100 a	100 a
AIA	T02: $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$	0 b	95 a	0 b
	T04: $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	100 a	85 b	100 a
	T06: $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	100 a	85 b	100 a
	T08: $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	100 a	100 a	100 a
	T10: $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$	100 a	85b	100 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($P<0.05$).

germinación. Los tratamientos TC, TD, TE, T04, T06, T08 y T10 promovieron la germinación totalmente, no existiendo un efecto significativo de inhibición. Por tanto, los tratamientos TA, TB y T02 son un factor que afecte la capacidad germinativa de las semillas, probablemente debido a compuestos que inhiban la germinación, aun cuando la concentración de las muestras de HL es baja, se observa un claro efecto. Siendo *M. sativa*, la que es menos sensible a la presencia de compuestos estimulantes.

Los valores del índice de germinación (Cuadro 3), indica que las semillas con mayor efecto negativo fueron las de *Raphanus sativus* para todos los tratamientos, mientras que las menos afectada fueron *Lepidium sativum*. Esto sugiere que, en condiciones de presencia de HL, existe una respuesta inhibitoria o fitotóxica, similar a lo reportado por Varnero *et al.* (2007). Sin embargo, para los bioensayos empleando *M. sativa* y *R. sativus* se observó un efecto estimulante.

Generalmente la velocidad de germinación aumenta en forma directa con algunos factores como la temperatura, agua y presencia de bioestimulantes (Taylor *et al.*, 1999). El Cuadro 4 muestra un efecto estimulante para las tres semillas empleadas, siendo únicamente los tratamientos TA, TB y T02 los que inhiben la velocidad de germinación.

Los resultados del efecto en la germinación obtenidos para HL y AIA indicarían mayor sensibilidad de *Lepidium sativum* y *Raphanus sativus* a sustancias fitotóxicas o estimulantes presentes, similar a lo reportado por Csicsor

et al. (1994), Varanini y Pinton (1995), Enriquez-Peña et al. (2004) y García-Martínez y Arozarena (2009).

Análisis FTIR de las muestras de Humus líquido

La Figura 1 muestra los espectros de IR de las muestras de ácido indolacético (AIA) y humus líquido (HL), en la longitud de onda de 3500 a 3600 cm^{-1} , registrando una banda correspondiente a un OH; de tal forma que en la longitud de 3100 cm^{-1} corresponde a un NH (pirrol), y en el rango de 2200 a 2400 cm^{-1} , se encuentran las vibraciones del esqueleto de un anillo aromático, así también se observa los sobretornos del anillo aromático en el rango de 1800 a 2000 cm^{-1} , aunque no bien definidos al espectro de AIA mientras que en el espectro de HL se muestran más definidos, en la zona de los 1600 cm^{-1} se encuentra una banda correspondiente a un carbonilo de un ácido carboxílico.

En la comparación de los espectros de las muestras de AIA y de HL (Figura 1) se observa una similitud entre ambos espectros aunque con ciertas variaciones, en el espectro de HL se observa que presenta una serie de pequeñas señales a lo largo de todo el espectro esto se atribuye a que puede existir alguna pequeña contaminación que contenga la muestra, y cerca de la longitud de onda de los 2900 cm^{-1} se observa un desplazamiento muy marcado mientras que el espectro de AIA no lo muestra; sin embargo, se sugiere que se puede tratar de un mismo compuesto por ambas muestras debido a la similitud de los espectros de infrarrojo (Bühlman y Affolter, 2000).

CONCLUSIONES

La descripción del potencial estimulante o inhibitorio de las muestras de Humus Líquido, se establece con mayor sensibilidad en los bioensayos con *Lepidium sativum* y *Raphanus sativus*, en comparación a los bioensayos con *Medicago sativa*. El IG, como variable que integra diferentes grados de estimulación o fitotoxicidad, representa un indicador más robusto para describir el potencial estimulante de un material orgánico. Este índice permitió evaluar el grado de empleo requerido para el Humus Líquido con fines de uso agrícola. El análisis FTIR mostró evidencia suficiente, para presumir la presencia de compuestos

Cuadro 3. Índice de germinación de semillas de *Lepidium sativum*, *Medicago sativa* y *Raphanus sativus* tratadas con humus líquido (HL) y ácido indolacético (AIA).

Tratamiento	Concentración	<i>L. sativum</i>	<i>M. sativa</i>	<i>R. sativus</i>
Testigo	00 (mg L^{-1})	1 a	5.3 a	1.0 c
HL	TA: 1	0 b	0.0 c	0.0 b
	TB: 10^{-1}	0 b	0.5 c	0.0 b
	TC: 10^{-2}	1 a	5.7 a	5.3 a
	TD: 10^{-3}	1 a	5.6 a	5.9 a
	TE: 10^{-4}	1 a	5.7 a	5.9 a
AIA	T02: $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$	0 b	0.9 b	0.0 b
	T04: $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	1 a	0.8 b	8.8 d
	T06: $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	1 a	0.8 b	5.7 a
	T08: $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	1 a	1.0 b	5.9 a
	T10: $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$	1 a	4.2 a	5.9 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Cuadro 4. Velocidad de germinación de semillas de *Lepidium sativum*, *Medicago sativa* y *Raphanus sativus* tratadas con humus líquido (HL) y ácido indolacético (AIA).

Tratamiento	Concentración	<i>L. sativum</i>	<i>M. sativa</i>	<i>R. sativus</i>
Testigo	00 (mg mL^{-1})	100 a	83.3 b	100.0 a
HL	TA: 1	0 b	0.0 d	0.0 b
	TB: 10^{-1}	0 b	50.0 c	0.0 b
	TC: 10^{-2}	100 a	93.3 a	83.3 c
	TD: 10^{-3}	100 a	90.0 a	96.7 a
	TE: 10^{-4}	100 a	93.3 a	96.7 a
AIA	T02: $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$	0 b	95.0 a	0.0 b
	T04: $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	100 a	85.0 b	85.0 c
	T06: $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	100 a	85.0 b	93.3 a
	T08: $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	100 a	100.0 a	96.7 a
	T10: $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$	100 a	65.0 c	96.7 a

Medias con la misma letra en la columna no son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

similares al ácido indolacético; sin embargo, recomendamos realizar en una segunda etapa, la extracción de compuestos indólicos a muestras de HL y su posterior purificación e identificación, mediante técnicas espectroscópicas.

LITERATURA CITADA

- Bühlman, P. & Affolter, C. (2000). Structure determination of organic compounds tables of spectral data (3a ed.). Berlin: Springer.
- Chukov, S., Talishkina, V. & Nadporozhskaya, M. (1996). Physiological activity of growth stimulators and of soil humic acids. Eurasian Soil Science, 28(4), 30-39.
- Csicsor, J., Gerse, J. & Titkos, A. (1994). The biostimulant effect of different humic substance fractions on seed germination. En N. Senesi & T.M. Miano (Eds.). Humic substances in the

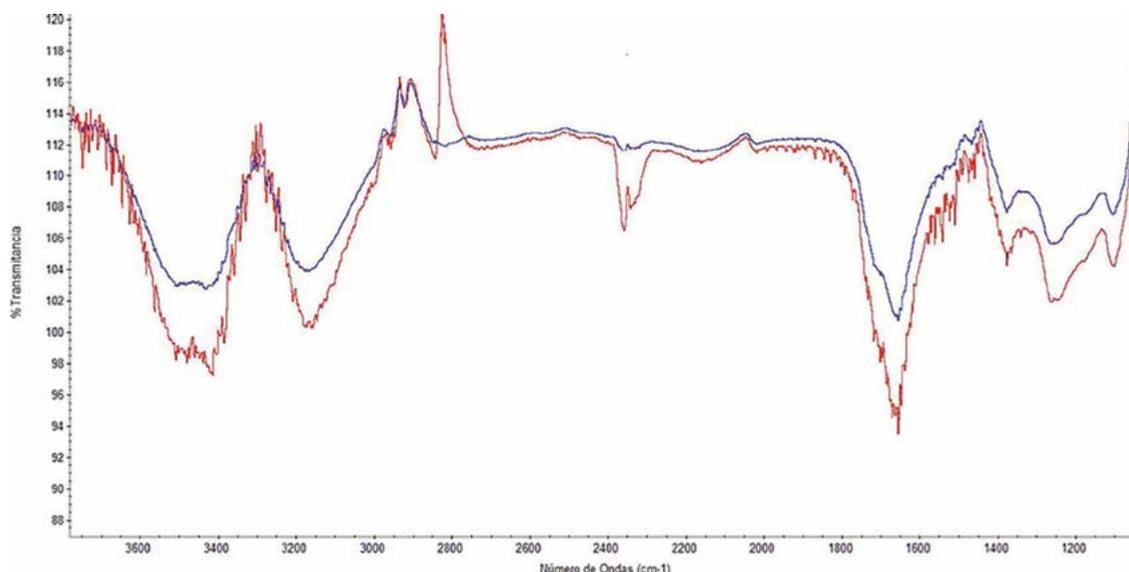


Figura 1. Espectros de las muestras de — AIA y — HL.

global environment and implications on human health. Elsevier Science B.V. Amsterdam.

- De Kock, P.C. (1955). The influence of humic acids on plant growth. *Science* 121(3), 473-474.
- Enríquez-Peña, E., Suzán-Azpiri, H. & Malda-Barrera, G. (2004). Seed viability and germination of *Taxodium mucronatum* (Ten) in the state of Queretaro, México. *Agrociencia* 38(3), 375-381.
- García-Martínez, I. & Arozarena, D. N. (2009). A compost extract with plant growth regulator activity. *Crop Research (Hisar)* 37(1/3), 72-77.
- García-Martínez, I. & González, L. (2005). Análisis e identificación de bioestimulantes indólicos en una composta. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria*, 4(4), 7-13.
- Gaur, A.C. (1964). Influence of humic acid on growth and mineral nutrition in plants. *Bulletin de l'Association française pour l'étude du sol.* 35, 207-219.
- Llori, O.J., Otusanya, O.O. & Adelusi, A.A. (2007). Phytotoxic effects of *Tithonia diversifolia* on germination and growth of *Oryza sativa*. *Research Journal of Botany*, 2(1), 23-32.
- Miransari, M. & Smith, D.L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, 110-121.
- Qadir, M., Schubert, S. & Steffens, D. (2005). Phytotoxic substances in soils. En D. Hillel (Ed.). *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Elsevier Ltd., Oxford, U.K.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2007). NMX-FF-109-SCFI-2007. Humus de lombriz (Lombricomposta) – Especificaciones y Métodos de prueba.
- Sharifi, M., Sadeghi, Y. & Akpapour, M. (2007). Germination and growth of six plant species on contaminated soil with spent oil. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 4(4), 463-470.
- Slavik, M. (2005). Production of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) seedlings on substrate mixes using growth stimulants. *Journal of Forest Science*, 51(1), 15-23.
- Suthar, S. & Sharma, P. (2013). Vermicomposting of toxic weed – *Lantana camara* biomass: Chemical and microbial properties changes and assessment of toxicity of end product using seed bioassay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 95, 179-187.
- Suthar, S. (2010). Evidence of plant hormone like substances in vermiwash: An ecologically safe option of synthetic chemicals for sustainable farming. *Ecological Engineering*, 36(8), 1089-1092.
- Tarkowská, D., Novák, O., Floková, K., Tarkowski, P., Turečková, V., Grúz, J., Rolčík, J. & Strnad, M. (2014). Quo vadis plant hormone analysis?. *Planta*, 240(1), 55-76.
- Taylor, A.G., Johnson, C.F., Katak, P.K. & Obendorf, R.L. (1999). Ethanol production by hydrated seeds: A high resolution index of seed quality. *Acta Horticulturae* 504, 153-160
- Varanini, Z. & Pinton, R. (1995). Humic substances and plant nutrition. *Progress in Botany*, 56, 97-116.
- Varnero, M.M.T., Rojas, A.C. & Orellana, R.R. (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 7(1), 28-37.
- Wani, K.A., Mamta, & Rao, R.J. (2013). Bioconversion of garden waste, kitchen waste and cow dung into value-added products using earthworm *Eisenia fetida*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(2), 149-54.