



**Efecto de nanopartículas de Hierro y Zinc sobre el crecimiento, rendimiento y calidad  
de grano de chocho F3 (ECU 2658 x ECU 8415)**

Quishpe Barrera, Mario Israel

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención de título de Ingeniero Agropecuario

Ing. Falconí Saá, César Eduardo. PhD.

01 de septiembre del 2023



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**  
**Carrera Agropecuaria**

**Certificación:**

Certifico que el trabajo de integración curricular: **Efecto de nanopartículas de Hierro y Zinc sobre el crecimiento, rendimiento y calidad de grano de chocho F3 (ECU 2658 x ECU 8415)**, fue realizado por el señor: **Quishpe Barrera, Mario Israel**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecido por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 01 de septiembre del 2023



Firmado electrónicamente por:  
CESAR EDUARDO  
FALCONI SAA

**Ing. Falconí Saá, César Eduardo PhD.**

C.C.: 0601556459

# Resultados de la herramienta para la verificación y/o análisis de similitud de contenidos



## TESIS FINAL MARIO ISRAEL QUISHPE ...

### Scan details

Scan time:  
September 1th, 2023 at 19:49 UTC

Total Pages:  
65

Total Words:  
16092

### Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	1.7%	268
Minor Changes	0.9%	145
Paraphrased	3.8%	615
Omitted Words	0%	0

### AI Content Detection



Text coverage  
● AI text  
○ Human text

### Plagiarism Results: (23)

T-IASA I-004416.pdf	2.6%
<a href="https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/26768/1/t-l...">https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/26768/1/t-l...</a>	
PC	
1 Carátula Carátula Efecto de fertilización con Zn y Fe dopadas en nanopartículas sobre el rendimiento y calidad del grano de chocho (Lu...	
Los-micronutrientes-son-la-clave-para-mejorar-la-p...	0.8%
<a href="https://humagro.com/wp-content/uploads/2017/07/los-micr...">https://humagro.com/wp-content/uploads/2017/07/los-micr...</a>	
Los micronutrientes son la clave para mejorar la producción. En algunas ocasiones, las cosas más pequeñas pueden liberar nuestro mayor po...	
Efecto del zinc sobre la inducción de ramas product...	0.7%
<a href="http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&amp;pid=s...">http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&amp;pid=s...</a>	
Services on Demand Journal SciELO Analytics Google Scholar H5MS () ...	



Firmado electrónicamente por:  
CESAR EDUARDO  
FALCONI SAA

Ing. Falconí Saá, César Eduardo PhD.

C.C.: 0601556459



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera Agropecuaria**

**Responsabilidad de Autoría:**

Yo, **Quishpe Barrera, Mario Israel**, con cédula de ciudadanía No.050356685-3, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Efecto de nanopartículas de Hierro y Zinc sobre el crecimiento, rendimiento y calidad de grano de chocho F3 (ECU 2658 x ECU 8415)**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando a las citas bibliográficas.

Sangolquí, 01 de septiembre del 2023

**Quishpe Barrera, Mario Israel**

**CC:050356685-3**



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera Agropecuaria**

**Autorización de Publicación:**

Yo, **Quishpe Barrera, Mario Israel**, con cédula de ciudadanía No.050356685-3 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Efecto de nanopartículas de Hierro y Zinc sobre el crecimiento, rendimiento y calidad de grano de chocho F3 (ECU 2658 x ECU 8415)** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 01 de septiembre del 2023



**Quishpe Barrera, Mario Israel**

**CC:050356685-3**

## **Dedicatoria**

A mis queridos padres, Cecilia y Mario, por su amor incondicional junto a un apoyo constante en cada paso de mi vida. Por sus sacrificios y esfuerzos para darme lo mejor y por enseñarme a ser una persona fuerte, perseverante y resiliente. A mis hermanos, Joan y Jennifer, por estar siempre a mi lado, en las buenas y en las malas, y por ser mis mejores amigos. A mi cuñada Carlita, por su amistad y cariño, por hacerme sonreír en los momentos difíciles. Mi sobrino Benjamín, mi motor para triunfar y alcanzar mis metas. Por ser la luz que ilumina mi camino y por darme la fuerza para seguir adelante.

A mis abuelitos, Hilda y Carlos, por sus sabias palabras y enseñanzas. Por transmitirme sus valores y principios y por ser un ejemplo a seguir. Mis tíos, Rosita y Edy, por su ayuda invaluable en este proceso. Por su apoyo incondicional y por creer en mí. A toda mi familia, por su amor y apoyo incondicional. Por estar siempre presentes en cada momento de mi vida y por ser mi hogar. Esta tesis es dedicada a todos ustedes, con todo mi amor y gratitud. Gracias por ser parte de mi vida y por ayudarme a llegar hasta aquí. Los quiero mucho.

A todos mis amigos que me han acompañado durante este hermoso camino con la satisfacción de tenerlos presentes hasta el final de esta meta, sé que sin ellos no lo habría logrado. Por último, este logro va dirigido a todos los profesores que amablemente me brindaron su apoyo en este camino de altos y bajos hasta alcanzar la meta.

## **Agradecimientos**

Quisiera expresar mi más profunda gratitud a todas las personas que me han acompañado en este camino. A mis padres, Cecilia y Mario, por su amor incondicional y por siempre creer en mí. A mis hermanos, Joan y Jennifer, por ser mi apoyo y mi inspiración. A mi cuñada Carlita, por su amistad y cariño. A mi sobrino Benjamín, quien me ha motivado a triunfar y alcanzar mis metas. A mis abuelitos, Hilda y Carlos, por sus sabias palabras y enseñanzas. A mis tíos, Rosita y Edy, por su invaluable ayuda en este proceso. Y a toda mi familia, por su amor y apoyo constante.

También quisiera agradecer a mis amigos Derek P, Santy V, Sebas D, Juanita S, Dianita C, Karencita L, Rommelito T y Cris A por estar siempre presentes y por ser una fuente de alegría y motivación. Este logro no hubiera sido posible sin el apoyo de todos ustedes. Gracias por ser parte de mi vida y por ayudarme a llegar hasta aquí.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a César Falconí Saá. PhD por su apoyo, guía y motivación durante el desarrollo de esta tesis. Su conocimiento de la mano de la experiencia ha sido fundamental para alcanzar este logro, estoy profundamente agradecido por su dedicación y compromiso. También quiero agradecer de manera especial al Ing. Darwin Claudio por su guía y amistad en el transcurso de la tesis. Su apoyo constante, sus valiosos consejos han sido de gran ayuda para superar los obstáculos y alcanzar mis metas. Este logro no hubiera sido posible sin el apoyo de estas dos personas excepcionales.

## Índice de contenidos

Carátula.....	1
Certificación .....	2
Resultados de la herramienta para la verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de autoría .....	4
Autorización de publicación .....	5
Dedicatoria .....	6
Agradecimientos .....	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas.....	13
Índice de figuras.....	14
Resumen.....	15
Abstract.....	16
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>17</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>17</b>
Antecedentes .....	17
Justificación.....	19
Objetivos .....	21
Objetivo General .....	21
Objetivos Específicos .....	21
Hipótesis.....	21
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>22</b>
<b>REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>22</b>
Lupinus mutabilis .....	22
Descripción morfológica.....	22
Requerimiento del cultivo.....	23

Etapas fenológicas del cultivo.....	23
Genotipo F3 (ECU 2658 x ECU 8415).....	24
Composición química del grano.....	24
Manejo agronómico del cultivo .....	26
Semilla.....	26
Preparación del suelo.....	26
Siembra .....	26
Control de malezas .....	27
Cosecha.....	27
Rendimiento del cultivo.....	27
Micronutrientes.....	27
Hierro (Fe).....	28
Disponibilidad del hierro.....	29
Funciones del hierro en la planta.....	29
El hierro en la fisiología de la planta.....	30
Deficiencia y toxicidad.....	31
Contenido de Fe en las plantas .....	32
Interacción del hierro con micronutrientes metálicos .....	33
Zinc (Zn).....	34
Disponibilidad del zinc.....	34
Funciones del zinc en la planta.....	34
El zinc en la fisiología de la planta.....	35
Deficiencia y toxicidad.....	35
Contenido de Zn en las plantas .....	37
Interacción del Zn con el hierro.....	37
Ácido indol acético (AIA).....	38

Métodos de cuantificación de AIA.....	38
Nanotecnología.....	39
Nanotecnología en la agricultura.....	39
Nanopartículas (NP).....	40
Nanopartículas de hierro (Fe-NP).....	40
Nanopartículas de zinc (ZnO-NP).....	40
Absorción de las nanopartículas.....	42
Fitotoxicidad de nanopartículas.....	43
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>45</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>45</b>
Ubicación del lugar de investigación.....	45
Materiales.....	45
Materiales de campo.....	45
Materiales de laboratorio y reactivos.....	46
Equipos.....	47
Métodos.....	48
Parcelación.....	48
Siembra.....	48
Delimitación de las parcelas experimentales.....	48
Delimitación de las plantas.....	48
Preparación de nanopartículas de Fe y Zn.....	49
Aplicación de tratamientos.....	50
Variables agronómicas.....	51
Índice del contenido de clorofila medido con fluorómetro de clorofila.....	51
Cuantificación del número total de vainas.....	51
Cuantificación del número de semillas por vaina.....	51

Porcentaje de semilla no comercial .....	51
Rendimiento .....	52
Variables fisiológicas .....	52
Recolección del material vegetal .....	53
Contenido de clorofila mediante espectrofotometría .....	53
Contenido de ácido indol acético (AIA) en raíces mediante espectrofotometría .....	53
Niveles de Fe y Zn en semillas de chocho .....	55
Niveles de Fe y Zn en hojas.....	57
Contenido de proteína en semillas de chocho .....	58
Contenido de proteína en la Hoja .....	59
Diseño experimental .....	60
Tipo de diseño experimental .....	60
Unidad experimental .....	60
Unidad muestral .....	60
Factores y tratamientos.....	61
Análisis estadístico.....	62
Análisis funcional .....	62
Croquis experimental .....	63
<b>CAPITULO IV .....</b>	<b>64</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>64</b>
Variables Agronómicas.....	64
Índice del contenido de clorofila medido con fluorómetro de clorofila .....	64
Cuantificación del número total de vainas en el tallo principal y ramas laterales.....	65
Cuantificación del número de semillas por vaina .....	65
Porcentaje de semilla no comercial .....	65
Rendimiento .....	65

VARIABLES FISIOLÓGICAS .....	68
Contenido de clorofila mediante espectrofotometría .....	68
Contenido de auxinas en raíces mediante espectrofotometría .....	69
Niveles de Zn en hojas.....	69
Niveles de Fe en hojas.....	71
Contenido de proteína en la Hoja .....	71
Niveles de Zn en semillas de chocho .....	72
Niveles de Fe en semillas de chocho .....	73
Contenido de proteína en semillas de chocho .....	74
<b>CAPITULO V .....</b>	<b>81</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>81</b>
Conclusiones .....	81
Recomendaciones.....	81
<b>Bibliografía .....</b>	<b>83</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> <i>Análisis bromatológico del grano de chocho amargo y desamargado</i> .....	25
<b>Tabla 2</b> <i>Proteínas y enzimas en las que el hierro participa en su metabolismo</i> .....	30
<b>Tabla 3</b> <i>Contenido de Fe (ppm) en tejidos y semillas de leguminosas</i> .....	32
<b>Tabla 4</b> <i>Contenido de Zn en tejidos de leguminosas</i> .....	37
<b>Tabla 5</b> <i>Delimitación de las plantas</i> .....	49
<b>Tabla 6</b> <i>Días después de la siembra en los que se aplicaron los tratamientos</i> .....	50
<b>Tabla 7</b> <i>Diluciones del ácido 3-indol acético</i> .....	55
<b>Tabla 8</b> <i>Características de las unidades experimentales</i> .....	60
<b>Tabla 9</b> <i>Distribución de tratamientos</i> .....	61
<b>Tabla 10</b> <i>Tipo y características de las variables</i> .....	61
<b>Tabla 11</b> <i>Efecto de nanopartículas de Fe y Zn sobre el índice del contenido de clorofila en medido con un fluorómetro (CCI)</i> .....	64
<b>Tabla 12</b> <i>Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre las diferentes variables agronómicas</i> .....	66
<b>Tabla 13</b> <i>Intervalos de confianza del efecto de nano partículas de Fe yZn sobre el contenido de Zn en hojas</i> .....	70
<b>Tabla 14</b> <i>Intervalos de confianza del efecto de nano partículas de Fe y Zn sobre el contenido de proteína en semillas</i> .....	75
<b>Tabla 15</b> <i>Resumen del efecto de nano partículas de Fe y Zn sobre las diferentes variables fisiológicas</i> .....	76

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> <i>Etapas fenológicas del cultivo de chocho</i> .....	24
<b>Figura 2</b> <i>Crecimiento de las plantas como respuesta a concentraciones de Fe en hojas</i> .....	33
<b>Figura 3</b> <i>Distribución de Zn en secciones transversales de granos de trigo</i> .....	42
<b>Figura 4</b> <i>Vista satelital del lugar de estudio</i> .....	45
<b>Figura 5</b> <i>Delimitación de parcelas</i> .....	48
<b>Figura 6</b> <i>Delimitación de plantas</i> .....	49
<b>Figura 7</b> <i>Aplicación de tratamientos</i> .....	50
<b>Figura 8</b> <i>Preparación de muestras para lectura de AIA</i> .....	54
<b>Figura 9</b> <i>Preparación de las muestras en fase sólida</i> .....	56
<b>Figura 10</b> <i>Preparación de las muestras en líquida</i> .....	56
<b>Figura 11</b> <i>Preparación de diluciones</i> .....	57
<b>Figura 12</b> <i>Croquis experimental</i> .....	63
<b>Figura 13</b> <i>Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc en el contenido de clorofila (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</i> .....	68
<b>Figura 14</b> <i>Efecto de nano partículas de Fe y Zn sobre el contenido de auxinas en raíces (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</i> .....	69
<b>Figura 15</b> <i>Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el nivel de Zn en hojas (<math>\text{mg/kg}</math>)</i> ...	70
<b>Figura 16</b> <i>Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el nivel de Fe en hojas (<math>\text{mg/kg}</math>)</i> ...	71
<b>Figura 17</b> <i>Efecto de nano partículas de Fe y Zn sobre el nivel de proteína en hojas (<math>\mu\text{g/mg}</math>)</i> ..	72
<b>Figura 18</b> <i>Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el nivel de Zinc en semillas (<math>\text{mg/kg}</math>)</i> .....	73
<b>Figura 19</b> <i>Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el nivel de Hierro en semillas (<math>\text{mg/kg}</math>)</i> .....	73
<b>Figura 20</b> <i>Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el contenido de proteína en semillas (<math>\mu\text{g}</math> de proteína extraída / <math>\text{mg}</math> de material vegetal seco.)</i> .....	75

## Resumen

La utilización de nanotecnología en el sector agrícola ha sido el foco de diferentes estudios a través de los últimos años debido al potencial para la sustentabilidad en la seguridad alimentaria del mundo; el desarrollo de esta tecnología ha permitido la creación de nano agroquímicos como los nano fertilizantes que demuestran ser eficientes cuando son aplicados sobre los cultivos (Fátima *et al.*, 2021). Micronutrientes como el hierro y zinc en forma de nanopartículas han sido aplicados de manera foliar sobre diferentes cultivos mostrando una mejora en la producción en todos los casos. En la presente investigación se evaluó el efecto de nanopartículas de Hierro y Zinc sobre el crecimiento de la planta, el rendimiento y calidad de grano de chocho F3 (ECU 2658 x ECU 8415) para lo cual se estableció un diseño completamente al azar (DCA); se realizaron tres aplicaciones en diferentes estados fenológicos del cultivo. Los supuestos del ANOVA fueron evaluados a través de la prueba de comparación de Duncan y Tukey al 5%. Como resultado se obtuvo que repercuten de manera directa sobre la fisiología del cultivo y por ende sobre el crecimiento de la planta, sin embargo; en el rendimiento las nanopartículas de hierro y zinc de manera individual tuvo efectos positivos. Sin embargo, bajo la aplicación de nanopartículas Fe+Zn combinados disminuyen el rendimiento, en cuanto a la calidad de grano no presentan cambios, a pesar de ello estos resultados no descartan la habilidad que poseen las nanopartículas en mejorar la producción.

**Palabras clave:** CHOCHO, NANOPARTÍCULAS, MICRONUTRIENTES, CALIDAD

## Abstract

The use of nanotechnology in the agricultural sector has been the focus of different studies in recent years due to the potential for sustainability in world food security; The development of this technology has allowed the creation of nano agrochemicals such as nano fertilizers that prove to be efficient when applied to crops since they have attractive physicochemical properties. With their application, a high absorption rate is obtained and greater efficiency in using fertilizers (Fátima *et al.*, 2021). Micronutrients such as iron and zinc in the form of nanoparticles have been applied foliar on different crops, showing an improvement in production in all cases. The present investigation evaluated the effect of Iron and Zinc nanoparticles on plant growth, yield, and grain quality of F3 lupine (ECU 2658 x ECU 8415), for which a completely randomized design (DCA) was established; three applications were made in different phenological states of the crop; The assumptions of the ANOVA were evaluated through the Duncan and Tukey comparison test at 5%. As a result, it was obtained that they directly affect the physiology of the crop and therefore the growth of the plant, in the case of yield, the Fe and Zn nanoparticles individually had positive effects, however, under the application of nanoparticles combined Fe+Zn decreases yield, in terms of grain quality they do not present changes, despite this, these results do not rule out the ability that possesses nanoparticles in improvement the production.

**Keywords:** LUPINE,NANOPARTICLES,MICRONUTRIENTS,QUALITY

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### Antecedentes

La utilización de nanotecnología en el sector agrícola ha sido el foco de diferentes estudios a través de los últimos años debido al potencial para la sustentabilidad en la seguridad alimentaria del mundo; el desarrollo de esta tecnología ha permitido la creación de nano agroquímicos como los nano fertilizantes que demuestran ser eficientes cuando son aplicados sobre los cultivos. Venkatachalam *et al.* (2017), evaluaron la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de zinc [ZnO-NP] sobre la reversión de los síntomas de estrés oxidativo inducido por la exposición a metales pesados en *Leucaena leucocephala*; como resultado obtuvieron un aumento en el contenido de clorofila y de proteína total de la planta, además mejoró la respuesta hacia el estrés oxidativo e incremento la absorción de nutrientes en suelos contaminados con metales pesados; este hecho demostró que el uso de nanotecnología puede resultar útil como fertilizante incluso en suelos deteriorados en donde la aplicación de fertilizantes convencionales no resulta viable para una agricultura sustentable.

El empleo de diferentes nutrientes en forma de nanopartículas a la hora de la fertilización es objeto de investigación ya que, hay que considerar la concentración de las nanopartículas debido a que un exceso provoca fitotoxicidad en la planta. Sheoran *et al.* (2021), evaluaron nanopartículas de potasio como promotoras de crecimiento en plantas de trigo, determinando que la aplicación foliar mejoró las actividades de varias enzimas, rasgos morfológicos y el rendimiento de las plantas. Esper *et al.* (2021), valoraron la aplicación de nanopartículas de hausmanita ( $Mn_3O_4NP$ ) en plantas de maíz, determinando que la aplicación afectó de manera positiva en el desarrollo de las plantas, obteniendo una mejor respuesta con una menor concentración de nanopartículas.

Por otro lado, micronutrientes como el hierro y zinc en forma de nanopartículas han sido aplicados de manera foliar sobre diferentes cultivos mostrando una mejora en la producción, en

todos los casos. Itrotwar *et al.* (2020), evaluaron nanopartículas de óxido de zinc para mejorar las características morfológicas y agronómicas en plantas de arroz; su aplicación mejoró las características agronómicas de las plantas lo que repercutió en un incremento en el rendimiento y calidad de grano de arroz. Li *et al.* (2020), valoraron la interacción de nanopartículas de hierro en el metabolismo de plantas de maíz; obteniendo una mejora en los parámetros agronómicos del cultivo, lo que demostró el potencial de las nanopartículas para promover el crecimiento de las plantas. Rostamizadeh *et al.* (2021), evaluaron las respuestas fisiológicas, moleculares y la eficacia como biofortificador de nanopartículas de óxido de hierro en plantas de trigo; su aplicación mejoró significativamente la biomasa de las plantas, a su vez que incrementó el contenido de hierro en los granos, demostrando la eficacia del uso de esta tecnología como biofortificador.

Existen reportes de trabajos con el uso de fertilizantes en base a nanopartículas de hierro, zinc en diferentes concentraciones sobre plantas de lupino que demuestran un aumento en el crecimiento, rendimiento y calidad del grano. Tariq (2020), midió la respuesta morfológica y fisiológica de *Lupinus albus* bajo la aplicación de nanopartículas de óxido de zinc; logrando mejoras en el crecimiento de las plantas debido a la facilidad con la que las plantas pueden absorber las nanopartículas; sin embargo, esta absorción se encuentra estrechamente relacionada con la concentración en la formulación de las nanopartículas. Erazo (2021), valoró el efecto de dos dosis de nanopartículas de hierro y zinc sobre plantas de chocho (*L. mutabilis*); mostrando que una dosis baja de nanopartículas influyó de manera positiva sobre la calidad de grano y el rendimiento de las plantas de chocho, estos rendimientos se relacionan con la eficiencia en la absorción y aprovechamiento de las partículas debido a su tamaño. Murgueitio *et al.* (2022), evaluaron nanopartículas dopadas en hierro, zinc y manganeso en plantas de repollo y chocho, mostrando que existió una mejora en el crecimiento de plantas tanto de repollo como de chocho (*L. mutabilis*) debido a que la liberación del nutriente dentro de la planta se produce de manera paulatina y controlada.

## Justificación

Acorde a lo expuesto por Fátima *et al.* (2021), existe una demanda cada vez mayor de alimentos, lo que ha incentivado que los agricultores incrementen el uso de fertilizantes en busca de mejoras productivas. Hay que tener en cuenta que el uso de fertilizantes aumentó exponencialmente entre los años de 1950 y 2020, de 15 a 194 millones de toneladas; sin embargo, los fertilizantes ocasionan un impacto adverso en el medio ambiente ya que liberan partículas químicas en exceso mediante escorrentía debido a su mal uso. Es por ello que se busca la utilización de maneras más eficientes de fertilizar los cultivos, una de ellas constituye el uso de fertilizantes en base a nanopartículas. Sheoran *et al.* (2021), menciona que su aplicación mejora la escorrentía de nutrientes en el suelo debido a la efectiva absorción de las moléculas por parte de la planta lo que evita pérdidas por lixiviación, esto ayuda a la transformación hacia una agricultura responsable con el medio ambiente.

Cooper y Ghanem (2017), menciona que se han identificado deficiencias de zinc y hierro entre los principales factores de riesgo para la salud humana, ya que la desnutrición de micronutrientes favorece la presencia de discapacidades, así como existe una escasa resistencia del cuerpo sobre las infecciones, a su vez está asociado al retraso en el crecimiento y desarrollo normal de los niños, la búsqueda de alimentos biofortificados que posean niveles altos de estos micronutrientes es primordial, siendo la aplicación de nanopartículas una manera sustentable que contribuye a la lucha contra la desnutrición humana.

*Lupinus mutabilis* comúnmente denominado tarwi o chocho, es una leguminosa que proviene de la zona andina en América del Sur, se la cultiva sobre los 2000 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.); por su alto valor nutritivo presenta cualidades interesantes para la nutrición humana (Falconí y Yáñez, 2022; Basantes, 2015). Debido a estas características se busca continuamente un incremento en su producción; sin embargo, el chocho en Ecuador exhibe bajos rendimientos, mismos que oscilan entre los 130-220 kg/ha (Falconí, 2012); no

obstante, estos niveles de producción han sido superados de la mano con los avances tecnológicos implementados dentro del cultivo (Falconí y Yáñez, 2019, 2017, 2016).

Con la llegada de la nanotecnología a la agricultura se busca un incremento en el rendimiento de este cultivo, así como una mejora en la calidad nutricional del grano; este aumento puede suceder mediante la aplicación foliar de nanopartículas de Fe y Zn como fertilizantes. Erazo (2021), muestra un incremento en el rendimiento y calidad del grano con el uso de esta tecnología presentando valores de 823,89 – 841,11 kg/ha; a su vez los niveles de Fe y Zn reportados mostraron un incremento del 6% con la aplicación foliar de nanopartículas con respecto al testigo, lo que incrementa su valor nutritivo convirtiéndolo en un alimento biofortificado prometedor para la seguridad alimentaria. No obstante, es trascendental considerar la concentración en que serán formuladas y aplicadas las nanopartículas, ya que esto repercute de manera directa con la salud del cultivo. Altas concentraciones producen fitotoxicidad; sin embargo, concentraciones bajas demuestran ser efectivas en la mejora de la calidad y productividad del cultivo, es por ello que se vuelve de vital importancia determinar la concentración adecuada de nanopartículas para que otorguen todos sus beneficios en la planta. Raliya *et al.* (2015), menciona que para el uso sostenible de la nanotecnología es necesario poseer una comprensión del efecto que tienen sobre el ciclo de la planta, y a su vez determinar los posibles impactos toxicológicos. Por lo expuesto, la presente investigación se fundamenta en la necesidad de una mejora productiva en los cultivos de chocho, así como en la calidad nutricional de las cosechas, a la par, los resultados proporcionarán información valiosa para mejorar la producción agrícola sostenible de este cultivo, aportando en la búsqueda por determinar la concentración de nanopartículas adecuada para el incremento en la productividad de las plantas de chocho, así como en la calidad nutricional del grano.

## **Objetivos**

### ***Objetivo General***

- Evaluar el efecto de nanopartículas de Hierro y Zinc sobre el crecimiento de la planta, el rendimiento y calidad de grano de chocho F3 (ECU 2658 x ECU 8415)

### ***Objetivos Específicos***

- Cuantificar el efecto de nanopartículas de Fe y Zn en diferentes indicadores agronómicos del crecimiento de la planta de chocho.
- Evaluar el efecto de nanopartículas de Fe y Zn sobre el rendimiento de la planta de chocho.
- Analizar la calidad de grano de chocho mediante análisis bromatológicos por efecto de nanopartículas de Fe y Zn

## **Hipótesis**

H0: Los fertilizantes en base a nanopartículas de Fe y Zn no promueven el crecimiento de la planta, el rendimiento y calidad del grano de chocho F3 (ECU 2658 x ECU 8415).

H1: Los fertilizantes en base a nanopartículas de Fe y Zn promueven el crecimiento de la planta, el rendimiento y calidad del grano de chocho F3 (ECU 2658 x ECU 8415).

## CAPITULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### **Lupinus mutabilis**

Comúnmente conocido con el nombre de chocho, tarwi o lupino andino, es una leguminosa cuyo origen proviene de los Andes sudamericanos, se encuentra cultivada casi exclusivamente en Ecuador, Bolivia y Perú (Mercado *et al.*, 2018). Es la única especie económicamente importante del género *Lupinus* que se originó en Sudamérica (Gulisano *et al.*, 2022). Dispone de un alto valor nutricional, esto lo convierte en un cultivo de importancia para la alimentación humana (Falconí y Yáñez, 2022; Basantes, 2015). Posee una amplia plasticidad lo que lo permite crecer en zonas ecológicas que comprende rangos entre los 2500-3400 m.s.n.m. (Falconí, 2012). Acorde a Huasasquiche Sarmiento *et al.* (2020), es catalogado como un cultivo provechoso para la agricultura ya que fija el nitrógeno atmosférico a una razón de 400 kg/ha.

#### **Descripción morfológica**

Es una especie anual herbácea de crecimiento erecto, alcanza alturas de 0.80-2.0 m (Jacobsen y Mujica, 2006) posee una raíz pivotante con presencia de *Rhizobium lupini* que forman nódulos bacterianos nitrificantes, tiene hojas palmilobuladas (Basantes, 2015). El color de sus peciolo puede variar entre verde y morado esto depende del contenido de antocianina presente en la planta, a su vez la pigmentación de la corola de las flores también puede variar por la cantidad de flavonas y antocianinas que posean, en una inflorescencia se puede contar más de 60 flores, aunque no se formarán frutos en todas ellas debido a la protandria (Falconí y Yáñez, 2022; Tapia, 2015) , posee vainas de manera alargada que pueden medir 5-12 cm según el número de semillas que contenga (Tapia, 2015). Sus vainas cambian de color a medida que el cultivo avanza en su etapa fenológica teniendo colores que van desde verde a marrón en donde es momento de realizar la cosecha de las semillas, sus semillas son de forma redonda y de color blanco (Villacrés *et al.*, 2006).

### **Requerimiento del cultivo**

Se cultiva en condiciones secas a una altitud de 2000 a 3850 msnm, requiere precipitaciones de 350 a 850 mm anuales (Jacobsen y Mujica, 2006; Falconí, 2012) la temperatura ideal para el cultivo varía entre 7 - 14 °C (Caicedo y Peralta, 2001). Sin embargo, posee la capacidad para resistir los diferentes climas adversos presentes en los Andes, en momentos llegando a soportar temperaturas bajo 0 °C (Huasasquiche *et al.*, 2020), se desarrolla bien en suelos francos o franco arenosos, su pH fluctúa entre 5-7, sin embargo, en suelos con pH muy ácido se reduce la fijación de nitrógeno por parte de *Rhizobium lupini*, (Tapia, 2015).

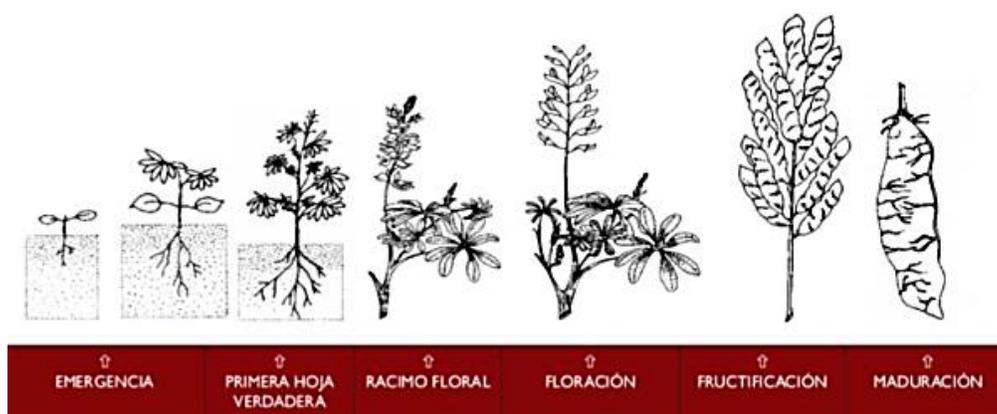
### **Etapas fenológicas del cultivo**

Son las etapas en donde ocurren cambios fisiológicos y morfológicos en todos los cultivos, estas etapas abarcan desde la siembra hasta la cosecha de los mismos. Acorde a Yzarra y López (2012), las etapas por las que el cultivo de chocho atraviesa comprenden las siguientes como se muestra en la Fig.1:

- Emergencia: En esta etapa los cotiledones se encuentran completamente extendidos sobre el suelo
- Primera hoja verdadera: La primera hoja verdadera se encuentra totalmente desarrollada
- Racimo floral: Del brote terminal surge el primer racimo floral
- Floración: Del tallo central en su racimo se abre la primera flor
- Fructificación: Se empiezan a formar las primeras vainas
- Maduración: Las semillas llegan a su dimensión final, a su vez se tornan del color característico de la variedad, en cuanto a sus vainas, estas se secan en su totalidad

## Figura 1

*Etapas fenológicas del cultivo de chocho*



*Nota.* Recuperado de (Yzarra y López, 2012).

### **Genotipo F3 (ECU 2658 x ECU 8415)**

Este genotipo se obtuvo mediante el cruzamiento de ECU 2658 X ECU 8415, la estructura de la planta no presenta diferencias significativas con respecto a las estructuras de otros genotipos, en donde se tiene en su mayoría plantas con tallo central (Guaytarilla y Falconí, 2014).

Presenta características productivas interesantes como su número de vainas con una media de 24,15 vainas por planta, mientras que, en el número de granos por vaina es de 3,82. Por otro lado, su rendimiento llega a los 1350 kg/ha (Guaytarilla y Falconí, 2014).

### **Composición química del grano**

El chocho posee un gran valor nutritivo, lo que lo convierte en un cultivo importante para la nutrición humana, sus granos están constituidos por proteínas y aceites en más de la mitad de su peso (Garay, 2015). Acorde a Falconí (2012) y Falconí y Yáñez (2022), el contenido de proteína en el grano varía en entre 35 a 45%. Paralelo a lo expresado, Basantes (2015), señala que su contenido proteico aumenta considerablemente cuando a los granos se los convierte en harina presentando valores de 41- 49,6 %. Contiene ácidos grasos esenciales para la dieta humana presentando valores de 37,10% de linoleico, 40,40% de ácido oleico y 2,90% de

linolénico (Villacrés *et al.*, 2006). *L. mutabilis* es una de las especies de lupinos domesticados que se identifican por tener un contenido similar de grasas, así como de proteínas que la soya (Falconí y Yáñez, 2022; Czubinski *et al.*, 2021). Además, poseen la mayoría de los aminoácidos esenciales para la nutrición humana, incluidos la cisteína y metionina (Gulisano *et al.*, 2022). Gracias a los niveles que presentan en minerales importantes para la salud humana como el Zn y Fe, se lo puede considerar como un super alimento que podría ser de gran ayuda en la desnutrición existente en las zonas más vulnerables del país como se observa en la tabla 1. Adicionalmente las semillas contienen diferentes concentraciones de alcaloides, lo que les otorga un sabor amargo, a su vez los niveles de alcaloides varían siendo las maduras las que poseen las más altas concentraciones, por tanto, para su consumo hay que eliminar estos alcaloides a través del lavado continuo en agua (Falconí, 2012).

**Tabla 1**

*Análisis bromatológico del grano de chocho amargo y desamargado*

<b>Componente</b>	<b>Chocho amargo</b>	<b>Chocho desamargado</b>
Proteína (%)	47,80	54,05
Grasa (%)	18,90	21,22
Alcaloides (%)	3,26	0,03
K (%)	1,22	0,02
Mg (%)	0,24	0,07
Ca (%)	0,12	0,48
Mn (ppm)	36,72	18,47
Cu (ppm)	12,65	7,99
Fe (ppm)	78,45	74,25
Zn (ppm)	42,84	63,21

*Nota.* Recuperado de (Villacrés *et al.*, 2006)

## **Manejo agronómico del cultivo**

### ***Semilla***

Es de suma importancia adquirir semillas de calidad debido a que estas otorgan grandes beneficios a los productores (Garay, 2015). Es aconsejable desinfectar las semillas con Carboxin + Captan (Vitavax 300) al sembrar, de 1 a 2 g por cada 1 kg de semillas (Caicedo y Peralta, 2001), sin embargo recientes estudios sugieren el manejo integrado para la desinfección de semilla (Falconí y Yáñez, 2022, 2019, 2017, 2016).

### ***Preparación del suelo***

El número de tareas para preparar el suelo dependerá del terreno, topografía y cultivos anteriores (Caicedo y Peralta, 2001). Con una mejor calidad de suelo junto con la correcta preparación, se obtiene rendimientos más altos, para realizar la preparación del suelo hay que considerar la capacidad económica del productor y de las características socio-culturales del mismo ya que dependiendo de ello se podrá optar por una labranza cero o la utilización de maquinaria agrícola (Garay, 2015).

- Labranza cero:

En este procedimiento el terreno no es preparado, en su lugar se selecciona suelos suaves, que se encuentren limpios y libres de arbustos (Garay, 2015).

- Preparación con maquinaria agrícola:

Utilizando el tractor, se realiza el arado, cruzado o rastrado y surcado del terreno; esta alternativa es propia para suelos planos o con ligera pendiente, característica de valles interandinos (Garay, 2015).

### ***Siembra***

Se realiza la siembra de 3 o 4 semillas por cada sitio a una distancia de 70-90 cm entre surcos y con una distancia entre sitios de 50 cm, con esta recomendación se requiere 50-80 kg/ha en un sistema manual (Basantes, 2015; Falconí, 2012).

### **Control de malezas**

La maleza debe ser controlada en los 30 y 45 días después de la siembra, posterior a ello se realiza un aporque a los 60 días, este aporque funciona como una segunda deshierba. Es importante realizar estas actividades ya que promueven en la aireación de las raíces, por lo que favorecen el desarrollo de la planta (Falconí, 2012; Caicedo y Peralta, 2001)

### **Cosecha**

Es realizada cuando las vainas están totalmente secas; cuando la cosecha se realiza con la finalidad de obtener semillas hay que considerar que se deben seleccionar plantas sanas y cosechar por separado los ejes centrales, para fines comerciales los racimos de vainas deben ser cosechados con hoz o manualmente sin trillar las vainas secas (Falconí, 2012; Caicedo y Peralta, 2001).

### **Rendimiento del cultivo**

Acorde a Falconí (2012), puede producir alrededor de 220 kg/ha mientras que con la implementación de tecnología en el cultivo se ha visto incrementos a 250-400 kg/ha, no obstante, son escasos los productores que llegan a obtener esa producción llegando a una producción media nacional de 200 kg/ha. Sin embargo, con el manejo adecuado de la semilla y el uso de tecnología reciente (Falconí *et al.*, 2022; Falconí y Yáñez, 2022) se ha logrado una producción extrapolada de 1.8 t/ha (Falconí y Yáñez, 2022; Guaytarilla y Falconí, 2014).

### **Micronutrientes**

Los micronutrientes desempeñan un rol fundamental en el vigor de la planta, el rendimiento y la calidad de la cosecha ya que desempeñan varios roles complejos en el desarrollo de la planta, los mismos que incluyen a la fotosíntesis, respiración, síntesis de clorofila, varias funciones en enzimas, procesos metabólicos y formación de hormonas (Cooper y Ghanem, 2017). Estos son tan esenciales como cualquier macronutriente, su nombre se debe a la baja concentración en la que se hallan en los tejidos vegetales, más no a su esencialidad dentro del cultivo (Azcón y Talón, 2013). Dentro de los micronutrientes que son esenciales para

las plantas tenemos al Cobre (Cu), Molibdeno (Mo), Boro (B), Manganeseo (Mn), Zinc (Zn) y Hierro (Fe) (Vistoso y Martínez, 2019).

Todos los micronutrientes se localizan en el suelo, no obstante, la disponibilidad que estos tienen para los cultivos varía dependiendo de diversos factores como el material parental de donde se originó el suelo, textura, humedad y el pH. Este último presenta una gran importancia, ya que, en suelos ácidos se encuentran más disponibles los nutrientes, mientras que en suelos alcalinos se encuentran menos disponibles para los cultivos (Vistoso y Martínez, 2019). Se debe tomar en cuenta que una deficiencia o toxicidad de los micronutrientes puede generar una limitante en el crecimiento, lo que repercute de manera directa con el rendimiento de los cultivos, esto sin importar que los otros nutrientes esenciales para las plantas se encuentren en cantidades adecuadas, este comportamiento responde a la Ley del Mínimo propuesta por Liebig (Pereira *et al.*, 2011). A su vez los cultivos que crecen en suelos con bajos niveles de micronutrientes pueden no suministrar los niveles adecuados de diferentes nutrientes necesarios para la dieta humana, sin importar que los cultivos no muestren signos visuales de esa deficiencia (Cooper y Ghanem, 2017).

### **Hierro (Fe)**

Es un micronutriente esencial, se lo necesita en mayor cantidad que el resto de micronutrientes, llegando a ser considerado en varias plantas como un macronutriente (Pereira *et al.*, 2011). Es un elemento de transición que presenta una relativa facilidad para cambiar su estado de oxidación (Juárez *et al.*, 2007). Puede ser absorbido como  $Fe^{3+}$  y con mayor facilidad como  $Fe^{2+}$  debido a que posee una mayor solubilidad, además, otra razón para explicar la esencialidad del Fe es su papel en la biosíntesis de las moléculas de clorofila (Azcón y Talón, 2013).

Es relativamente inmóvil en el floema debido a la formación de fosfatos férricos u óxidos, no obstante, una forma estable de hierro es la acumulada en los cloroplastos de las

hojas en donde el 80% del hierro de las hojas se localiza en estos orgánulos (Azcón y Talón, 2013).

### **Disponibilidad del hierro**

Es el cuarto elemento con mayor abundancia en la corteza terrestre, representa el 5,1% de su peso total, su contenido en suelo se estima que oscila en un 3,8% (Juárez *et al.*, 2007). El contenido de hierro soluble en los suelos es extremadamente bajo en comparación con el contenido de hierro total presente en el suelo, la disponibilidad del hierro está controlada en gran parte por la solubilidad de los hidróxidos de hierro, la misma que es altamente dependiente del pH del suelo, en donde la influencia del pH está estrictamente relacionada con las solubilidades del  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  (Mengel *et al.*, 2000).

Algunas plantas son capaces de disminuir el pH del medio, esto incrementa la capacidad reductora del hierro de la superficie radicular bajo condiciones de estrés férrico, gracias a ello incrementa significativamente la disponibilidad, así como la absorción del hierro por parte de las raíces (Mengel *et al.*, 2000).

### **Funciones del hierro en la planta**

Tiene un papel importante dentro de los procesos fisiológicos y biológicos como la respiración, fotosíntesis, asimilación y fijación de nitrógeno, síntesis de hormonas, síntesis de ADN, formación y eliminación de especies reactivas de oxígeno (Li *et al.*, 2021). Forman parte en la síntesis de proteínas, varias enzimas respiratorias como la catalasa, peroxidasa, citocromo oxidasa, ferredoxina y participa en reacciones de oxido-reducción (Pérez, 2017). Por otra parte Grillet *et al.*, (2014), señala que ayuda al proceso de embriogénesis en las semillas, a su vez cumple un rol en el transporte de electrones durante la fotosíntesis, así como en la respiración de las plantas, colabora con la reducción de sulfatos y nitratos, además ayuda en la síntesis de aminoácidos y ácidos grasos.

Según lo expresado por Barker *et al.*, (2015), el hierro tiene funciones en el metabolismo de enzimas y proteínas dentro de las plantas como se indica en la tabla 2.

**Tabla 2**

*Proteínas y enzimas en las que el hierro participa en su metabolismo*

<b>Enzima</b>	<b>Función</b>
Catalasa	Ayuda a catalizar la desintegración de oxígeno y el del peróxido de hidrógeno en el agua.
Peroxidasas	Enzimas que ayudan a metabolizar varias especies reactivas de oxígeno.
Ferredoxina	Esta encargada del transporte de electrones en diferentes procesos como la reducción de sulfito, fijación de nitrógeno, fotosíntesis y reducción de nitrato.

*Nota.* Recuperado de (Barker *et al.*, 2015)

### ***El hierro en la fisiología de la planta***

#### **Absorción y translocación**

Azcón y Talón, (2013), expresa que en la absorción del resto de los micronutrientes se encuentran envueltas proteínas transportadoras de aniones o cationes que de manera general son poco selectivas, mientras que, para la absorción de hierro, las plantas desarrollan dos estrategias distintas para su adquisición la misma que va a depender de la especie.

- Estrategia I: La inducción de una reductasa férrica

Es característica de las plantas monocotiledóneas no gramíneas, así como de las dicotiledóneas, cuando se desarrollan en suelos con bajas concentraciones de hierro, a la par aumenta en la parte sub apical de las raíces el poder de reducción del hierro como la actividad de la enzima ATPasa, la misma que posee una tendencia a reducir el pH del medio lo que ocasiona que se acidifique la rizosfera incrementando la solubilidad del  $Fe^{3+}$  (Azcón y Talón, 2013).

El pH apoplástico radicular juega un rol fundamental en la captación de hierro; ya que se efectúa la reducción de  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  esto se da por medio de una enzima  $\text{Fe}^{3+}$  quelato reductasa (FCR), la misma que se encuentra en la membrana plasmática; finalmente, existe un transportador hacia la membrana celular, el mismo que introduce el  $\text{Fe}^{2+}$  hacia la parte interna de la célula; las diferentes especies que utilizan esta estrategia pueden excretar, acumular flavinas y compuestos fenólicos, a su vez acumulan ácidos orgánicos; se puede mencionar diversas plantas que presentan esta estrategia como por ejemplo: tomate, soja y arveja (Azcón y Talón, 2013).

- Estrategia II: la inducción de la excreción de fitosideróforos

Es utilizada por las gramíneas, esta se caracteriza por liberar fitosideróforos (FS) esto en condiciones de deficiencia de hierro, existe una relación directa entre la cantidad de fitosideróforos que serán liberados y el grado de clorosis férrica que presenta la planta. Estos complejos,  $\text{Fe}^{3+}$ -fitosideróforos, son absorbidos sin tener una reducción previa, esto ocurre debido a que poseen un sistema de transporte de alta afinidad; cuando el complejo llega al citosol será liberado el  $\text{Fe}^{3+}$  y el fitosideróforo procede a degradarse o a su vez es excretado hacia el exterior, hay que considerar que la velocidad de absorción de estos complejos está estrechamente relacionada con el grado de deficiencia de hierro presente en la planta (Azcón y Talón, 2013).

### ***Deficiencia y toxicidad***

Dentro de los síntomas visibles de una deficiencia de hierro en la planta se da la presencia de clorosis la misma que se las puede observar en las hojas jóvenes en donde las nervaduras permanecen verdes en un marcado contraste con el fondo verde amarillento del resto del tejido de las hojas (Pereira *et al.*, 2011). En suelos calcáreos es común encontrar plantas que presentan deficiencias debido a que la solubilidad del hierro es baja en un pH básico, a su vez una deficiencia puede generar cambios en la estructura de los cloroplastos, lo que ocasiona una clorosis férrica (Azcón y Talón, 2013). Por otra parte, la toxicidad de hierro es

especialmente problemática en los suelos inundados como en el caso de los cultivos de arroz, ya que el agua solubiliza al hierro, esto genera un incremento el nivel de hierro soluble, lo que genera problemas de toxicidad en la planta (Mengel *et al.*, 2000).

Barker *et al.*, (2015), menciona que una deficiencia de Fe en plantas de arveja (*Pisum sativum*) generó una disminución en picada del contenido de clorofila, así como de carotenoides, a su vez la actividad de diferentes enzimas como la peroxidasa y catalasa sufrieron una reducción principalmente en hojas jóvenes.

### **Contenido de Fe en las plantas**

Acorde a lo mencionado por Uchida y Silva, (2007), los niveles de Fe en los tejidos de leguminosas oscilan entre valores de 50-400 ppm, esto se corrobora con lo expresado por Barker *et al.*, (2015), en donde el contenido de Fe dentro las plantas leguminosas como la soya (*Glycine max*) y el fréjol (*Phaseolus vulgaris*) pueden tener un rango de 25-300 ppm en donde los niveles adecuados de concentraciones varía dependiendo del crecimiento de la misma ver Fig 2., además expresa que las concentraciones de Fe en las semillas son menores que en hojas, como lo indica la tabla 3.

**Tabla 3**

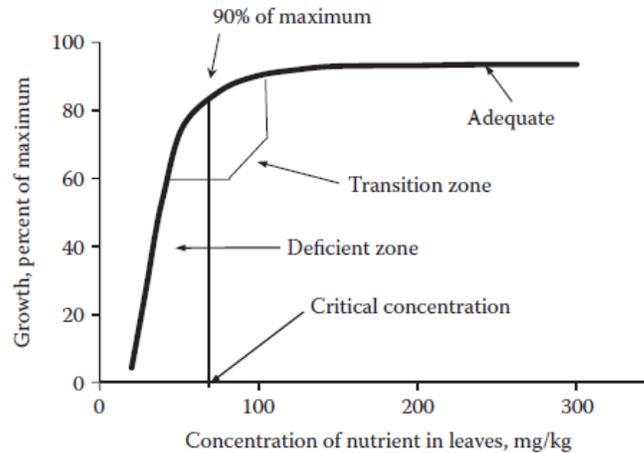
*Contenido de Fe (ppm) en tejidos y semillas de leguminosas*

<b>Leguminosa</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Contenido de Fe</b>
Soya ( <i>Glycine max</i> )	Hojas maduras	25-300 ppm
Fréjol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	Hojas maduras	25-300 ppm
Arveja ( <i>Pisum sativum</i> )	Semillas	46-54 ppm
Fréjol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	Semillas	60-80 ppm

*Nota.* Recuperado de (Barker *et al.*, 2015)

## Figura 2

Crecimiento de las plantas como respuesta a concentraciones de Fe en hojas



Nota. Recuperado de Barker *et al.* (2015)

### **Interacción del hierro con micronutrientes metálicos**

El Fe tiene una interacción con los diferentes micronutrientes, en los que se puede resaltar los metálicos como el Zinc ( $Zn^{2+}$ ) o el Cobre (Cu) o ; los cuales pueden generar una disminución en la acumulación de Fe en los cultivos, como muestra de ello se encuentra el trabajo realizado por Michaud *et al.*, (2007), en plantas de trigo, en donde obtuvo que las concentraciones de Cu y Fe en los brotes sufren una variación de manera inversa, por lo tanto, propone que existe un antagonismo entre estos elementos. De manera similar para el  $Zn^{2+}$ , que presenta un antagonismo con el contenido de Fe en las plantas, como corroboran los resultados obtenidos por Martínez *et al.*, (2013), en plantas de naranja (*Citrus aurantium*) de cultivos in-vitro con medios que contenían Fe quelatado (EDDHA) y  $Zn^{2+}$ , se determinó que existe una relación inversa entre las concentraciones de Fe y Zn tanto en brotes como en raíces. Además, acorde a Barabasz *et al.*, (2012), en plantas de tomate, un exceso en los niveles de  $Zn^{2+}$  ocasiona una deficiencia de Fe en las hojas de las plantas, lo que a su vez genera una lenta activación transcripcional en los diferentes sistemas de absorción que tiene el Fe en las raíces de las plantas.

## **Zinc (Zn)**

Es uno de los micronutrientes esenciales para las plantas es necesario para la actividad de diferentes enzimas, entre ellas las deshidrogenasas, aldolasas, isomerasas, transfosforilasas, ARN y ADN polimerasas, también participa en la síntesis de triptófano, la división celular, el mantenimiento de la estructura de la membrana y la fotosíntesis; actúa también como cofactor regulador en la síntesis de proteínas (Davaranah *et al.*, 2016). Constituye cerca de 65 g por cada tonelada de corteza terrestre, teniendo una abundancia promedio en la litosfera de 8 ppm, en suelos normales oscilan valores entre 10-30 ppm de zinc total, sin embargo, esto no se correlaciona con su disponibilidad hacia la planta (Pérez, 2017). Es un constituyente de diversas enzimas, desempeña un papel primordial en la regulación del metabolismo del nitrógeno, la fotosíntesis, la multiplicación celular, el crecimiento de brotes en zonas meristemáticas y la síntesis de auxinas (Gil *et al.*, 2013).

### ***Disponibilidad del zinc***

La dinámica del zinc en el suelo es similar al cobre o hierro, en donde cuando se tiene un pH menor de 5 es más disponible mientras que a un pH mayor va perdiendo su disponibilidad ya que forma compuestos poco solubles, hay que tener en cuenta que las pérdidas por lixiviación aumentan cuando se incrementa la solubilidad, además, en suelos básicos posee de una movilidad limitada debido a que el carbonato de calcio reacciona con el zinc, como resultado se reduce su disponibilidad (Marschner, 2012). La absorción de Zinc puede ser privada por la presencia de otros metales pesados debido a su mayor facilidad de quelación con los ácidos orgánicos de las plantas (Licto, 2017).

### ***Funciones del zinc en la planta***

Dentro de las diferentes funciones del Zn tenemos a la regulación de la expresión de genes al formar parte de factores de transcripción que han sido implicadas en la regulación de procesos biológicos como desarrollo de la morfogénesis regulada por la luz, respuestas a patógenos y ayuda en la formación de la flor (Gil *et al.*, 2013). A su vez existe una relación

entre los niveles de Zn y la concentración de auxinas (AIA) , debido a que se involucrado en la síntesis del triptófano que es un aminoácido precursor de dicha hormona; es necesario para la actividad de al menos ochenta sistemas enzimáticos por ejemplo tenemos a la alcohol-deshidrogenasa y la NADH-deshidrogenasa que catalizan el paso del acetaldehído a etanol en la fermentación alcohólica; cabe destacar la intervención del Zn en la estabilidad del ribosoma y su presencia en la RNA polimerasa, lo que lo convierte en un regulador de la expresión génica (Azcón y Talón, 2013). Tiene relación directa con las actividades de diferentes enzimas, en las que se puede destacar a las deshidrogenasas, fosfatasa, aldolasas, transfosforilasas, isomerasas, así como en la ADN y ARN polimerasas. Además, juega un papel fundamental en las membranas ya que se une a los grupos sulfhidrilos y fosfolípidos de las membranas (Broadley *et al.*, 2012).

### ***El zinc en la fisiología de la planta***

#### **Absorción y translocación**

Es absorbido por la planta en forma de quelato ya sea por vía foliar o radicular. En el transporte dentro del xilema está atado a los ácidos orgánicos o como catión divalente libre, mientras que en el floema se encuentra en concentraciones altas en donde se encuentra ligado a solutos orgánicos que generalmente poseen un bajo peso molecular, adicionalmente puede estar ligado a la protección de proteínas de membrana, así como lípidos en contra el daño oxidativo (Marschner, 2012).

El transporte desde las células corticales y epidermales hacia el xilema de la raíz ocurre por vía simplástica, donde el Zn es enviado hacia el apoplasto de la estela, en esta vía se cataliza por medio de la membrana plasmática, también es liberado extracelularmente al apoplasto de la estela (Gil *et al.*, 2013).

#### ***Deficiencia y toxicidad***

Es la deficiencia en micronutrientes más frecuente en los cultivos; no obstante, hay que considerar que las plantas tienden a variar en un amplio margen en la susceptibilidad hacia la

deficiencia de Zn, a su vez esta respuesta se encuentra relacionada con las capacidades tanto para absorber como para translocar Zn que tenga cada planta.(Barker *et al.*, 2015)

El déficit impide que las plantas logren expresar todo el potencial genético a su vez provocará graves limitantes en la productividad de los cultivos, así como en el valor nutricional de los mismos (Ittroutwar *et al.*, 2020). Origina una clorosis intervenal, esto ha ocasionado que se lo relacione con un papel estabilizador del Zn sobre la molécula de clorofila, esta deficiencia produce una disminución en el crecimiento de las hojas, así como un acortamiento en la longitud de los entrenudos, dicha disminución en el tallo se ha relacionado con la producción de ácido indolacético (AIA) por parte de la planta (Azcón y Talón, 2013). Por otra parte, Pérez (2017), menciona que una deficiencia provoca un tipo de crecimiento en roseta en la mayoría de los cultivos. Además, este déficit causa una reducida síntesis de proteína por lo que afecta en los niveles de aminoácidos, a su vez afecta la actividad de varias enzimas respiratorias, asimismo existe una acumulación de quinonas (Gil *et al.*, 2013). Además, cabe señalar que, en plantas con presencia de deficiencias en Zn, se acumulan aminoácidos libres debido a una reducción en la tasa de síntesis de proteínas lo que repercute en la disminución en la concentración de proteínas, a su vez provoca una baja en la actividad de la anhidrasa carbónica, además, varias enzimas del metabolismo de los carbohidratos se ven afectadas en su actividad (Broadley *et al.*, 2012).

Otro efecto a considerar de una deficiencia de Zn es que produce síntomas como un retraso en el crecimiento, así como en la formación de rosetas, a su vez las hojas son pequeñas, todos estos síntomas se encuentran relacionados con alteraciones en el metabolismo del ácido indolacético (AIA) (Barker *et al.*, 2015) .

Cabe señalar que Broadley *et al.*, (2012), afirma que una toxicidad no es muy frecuente sin embargo esta puede ocurrir de manera especial en suelos contaminados por la añadidura de subproductos de minería, fundición o a su vez lodos provenientes de aguas residuales. Barker *et al.*, (2015), resalta que los síntomas de toxicidad pueden notarse si las

concentraciones se encuentran en un rango de 100 a >300 ppm, pese a ello es importante señalar que ese rango de valor tóxico varía según el cultivo ya que diversos cultivos toleran concentraciones que superan los 350 ppm y se encuentran como valores normales dentro de la planta

### **Contenido de Zn en las plantas**

La concentración de Zn en las partes de la planta varía de 15 a 20 a más de 300 ppm (Bryson *et al.*, 2014). Acorde a lo mencionado por Barker *et al.*, (2015), el contenido de Zn en los tejidos de leguminosas como la Soya (*Glycine max*), Fréjol (*Phaseolus vulgaris*) presentan valores de 20-75 ppm como se indica en la tabla 4.

Barker *et al.*, (2015), menciona que en la mayoría de las plantas existe un rango para detectar niveles críticos con el fin de evitar limitaciones en el crecimiento ocasionados por deficiencias de Zn estos valores se encuentran entre 15 y 20 ppm.

Por otra parte, en las semillas, la mayor parte del Zn se encuentra concentrado en el fitato (polifosfato de inositol), que es una molécula cargada negativamente lo que ocurre debido a la presencia de los grupos fosfato que generan una alta afinidad por el Zn lo que ayuda en la formación de complejos poco solubles (Broadley *et al.*, 2012).

### **Tabla 4**

*Contenido de Zn en tejidos de leguminosas*

<b>Leguminosa</b>	<b>Ubicación</b>	<b>Contenido de Zn</b>
Soya ( <i>Glycine max</i> )	Hojas maduras	20-75 ppm
Fréjol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	Hojas maduras	20-75 ppm

*Nota.* Recuperado de (Barker *et al.*, 2015)

### **Interacción del Zn con el hierro**

Shahriaripour y Tajabadipour, (2010) , trabajaron con plantas de pistacho (*Pistacia vera*) en donde encontraron que plantas bajo deficiencias en Zn poseían concentraciones de Fe

significativamente mayores sobre plantas con niveles de Zn óptimos , en base ello se encontró una relación para el comportamiento del Zn donde a medida que incrementaba la concentración de Zn en el sustrato, las concentraciones de Fe disminuyó, por lo que afirmaron que la aplicación de Zn repercute sobre la concentración de hierro en las plantas, es por ello que se obtiene una relación antagonista entre el Zn y Fe. Un ejemplo de ello se da en el trabajo expuesto por Ghasemi y Ronaghi,(2008) , en donde se determina que la aplicación al suelo de Fe quelatados (EDDHA) o a su vez la aplicación foliar de Fe aumenta la concentración de hierro pero disminuye la de Zn, sin embargo en el trabajo expuesto por Morgounov *et al.*, (2007), en plantas de trigo se demostró una correlación positiva entre el Fe y el Zn en el grano debido a que las condiciones que conducen a la acumulación de Zn en las plantas también pueden favorecer la acumulación de hierro.

### **Ácido indol acético (AIA)**

Es considerada como la auxina más importante que es producida por las plantas, esta juega un papel vital para diversos procesos metabólicos y fisiológicos dentro de la planta como la formación de hojas, desarrollo de raíces y embriones, fototropismo, abscisión, desarrollo de la fruta, geotropismo, entre otros (Chandra *et al.*, 2018). Además, el AIA está directamente relacionado con la división y alargamiento celular, iniciación de raíces, dominancia apical y producción de biomasa en las plantas (Soundar *et al.*, 2020).

Se considera que el triptófano es el precursor de la biosíntesis de AIA, es por ello que las bajas concentraciones de AIA en hojas deficientes de Zn, así como una deficiente acumulación de triptófano permiten inferir que el Zn ayuda en la biosíntesis de AIA (Barker *et al.*, 2015).

### **Métodos de cuantificación de AIA**

Para la cuantificación de la biosíntesis de AIA, existen diversos métodos como el método colorimétrico de Salkowski o la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) (Castillo *et al.*, 2005) , la espectrometría de masas en tándem de ionización por electrospray

(LC-ESI-MS / MS), la cromatografía líquida y por último mediante la cromatografía de capa fina de alto rendimiento (HPTLC) (Gang *et al.*, 2019).

El método más utilizado es el colorimétrico, empleando el reactivo de Salkowski, hay que señalar que este reactivo es una mezcla de cloruro férrico generalmente con una concentración de 0.5 M (FeCl<sub>3</sub>) junto con ácido perclórico al 35 % (HClO<sub>4</sub>), cuando reaccionan estos compuestos con AIA produce un color rosado, esto ocurre gracias a la formación de complejos de AIA, así como a la reducción de Fe<sup>3+</sup> (Kamnev *et al.*, 2001) . A su vez Rahman *et al.*, (2010), indica que el color desarrollado por la reacción positiva señala una presencia de diversos compuestos indólicos esto se dan como resultado del metabolismo del triptófano.

### **Nanotecnología**

Es una de las tecnologías de vanguardia que está revolucionando casi todos los ámbitos de nuestra vida debido a su potencial benéfico para el humano (Ekinci *et al.*, 2014).Va de la mano con la fabricación de materiales que poseen una dimensión menor a 100 nanómetros (nm), dichos materiales tienen varias aplicaciones en diferentes áreas, gracias a las interesantes propiedades fisicoquímicas que presentan (Raliya *et al.*, 2015).

### ***Nanotecnología en la agricultura***

Para el año 2050 se tiene la necesidad de alimentar a 9 mil millones de personas, por lo que se investiga el uso de esta tecnología en diversos cultivos buscando una mejora productiva en los mismos (Raliya *et al.*, 2015).

Su uso como fertilizante podría desarrollar un papel primordial en la búsqueda de una agricultura sostenible con el ambiente mejorando la producción de cultivos y a la par de reducir el uso de productos fitosanitarios (Mahakham *et al.*, 2017); esta tecnología posee una liberación lenta y sostenida del fertilizante lo que ayuda a reducir la lixiviación de nutrientes (Fátima *et al.*, 2021).

## **Nanopartículas (NP)**

Se considera nanopartícula a un material cuya dimensión oscila valores menores a 100nm (DeRosa *et al.*, 2010). Poseen propiedades fisicoquímicas atrayentes para su uso como nano fertilizantes (NF) debido a la facilidad que posee al convertirse en nutrientes para plantas, en donde con su aplicación se obtiene una alta tasa de absorción y una mayor eficacia en la utilización de fertilizantes (Fátima *et al.*, 2021).

### ***Nanopartículas de hierro (Fe-NP)***

El correcto crecimiento de los cultivos aplicados nanopartículas de Fe depende de diversos factores entre los que podemos resaltar: la especie del cultivo, la dosis, el tiempo de exposición y la frecuencia de aplicación (Rostamizadeh *et al.*, 2021). Las nanopartículas de Fe han demostrado ser eficientes en un incremento de varios parámetros productivos, sus efectos no solo pueden ser observados en la parte aérea de la planta en donde se presenta una mejora en el contenido de clorofila, y biomasa de la hoja, su aplicación foliar a la par aumenta la biomasa de la raíz, generando plantas más resistentes al estrés por sequía (Li *et al.*, 2020). La aplicación de nanopartículas de óxido de hierro ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ -NP) aumentan el contenido de fitohormonas de enzimas antioxidantes (Rui *et al.*, 2016). Además, hay que señalar que su uso no solo obtuvo mejoras en la biomasa, sino que a su vez se encontró que se encuentra asociada con cambios en la expresión de diversos genes en las hojas, es por estos cambios morfológicos que se considera que puede reforzar el sistema de defensa en los cultivos, así como mejorar la protección de las plantas contra condiciones de estrés biótico y abiótico (Rostamizadeh *et al.*, 2021). Sin embargo, el uso de nanopartículas de Fe en un principio fueron destinadas con el propósito de remediar aguas subterráneas y suelos contaminados (Fátima *et al.*, 2021).

### ***Nanopartículas de zinc (ZnO-NP)***

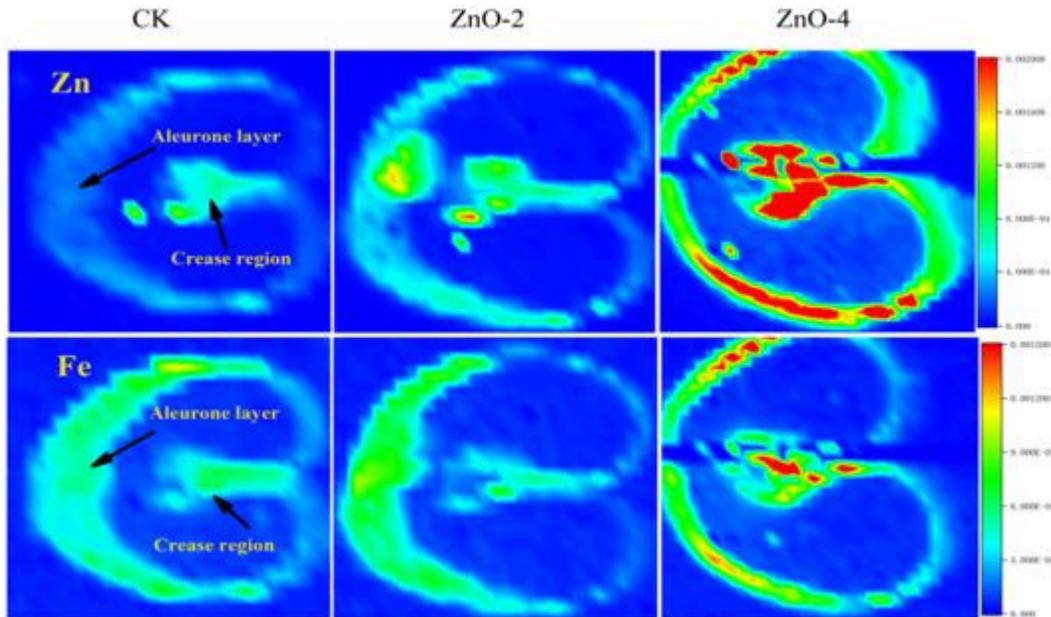
La interacción de las nanopartículas de Zinc con el crecimiento de la planta, así como la concentración con la que es usada ha sido objeto de diversos estudios en diferentes cultivos

(Fátima *et al.*, 2021). En plantas de maní se observó cómo promovió diversos aspectos en diferentes etapas fenológicas del cultivo, por ejemplo; en etapas iniciales mejoró la germinación de semillas y el vigor de las semillas, mientras que en etapas vegetativas incrementó el contenido de clorofila, crecimiento de brotes y raíces por otra parte en etapas de producción promovió una floración temprana y a su vez modificó el rendimiento de las vainas (Prasad *et al.*, 2012). En plantas sometidas a diferentes concentraciones de ZnO- nanopartículas, se determinó que con una concentración de 1000 mg/kg se obtienen efectos negativos en el crecimiento, por lo tanto, la aplicación de nanopartículas es beneficiosa siempre y cuando son usadas con precaución (Song y Kim, 2020).

Sun *et al.*, (2020), en su trabajo con granos de trigo menciona que la distribución de oligoelementos como el Fe o el mismo Zn pueden cambiar, estos elementos se acumulan principalmente en la capa de aleurona y en la región del pliegue, es por ello que se tiene que tener en cuenta la interacción presente entre los dos micronutrientes a la hora de su aplicación ya que tienen una relación antagónica en muchos casos. Sin embargo, se han encontrado resultados de sinergismo en bajas concentraciones; a su vez es de vital importancia señalar que las concentraciones de Zn en el endospermo del grano aumentaron en relación con el control como se muestra en la Fig.3. Además, es importante señalar que, aunque la fertilización con ZnO-nanopartículas puede aumentar las concentraciones de Zn dentro del grano esta no se debe a la translocación de las nanopartículas de ZnO directamente al grano, al contrario, una vez la nanopartículas ingresa a la planta esta tiende a acumularse de la misma forma que en las plantas fertilizadas con una forma convencional de Zn, sin embargo, la diferencia está en el tiempo, la cantidad y la velocidad que tarda en ingresar el fertilizante en el interior de la planta.

**Figura 3**

Distribución de Zn en secciones transversales de granos de trigo



*Nota* Tres tratamientos (150  $\mu\text{m}$  de espesor): control CK (sin Zn agregado), ZnO-2 (ZnO-Nanopartículas rociado dos veces) y ZnO-4 (ZnO-Nanopartícula rociado cuatro veces). Recuperado de(Sun *et al.*, 2020).

Sun *et al.*, (2020), encontró que la aplicación de ZnO-nanopartículas no afecta a la distribución con la que se encuentra el Zn en el grano, al contrario de esto se determinó que este solo aumenta la concentración de Zn sin cambiar la distribución como se ve en la Fig.3. A su vez la concentración de oligoelementos como el Fe en el grano no había aumentado significativamente.

### **Absorción de las nanopartículas**

Tienen que atravesar las paredes celulares y las membranas plasmáticas de las capas epidérmicas en las raíces para lograr ingresar al xilema, las paredes celulares poseen un grosor que oscila entre los 5-20 nm, esta dimensión permite que funcionen como tamices naturales, por lo que las nanopartículas con un tamaño más pequeño que el poro pueden atravesarla con facilidad y alcanzar la membrana plasmática, aunque se ha reportado que las

nanopartículas pueden inducir la formación de poros nuevos, a su vez la estructura del xilema juega un papel fundamental debido a que su estructura determina la velocidad del transporte de las nanopartículas, es por ello que plantas con diferentes estructuras pueden mostrar diferentes cinéticas en la absorción de nanopartículas (Ma *et al.*, 2010).

### **Fitotoxicidad de nanopartículas**

Aunque la investigación sobre la absorción, toxicidad y acumulación de nanopartículas en las plantas aún se encuentra en una etapa rudimentaria, en los últimos años se han producido nuevos avances (Ma *et al.*, 2010), no obstante, sigue siendo controvertido si las nanopartículas son tóxicas o beneficiosas para las plantas, ya que se ha determinado que la acumulación de nanopartículas metálicas como el Fe y Zn en altas concentraciones producen una afección en las respuestas eco fisiológicas de las plantas (Song y Kim, 2020). También podrían adherirse a las raíces de las plantas y ejercer toxicidad ya sea química o física (Ma *et al.*, 2010). Sin embargo, hay que considerar que el impacto de las nanopartículas en las plantas varía dependiendo de diversos factores como la concentración, composición, tamaño, pH entre otras; además hay que considerar que las respuestas obtenidas dependerán de manera directa con las especies de plantas utilizadas, (Fátima *et al.*, 2021). La mayoría de los estudios con nanopartículas indicaron la existencia de cierto grado de fitotoxicidad, en especial en presencia de altas concentraciones, por ejemplo; Lin y Xing, (2008), demostró que las nanopartículas de óxido metálico son inhibitoras en diferentes etapas del desarrollo de los cultivos, lo que se corrobora con lo expuesto por Lee *et al.*, (2008), en donde las nanopartículas metálicas en altas concentraciones producen una reducción en la tasa de crecimiento de las plántulas. Además, Ma *et al.* (2010), indica que una fitotoxicidad de nanopartículas metálicas y sus óxidos es compleja debido a la posible disolución de iones metálicos. La toxicidad puede ocasionarse debido a las interacciones físicas entre las nanopartículas y las vías de transporte que poseen las células vegetales, en donde se pueden inhibir el tráfico apoplástico, debido a taponamientos en los poros de la pared celular (Ma *et al.*, 2010). Se demostró que el diámetro de los poros de

la pared celular puede cambiar dependiendo del tamaño de las nanopartículas, cabe resaltar para que la toxicidad sea observable se necesita que la concentración de nanopartículas sobrepase el umbral de toxicidad, el mismo que va a depender de manera directa del cultivo (Lee *et al.*, 2008). Además, hay que considerar que es el tamaño de las partículas junto con el área de superficie específica los indicadores más apropiados para detectar fitotoxicidad mas no el grado de concentración de las nanopartículas (Barrena *et al.*, 2009). Los rasgos fenotípicos de plantas que presentan un efecto fitotóxico incluyen un crecimiento atrofiado, una biomasa reducida, así como una notoria deformidad de la cubierta de la raíz, estos cambios en la raíz se corroboran con el trabajo expuesto por Lin y Xing (2008), en donde las puntas de las raíces se encogieron y las células epidérmicas, corticales colapsaron.

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Ubicación del lugar de investigación

La presente investigación se desarrolló en las parcelas experimentales del laboratorio de Fitopatología, en la Hacienda el Prado perteneciente a la Carrera de Agropecuaria IASA-I de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE”, provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui parroquia San Fernando como se observa en la Fig 4. Se encuentra a una Latitud de 0°23'20” S; longitud de 78°24'44” O; altitud de 2750 m.s.n.m., con una precipitación anual que oscila los 800-1325 mm, además, posee de una temperatura media anual 14°C.

#### Figura 4

*Vista satelital del lugar de estudio*



*Nota.* Extraído de Google Earth

#### Materiales

##### *Materiales de campo*

- Flexómetro
- Libreta
- Cintas de color blanco

- Cintas de color azul
- Cintas de color amarillo
- Cintas de color verde
- Atomizador
- Fundas con cierre hermético
- Rotulador permanente

### ***Materiales de laboratorio y reactivos***

#### **Materiales de laboratorio**

- Micropipetas
- Vasos de precipitación
- Tubos de precipitación
- Embudo de cristal
- Papel filtro
- Papel aluminio
- Gradillas
- Balón de destilación
- Crisol
- Mortero
- Tubos eppendorf
- Celdas para espectrofotometría
- Micro celdas para espectrofotometría
- Envases estériles para muestras
- Fundas de papel kraft

#### **Reactivos**

- Reactivo Salkowsky
- Acetona

- Alcohol 96°
- Alcohol 70°
- PBS
- Ácido Clorhídrico
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O al (0,5 M)
- Ácido indol acético (AIA)
- Pierce™ BCA Protein Assay Kit - Thermo Fisher Scientific

### ***Equipos***

- Fluorómetro de clorofila CCM-200 Chlorophyl Content Meter (Opti-Science)
- Espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific Evolution 260 Bio
- Espectrofotómetro UV/Visible para ELISA
- Espectrofotómetro de absorción atómica
- Balanzas
- Mufla
- Molinillo para café
- Molinillo para hojas
- Campana extractora de gases
- Estufa
- Microcentrifugadora Micromax 24x
- Ultracongelador
- Plancha
- Vórtex

## **Métodos**

### ***Parcelación***

Del área total del terreno se delimitaron parcelas cada una de 4x5m, dando un total de 12 parcelas, en cada una cinco surcos, distancia entre surcos de 0,80 m (Falconí, 2012).

### ***Siembra***

En cada surco se realizaron hoyos a una distancia de 0,5 m en donde se colocaron 3 semillas (Falconí, 2012).

### ***Delimitación de las parcelas experimentales***

Del total de parcelas se las dividió por cada tratamiento y repetición de manera aleatoria contando con un total de 3 por cada tratamiento, luego de ello se realizó la rotulación de cada una como se observa en la Fig 5.

## **Figura 5**

### ***Delimitación de parcelas***



*Nota.* Autoría propia

### ***Delimitación de las plantas***

De manera aleatoria se seleccionaron 10 plantas de cada unidad experimental mismas que se marcaron utilizando cintas plásticas de diferentes colores, en donde el color blanco representó al tratamiento testigo, el azul al tratamiento con Fe- nanopartículas, mientras que el

verde fue el tratamiento con Zn- nanopartículas, por último, para el tratamiento con Fe-NP+ Zn- nanopartículas se utilizó el amarillo, como se indica en la Tabla 5 y Fig. 6.

**Tabla 5**

*Delimitación de las plantas*

Tratamiento	Color de la Cinta
Testigo	Blanco
Fe-Nanopartículas	Azul
Zn- Nanopartículas	Verde
Fe + Zn - Nanopartículas	Amarillo

*Nota.* Autoría propia.

**Figura 6**

*Delimitación de plantas*



*Nota.* Autoría propia.

### ***Preparación de nanopartículas de Fe y Zn***

La formulación de las nanopartículas de Fe y de Zn se realizó en base a la metodología expuesta por Murgueitio *et al.* (2022), para la síntesis de nanopartículas, fueron preparadas con una concentración de 80 ppm para cada mineral.

### **Aplicación de tratamientos**

A las 10 plantas seleccionadas se aplicó en el follaje 20 ml de cada tratamiento de nanopartículas mediante un atomizador, se realizaron tres aplicaciones en diferentes estados fenológicos del cultivo como se indica en la Tabla 6.y Fig.7

**Tabla 6**

*Días después de la siembra en los que se aplicaron los tratamientos*

<b>Etapas fenológicas</b>	<b>Días después de la siembra (dds)</b>
Desarrollo	69 dds
Vegetativo	90 dds
Floración	111 dds

*Nota. Autoría propia*

**Figura 7**

*Aplicación de tratamientos*



*Nota. Autoría propia.*

## **Variables agronómicas**

Las variables medidas en campo fueron el índice del contenido clorofila medido con fluorómetro, número total de vainas, número de semillas por vaina, porcentaje de semilla no comercial y rendimiento.

### ***Índice del contenido de clorofila medido con fluorómetro de clorofila***

Se lo realizó con la ayuda de un fluorómetro CCM-200 Chlorophyll Content Meter (Opti-Science), mismo que fue calibrado previo a las lecturas de clorofila, se tomaron 10 hojas al azar de cada planta marcada y se realizaron las mediciones, colocando el centro de la hoja en el campo de lectura del equipo, revisando que cubra por completo, posteriormente se presionó hasta que el equipo arrojó un solo sonido y un valor. Si el equipo presentó más de un sonido, la lectura fue descartada. Estas mediciones se realizaron después de cada aplicación de nanopartículas.

### ***Cuantificación del número total de vainas***

Para este procedimiento se sumó el total de vainas en las ramas laterales junto con el total de vainas centrales de las 10 plantas de cada unidad experimental, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Número total de vainas} = \text{Vainas en el tallo principal} + \text{Vainas en ramas laterales}$$

### ***Cuantificación del número de semillas por vaina***

Una vez contabilizadas las vainas de las 10 plantas, se abrieron para contabilizar el número de semillas por vaina, luego se calculó el promedio para obtener el número de semillas por vaina (Falconí, 2012).

### ***Porcentaje de semilla no comercial***

Fue calculado en base a la metodología descrita por Falconí (2012), una vez finalizado el pesaje total de semillas de cada tratamiento y repetición, se clasificaron las semillas separando las dañadas, pesadas y con los valores hallados se procedió a calcular el porcentaje de semilla no comercial, utilizando la siguiente relación:

100% ..... *Peso total de las semillas*

*x%* ..... *Peso total de las semillas dañadas*

Por lo tanto, se aplicó la siguiente fórmula:

$$x\% = \frac{\text{Peso total de todas las semillas}}{100 \cdot \text{Peso total de las semillas dañadas}}$$

### **Rendimiento**

Fue calculado en base a la metodología descrita por Falconí, (2012), una vez finalizado el pesaje total y clasificación de semillas de cada tratamiento y repetición se procedió a extrapolar el rendimiento a Kg/Ha, utilizando las siguientes relaciones:

- Para obtener el rendimiento de la parcela experimental:

*Rendimiento peso gramos* ..... 10 *Plantas*

*X* ..... 50 *Plantas*

Por lo tanto, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento} \left( \frac{g}{\text{Parcela exp}} \right) = \frac{50 * \text{Rendimiento peso gramos}}{10}$$

- Para obtener el rendimiento a 1 Ha:

*Rendimiento*  $\left( \frac{g}{\text{Parcela exp}} \right)$  ..... 0,02 *Ha (dimensión parcela exp)*

*X* ..... 1 *Ha*

Por lo tanto, se aplicó la siguiente fórmula:

$$X \left( \frac{Kg}{Ha} \right) = \frac{1 * \text{Rendimiento} \left( \frac{g}{\text{Parcela exp}} \right)}{0,02} * \frac{1 Kg}{1000 \text{ gramos}}$$

### **Variables fisiológicas**

Las variables medidas en laboratorio fueron el contenido de clorofila, ácido indol acético en raíces, a su vez niveles de Fe, Zn y proteínas en hojas y semillas.

### **Recolección del material vegetal**

Se tomaron las hojas de la planta de manera aleatoria de la parte superior, las mismas fueron colectadas en bolsas de sello hermético oscuras, posteriormente fueron transportadas hacia el ultra congelador de manera inmediata para su conservación para los análisis correspondientes.

### **Contenido de clorofila mediante espectrofotometría**

Se pesaron 1 g de muestra de las hojas, se trituró y suspendió en un volumen de 5 ml de acetona al 90% (v/v) como disolvente extractor de los pigmentos, posteriormente se agitó y se dejó en la oscuridad durante 24 h, posterior a ello se centrifugó a 14000 RPM durante 10 minutos, se extrajo el sobrenadante 0,5 ml y se le añadió 4,5 ml de acetona 80%. Las muestras se midieron a una absorbancia de 663,2 y 646,8 nm, como blanco se utilizó el propio disolvente. Para el análisis de clorofila a y clorofila b resultantes se utilizaron las fórmulas propuestas por Sumanta *et al.*, (2014) :

$$Ch - a = 12,25 A_{663,2} - 2,79A_{646,8}$$

$$Ch - b = 21,5 A_{646,8} - 5,1A_{663,2}$$

Donde:

$Ch - a =$  Clorofila a

$Ch - b =$  Clorofila b

$A_{663,2} =$  Valor de absorbancia medido a 663,2 nm

$A_{646,8} =$  Valor de absorbancia medido a 646,8 nm (Sumanta *et al.*, 2014).

### **Contenido de ácido indol acético (AIA) en raíces mediante espectrofotometría**

Se tomaron muestras de las raíces de cada tratamiento y repetición, posteriormente se preparó el reactivo Salkowski, así: 25 ml de agua destilada, 15 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 75 ml de FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O con una concentración de 0,5 M, luego se realizó una curva estándar para su calibración para lo cual se preparó una solución madre que contenía ácido 3-indol acético (AIA) con 5 mg /

5 ml de acetona al 80%, para las soluciones estándar se trabajó con concentraciones de 0,5,10,15,20,30  $\mu\text{g/ml}$  como se indica en la Tabla 7 (Abad,2021), posteriormente se construyó la curva de calibración de AIA midiendo la absorbancia a 530 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Evolution 260 Bio), obteniendo un coeficiente de correlación  $R^2 = 0,9994$ ; con la ecuación :

$$Y = 0,015 + (0,030)C$$

Donde;

$$C = \text{Contenido de AIA} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right)$$

$$Y = \text{Absorbancia medida}$$

Posteriormente, se procedió a la maceración de las raíces con acetona al 80% por 5 días, luego se tomó el sobrenadante de cada tubo y se adicionó 2ml del reactivo Salkowski en cada uno de los tubos de las diluciones y se las dejó incubar durante 30 minutos, entonces se colocó 1ml por cada tubo en las celdas para ser analizadas con el Espectrofotómetro UV-Visible a 530 nm, finalmente con la curva estándar se determinó la concentración de AIA presente en las raíces, ver Fig.8.

### Figura 8

Preparación de muestras para lectura de AIA



Nota. Autoría propia

**Tabla 7**  
*Diluciones del ácido 3-indol acético*

Solución estándar		Curva estándar	
Volumen solución de trabajo ( $\mu\text{l}$ )	Solución de trabajo ( $\mu\text{l}$ )	Absorbancia (nm)	Concentración (ppm)
1000	0	0	0
995	5	0,091	5
990	10	0,179	10
985	15	0,275	15
980	20	0,359	20
975	25	0,435	25
970	30	0,518	30

*Nota.* Autoría Propia

### ***Niveles de Fe y Zn en semillas de chocho***

#### **Preparación de las muestras en fase sólida**

Para la preparación de muestras previo a su análisis se seleccionaron aleatoriamente y se pesaron granos de chocho de cada unidad experimental, entonces se los lavó con jabón pH neutro y se las colocó en fundas de papel kraft para llevarlas a la estufa durante 24 horas. Una vez secas las muestras con un molinillo para café se trituraron los granos hasta obtener un polvo fino el cual se colocó en envases estériles para su conservación. Luego se pesaron 3 g y se colocó en un crisol, mismo que se llevó a la plancha de calentamiento a 400°C por 1 hora, todo esto se realizó dentro de la campana extractora de gases, posteriormente se llevó a la mufla por 4 horas, ver Fig 9; en este punto la muestra pasó a la siguiente fase.

## Figura 9

### *Preparación de las muestras en fase sólida*



*Nota. Autoría propia.*

## Preparación de las muestras en fase líquida

Una vez que las muestras salieron de la mufla se procedió a colocar el crisol en la plancha de calentamiento en donde se añadió 2 ml de agua destilada junto con 10 ml de ácido clorhídrico hasta que llegue a ebullición (estar pendiente que no se evapore), posteriormente se limpiaron balones de destilación con alcohol al 96°, luego se colocó un embudo de cristal en cada balón, en cada embudo se colocó papel filtro de 125mm y se colocaron las muestras en donde se lavaron con agua destilada, se dejó filtrar, una vez finalizado el proceso se aforó con agua destilada hasta 50 ml. Una vez finalizado se colocaron las muestras en frascos estériles, ver Fig 10.

## Figura 10

### *Preparación de las muestras en líquida*



*Nota. Autoría propia.*

## **Análisis de las muestras**

Para el análisis de las muestras se diluyó la solución madre que contenía 50 ml a concentraciones 1:10 y 1:100 utilizando micropipetas y agua destilada. Estas diluciones se envasaron en frascos estériles y fueron enviadas al Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT) perteneciente a la Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE" en donde se analizaron por espectrometría de absorción atómica, siguiendo los protocolos del CENCINAT, ver Fig. 11.

### **Figura 11**

*Preparación de diluciones*



*Nota. Autoría propia*

## **Niveles de Fe y Zn en hojas**

### **Preparación de las muestras en fase sólida**

Para la preparación de muestras previo a su análisis se pesaron las muestras de hojas, se lavó con jabón pH neutro y se colocó en fundas de papel kraft para llevarlas a la estufa durante 24 horas. Una vez secas se trituraron con un molinillo para hojas hasta obtener un polvo fino el cual se colocó en envases estériles para su conservación, posterior a ello se ocupó la metodología indicada en la preparación de la fase sólida de las semillas ver Fig 9.

### **Preparación de las muestras en fase líquida**

Se utilizó la misma metodología indicada en la preparación de la fase líquida de las semillas ver Fig 10.

### **Análisis de las muestras**

Fueron enviadas al Centro de Nanociencia y Nanotecnología (CENCINAT) perteneciente a la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE” en donde se analizaron por espectrometría de absorción atómica en donde se analizaron por espectrometría de absorción atómica, siguiendo los protocolos del CENCINAT ver Fig 11.

### ***Contenido de proteína en semillas de chocho***

#### **Preparación de las muestras**

Se pesaron muestras aleatorias de granos, posterior a ello se los lavó con jabón pH neutro y se las colocó en fundas de papel kraft para llevarlas a la estufa durante 24 horas, una vez secas las muestras se trituro los granos y tamizo hasta obtener un polvo fino, se pesó 1g luego se agregó 2 ml de PBS, posteriormente se extrae 2 ml y se lo coloca en tubos eppendorf de 2ml para llevarlos a la Centrifuga a 14000 RPM por 20 min hasta obtener el sobrenadante del cual se extrajo 0,5 ml y se aforo con 1,5ml de PBS, posterior a ello se aplicó el protocolo descrito por Thermo Fisher Scientific (2020) para la detección de proteína (Pierce BCA Protein Assay Kit-Thermo Fisher Scientific).

#### **Cuantificación de proteína**

Las muestras se colocaron en micro celdas para su lectura en un espectrofotómetro UV-Vis para ELISA, se trabajó con una curva estándar de coeficiente de correlación  $R^2 = 0,9947$ ; con la ecuación:

$$Y = 0,0003X + 0,0130$$

Por lo tanto, para calcular el contenido de proteína  $\left(\frac{\mu g}{ml}\right)$  tenemos:

$$X \left( \frac{\mu g \text{ de proteína extraída}}{ml \text{ de extracto puro}} \right) = \frac{Y - 0,0130}{0,0003}$$

Donde;

$$X = \text{Contenido de proteína} \left( \frac{\mu\text{g de proteína extraída}}{\text{ml de extracto puro}} \right)$$

$Y = \text{Absorbancia medida}$

Este resultado se lo convierte a  $\left( \frac{\mu\text{g de proteína extraída}}{\text{mg de material seco}} \right)$  mediante la siguiente relación:

$$\text{Proteína} \left( \frac{\mu\text{g de proteína extraída}}{\text{mg de material seco}} \right) = \left( \frac{\mu\text{g de p. extraída}}{\text{ml de extracto puro}} \right) * \frac{2 \text{ ml de PBS}}{1 \text{ g de material seco}} * \frac{1\text{g}}{1000\text{mg}}$$

### **Contenido de proteína en la Hoja**

#### **Preparación de las muestras**

Con las muestras colectadas previamente y ultra congeladas a -80 °C en el crio conservador se procedió a su maceración ayudado por nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino de donde se pesó 1 g de material vegetal, luego se agregó 2 ml de PBS, posteriormente se extrae todo y se lo coloca en tubos eppendorf de 2ml para llevarlos a la Centrifuga a 14000 RPM por 20 min hasta obtener el sobrenadante del cual se extrajo 0,5 ml y se aforo con 1,5ml de PBS, posterior a ello se aplicó el protocolo descrito por Thermo Fisher Scientific (2020) para la detección de proteína (Pierce BCA Protein Assay Kit-Thermo Fisher Scientific).

#### **Cuantificación de proteína**

Las muestras se colocaron en micro celdas para su lectura en un espectrofotómetro UV-Vis para ELISA, se trabajó con la curva estándar descrita en la cuantificación de proteína en semilla, el resultado obtenido se lo transformo a  $\left( \frac{\mu\text{g de proteína extraída}}{\text{mg de material seco}} \right)$  mediante la siguiente relación:

$$\text{Proteína} \left( \frac{\mu\text{g de proteína extraída}}{\text{mg de material seco}} \right) = \left( \frac{\mu\text{g de p. extraída}}{\text{ml de extracto puro}} \right) * \frac{2 \text{ ml de PBS}}{1 \text{ g de material seco}} * \frac{1\text{g}}{1000\text{mg}}$$

## **Diseño experimental**

### ***Tipo de diseño experimental***

Se estableció un diseño completamente al azar (DCA), el mismo que consta de 4 tratamientos con 3 repeticiones dando un total de 12 unidades experimentales.

### ***Unidad experimental***

Las unidades experimentales constan de las siguientes características (Tabla 8):

**Tabla 8**

*Características de las unidades experimentales*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>
Número de unidades experimentales	12
Forma de la unidad experimental	Rectangular
Largo	5 m
Ancho	4 m
Numero de semillas por hoyo	3
Distancia entre plantas	0,5 m
Distancia entre surcos	0,80 m
Área de las unidades experimentales	20 m <sup>2</sup>
Área total del ensayo	240 m <sup>2</sup>

*Nota. Autoría propia*

### ***Unidad muestral***

#### **Muestra (n)**

Se tomaron 10 plantas de manera aleatoria de cada unidad experimental, las cuales fueron marcadas con cintas de diversos colores.

## Población (N)

Debido a que se tuvo 10 plantas por cada tratamiento y fueron 4 tratamientos, 3 repeticiones, contamos con una población de 120 plantas para toda la investigación.

## Factores y tratamientos

Se establecieron cuatro tratamientos mismos que se denominaron T0, T1, T2, T3 en donde cada uno de ellos constaba de 3 repeticiones (Tabla 9).

**Tabla 9**

*Distribución de tratamientos*

Tratamiento	Fertilizante	Concentración (ppm)	Dosis de aplicación (ml)
Testigo (T0)	Ninguno	0	0
Tratamiento 1 (T1)	Fe-Nanopartículas	80	20
Tratamiento 2 (T2)	Zn- Nanopartículas	80	20
Tratamiento 3 (T3)	Fe + Zn- Nanopartículas	80	20

*Nota.* Autoría propia

Por otra parte, en cuanto a las variables dependientes fueron de diferentes tipos como cuantitativas, continuas y discretas (Tabla 10).

**Tabla 10**

Tipo y características de las variables

Variable	Tipo
Cuantificación de proteína en hoja	Cuantitativa continua de razón
Cuantificación de AIA	Cuantitativa continua de razón
Cuantificación de niveles de Fe y Zn en hoja	Cuantitativa continua de razón
Cuantificación de clorofila por espectrofotometría	Cuantitativa continua de razón
Porcentaje de semilla no comercial	Cuantitativa continua de razón

Variable	Tipo
Número de semillas por vaina	Cuantitativa discreta
Número total de vainas en el tallo central y laterales	Cuantitativa discreta
Índice del contenido de clorofila	Cuantitativa continua de razón
Niveles de Fe y Zn en grano	Cuantitativa continua de razón
Porcentaje de N en semilla	Cuantitativa continua de razón
Contenido de proteína en Semilla	Cuantitativa continua de razón

*Nota.* Autoría propia.

### Análisis estadístico

Las variables serán analizadas mediante el modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + F_i + e_{ij}$$

Donde:

$i$  = # de tratamientos ;  $j$  = # de repeticiones

$Y_{ij}$  = Variable de respuesta

$\mu$  = Media general de la variable

$F_i$  = Efecto del  $i$  – ésima fertilización

$e_{ij}$  = Error experimental

### Análisis funcional

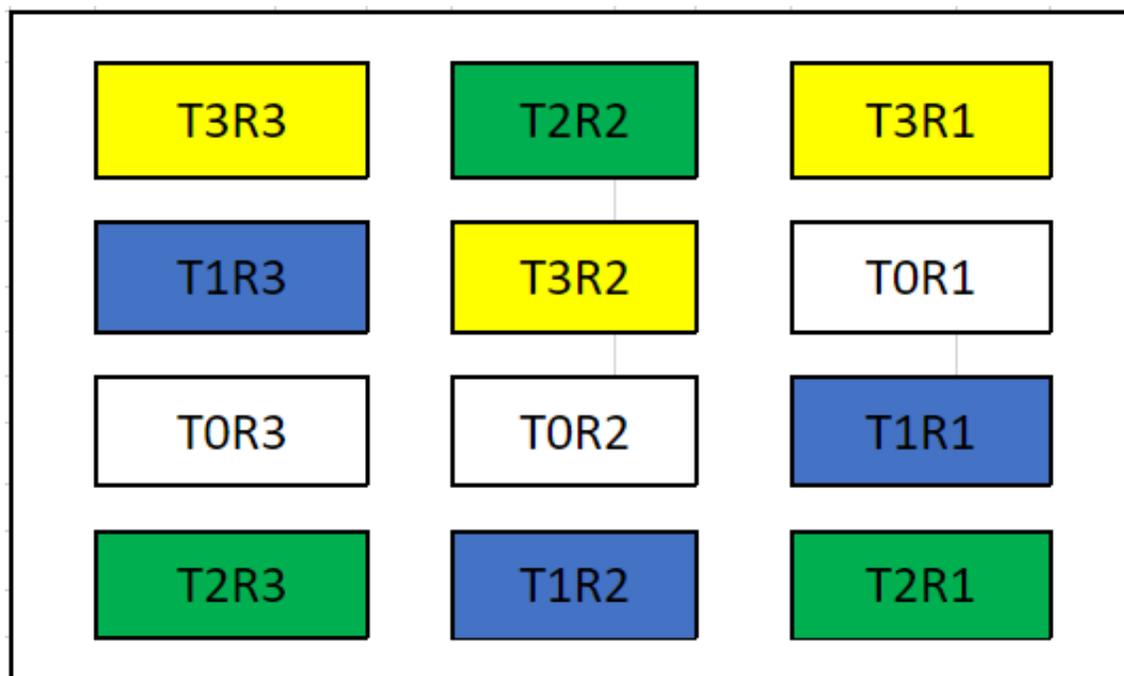
Las variables se analizarán mediante estadística descriptiva (desviación estándar, media, y coeficiente de variación) con el fin de determinar el efecto de la aplicación periódica de fertilizantes con nanopartículas de Fe y Zn sobre las variables dependientes. Se realizó un ANOVA para un DCA. Los supuestos del ANOVA fueron evaluados a través de la prueba de comparación de Tukey al 5% para las variables agronómicas, mientras que para las variables fisiológicas se lo realizó mediante la prueba de comparación de Duncan al 5%.

## Croquis experimental

El diseño del croquis experimental se realizó en base a un modelo DCA 3x4 como se indica en la Fig.12.

**Figura 12**

*Croquis experimental*



*Nota.* Autoría propia

**CAPITULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Variables Agronómicas**

***Índice del contenido de clorofila medido con fluorómetro de clorofila***

Fue analizado en tres diferentes etapas: la primera a los 76 dds en donde el mejor tratamiento fue el T2 ya que se mostró diferencias significativas con respecto al T3 el cual presentó la media más baja con 44,75 CCI, por otra lado a los 97 dds el T2 presentó diferencias significativas con una media de 54,57 CCI con respecto al resto de tratamientos, la última etapa fue analizada a los 118 dds en donde el T2 mostró diferencias significativas con respecto al resto de tratamientos con una media de 48,53 CCI como lo demuestra la tabla.11

**Tabla 11**

*Efecto de nanopartículas de Fe y Zn sobre el índice del contenido de clorofila en medido con un fluorómetro (CCI)*

<b>Tratamiento</b>	<b>76 dds (CCI)</b>	<b>97 dds (CCI)</b>	<b>118 dds (CCI)</b>
Zn-Nanopartículas (T2)	54,09 ± 6,23 <b>A</b>	54,67 ± 10,61 <b>A</b>	48,53 ± 9,97 <b>A</b>
Fe- Nanopartículas (T1)	51,14 ± 5,73 <b>A B</b>	49,50 ± 8,12 <b>B</b>	43,98 ± 9,78 <b>B</b>
Testigo (T0)	48,06 ± 10,01 <b>B C</b>	48,38 ± 6,30 <b>B</b>	42,94 ± 9,55 <b>B</b>
Fe+Zn- Nanopartículas (T3)	44,75 ± 6,48 <b>C</b>	45,37 ± 6,36 <b>B</b>	40,71 ± 4,53 <b>B</b>

*Nota.* Columnas con una letra común no son significativamente diferentes de acuerdo a Duncan P<0.05; promedio ± Desviación estándar, Unidades (CCI)

Los resultados obtenidos concuerdan con diferentes investigaciones en diversos cultivos como el expresado por Bala *et al.* (2019), en plantas de arroz, o el trabajo realizado por

Hussain *et al.* (2021), en plantas de trigo, donde presentan cambios significativos en la cantidad de clorofila por efecto de la aplicación de nanopartículas siempre y cuando la concentración de nanopartículas no sea elevada, de lo contrario no se encontraron diferencias significativas con respecto al testigo. Esta relación directa entre la concentración y la mejora productiva, también lo expresa Mahajan *et al.* (2011), en fréjol mungo (*Vigna radiata*), así como Rui *et al.* (2016) en el cultivo de maní en donde muestra diferencias significativas con respecto al testigo bajo la aplicación de Fe-nanopartículas con una concentración de 2, 10 y 100 ppm, por lo expuesto en la presente investigación nuestros datos sugieren que la aplicación nanopartículas mejora de manera directa el contenido de clorofila en la planta.

#### ***Cuantificación del número total de vainas en el tallo principal y ramas laterales***

El número total de vainas en el tallo y ramas laterales presentó diferencias significativas entre el T2 y T1 con respecto al resto de tratamientos con medias de 23,59 y 23,41 vainas por planta, respectivamente (Tabla 12).

#### ***Cuantificación del número de semillas por vaina***

El número de semillas por vainas no presentó diferencias significativas, entre los tratamientos como lo indica la tabla 12.

#### ***Porcentaje de semilla no comercial***

El porcentaje de semilla no comercial presentó diferencias significativas entre el testigo (T0) que presentó la media más alta con 13,01% con respecto a todos los tratamientos, además T1 presentó los valores más bajos con una media de 9,17% por lo que es el mejor tratamiento en comparación a los demás como lo indica la tabla 12.

#### ***Rendimiento***

El rendimiento presentó diferencias significativas entre el T2 y T1 con respecto al resto de tratamientos con una media de 651,21 kg/ha y 640,09 kg/ha, cabe resaltar que T3 presentó los valores más bajos con una media de 534,35 kg/ha por lo que es el tratamiento con el

rendimiento más bajo, aunque no presenta diferencias significativas con respecto a T0, si lo hace con el resto de tratamientos, como lo indica la tabla 12.

En la tabla.12 se agrupan los resultados presentados sobre las diferentes variables medidas en campo en plantas de chocho F3 (ECU 2658 x ECU 8415)

**Tabla 12**

*Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre las diferentes variables agronómicas*

Tratamiento	Número total de vainas	Número de semillas por vaina	% Semilla no comercial	Rendimiento
Testigo (T0)	19,52 ± 0,51 <b>B</b>	4,44 ± 0,34 <b>A</b>	13,01 ± 0,71 <b>A</b>	546,91± 12,29 <b>B</b>
Fe- Nanopartículas(T1)	23,41 ± 0,50 <b>A</b>	4,50 ± 0,25 <b>A</b>	9,17 ± 0,44 <b>C</b>	640,09 ± 32,31 <b>A</b>
Zn- Nanopartículas(T2)	23,59 ± 0,50 <b>A</b>	4,52 ± 0,24 <b>A</b>	10,43 ± 0,49 <b>B</b>	651,21 ± 14,08 <b>A</b>
Fe+Zn- Nanopartículas (T3)	19,30 ± 0,47 <b>B</b>	4,50 ± 0,25 <b>A</b>	11,44 ± 0,55 <b>B</b>	534,55 ± 12,57 <b>B</b>

*Nota.* Columnas con una letra común no son significativamente diferentes entre tratamiento de acuerdo a Tukey P<0,05; promedio ± Desviación estándar

Los resultados muestran que T2 y T1 obtuvieron diferencias significativas para el número total de vainas principales y laterales con una media de 23,59 y 23,41 vainas por planta respectivamente, estos resultados, se asemejan a los encontrados por Guaytarilla y Falconí, (2014), quienes mencionan que el genotipo F3 (ECU 2658 x ECU 8415) presenta como característica productiva una media de 24,15 vainas totales. En cuanto al número de semillas por vaina, esta variable no presentó diferencias significativas entre los distintos tratamientos, sin embargo, cabe resaltar que si bien no muestra diferencias significativas los valores de las medias reflejados son similares a las presentadas por Erazo (2021). Por otra parte, en el porcentaje de semilla no comercial, T0 es el tratamiento que obtuvo el valor de la media más

alta por lo que genera una mayor pérdida para el productor, esto corrobora lo expuesto por Erazo (2021), en donde las plantas dosificadas con nanopartículas presentan valores de pérdida por semillas no comerciales menores al testigo, por lo que se demuestra el beneficio que tiene la aplicación foliar de nanopartículas en la producción de los cultivos. Por último, el rendimiento muestra diferencias significativas presentando un aumento para T2 de 19% y T1 con un 17% con respecto al testigo, esto corrobora lo respuestas encontradas en diferentes investigaciones bajo la aplicación foliar de nanopartículas en diversos cultivos como el expresado por Itroutwar *et al.* (2020) sobre el rendimiento en el cultivo de arroz, por Sheoran *et al.*, (2021) en el cultivo de trigo, o por Tondey *et al.*, (2021), en el cultivo de maíz donde se demuestra una mejora sustancial en el rendimiento debido a la aplicación de nanopartículas, sin embargo, la tolerancia hacia la concentración y composición de las nanopartículas se encuentra estrechamente relacionada con el cultivo al cual se las aplica. Por ejemplo Samart y Chutipaijit, (2019), en el cultivo de arroz utilizaron ZnO- nanopartículas con rangos de concentraciones que oscilaron entre los 200-800 ppm, mostrando que los mejores resultados se logran con dosis de 200 ppm, pero se reduce su eficacia a medida que la concentración aumenta. Otro ejemplo se muestra con la aplicación de nanopartículas combinadas en el trabajo de Erazo (2021) ,en el cultivo de chocho en donde sugiere que bajo la aplicación de nanopartículas Fe+Zn combinados a una concentración de 50 ppm existe mejoras significativas con respecto al testigo, no obstante, mientras mayor sea la concentración los valores de las variables antes mencionadas disminuyen paulatinamente hasta no presentar diferencias significativas entre tratamiento y testigo. Estas evidencias corroboran los hallazgos en las variables analizadas en la presente investigación con el tratamiento de nanopartículas combinadas Fe+Zn 80 ppm en donde no se presenta diferencias significativas con respecto al testigo; no obstante cuando la aplicación de las nanopartículas es por separado su rango de tolerancia incrementa como se demuestra en estudios realizados por Tariq, (2020), donde se encuentran diferencias significativas con una concentración de 100 ppm causando un efecto

positivo en las plantas de *Lupinus albus* en comparación con el testigo. Esto confirma lo encontrado en el presente estudio en donde los mejores tratamientos se encuentran bajo la aplicación de nanopartículas por separado siempre y cuando no se incremente de manera exagerada la concentración.

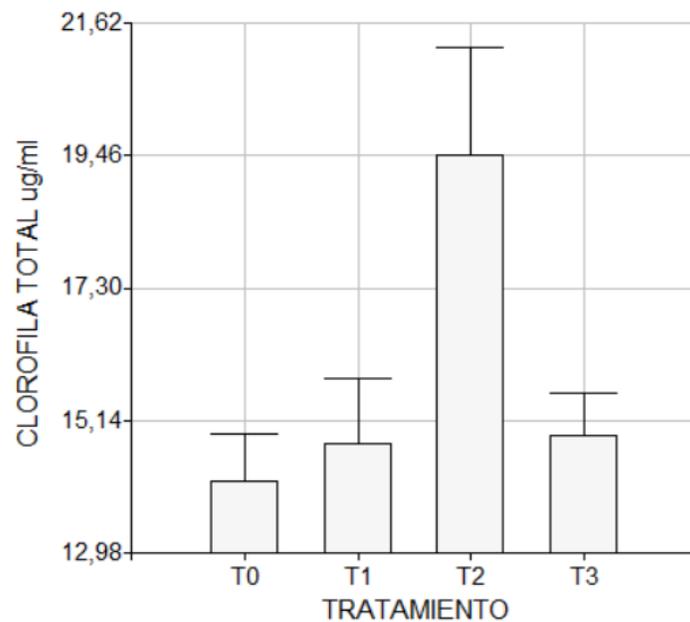
### **Variables fisiológicas**

#### ***Contenido de clorofila mediante espectrofotometría***

El contenido de clorofila medido mediante espectrofotometría presentó diferencias significativas entre nanopartículas de Zn (T2) con una media de 19,47  $\mu\text{g/ml}$  con respecto al resto de tratamientos, por otra parte, entre T0, T1, y T3 no presentan diferencias significativas entre ellos como lo demuestra la tabla.15 y Fig. 13.

#### **Figura 13**

*Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc en el contenido de clorofila ( $\mu\text{g/ml}$ )*



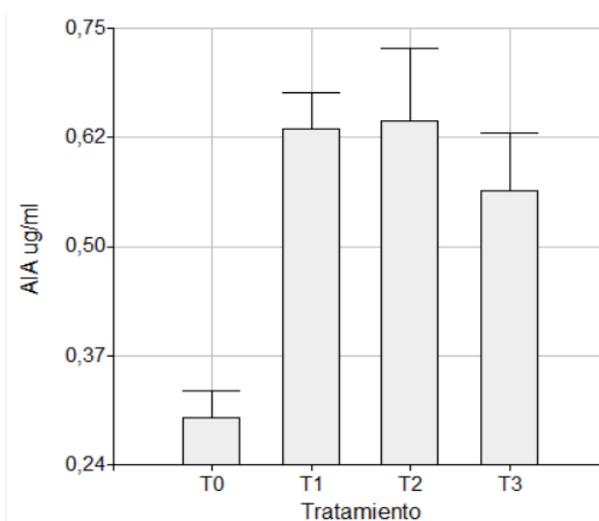
*Nota.* Se expresa *contenido de clorofila mediante espectrofotometría* por tratamiento junto con la desviación estándar

### **Contenido de auxinas en raíces mediante espectrofotometría**

El contenido de auxinas en raíces todos los tratamientos presentaron diferencias significativas con respecto al testigo el cual tuvo la media más baja con 0,30  $\mu\text{g/ml}$ ; los mejores tratamientos fueron Zn-Nanopartículas(T2) con una media de 0,64  $\mu\text{g/ml}$  y Fe-Nanopartículas(T1) con 0,63  $\mu\text{g/ml}$  por lo que no hubo diferencias significativas entre ambos, pero si la hubo con respecto a T0 como lo demuestra la tabla.15 y Fig.14.

#### **Figura 14**

*Efecto de nano partículas de Fe y Zn sobre el contenido de auxinas en raíces ( $\mu\text{g/ml}$ )*



*Nota.* Se expresa *contenido de auxinas* por tratamiento junto con la desviación estándar

### **Niveles de Zn en hojas**

El contenido de Zn en las hojas no presentó diferencias significativas entre los diferentes tratamientos como lo indica la tabla.15. Sin embargo, a pesar de no existir una diferencia significativa ya que los datos se ajustan a una normalidad mediante los intervalos de confianza calculados se seleccionó el tratamiento que presenta los valores de los límites inferior y superior más altos como se indica en la tabla 13 , a su vez en la Fig.15 se observa el contenido de zinc en las hojas distintos tratamientos junto con la desviación estándar de cada

uno, en donde se puede indicar que pese a no existir una diferencia significativa T2 presenta una media más alta en comparación con los otros tratamientos convirtiéndola en el mejor tratamiento.

**Tabla 13**

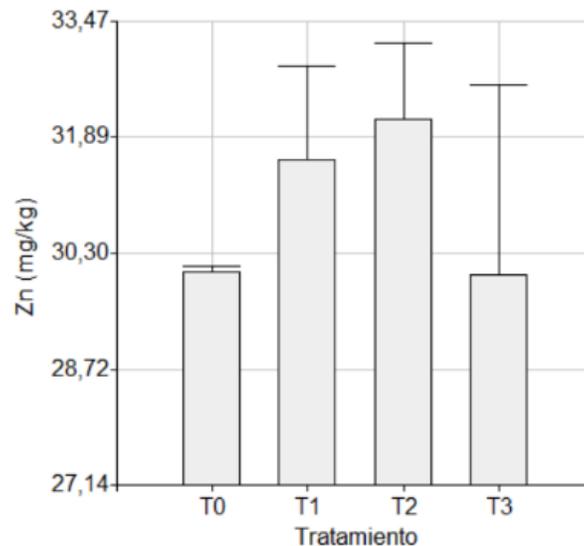
*Intervalos de confianza del efecto de nano partículas de Fe y Zn sobre el contenido de Zn en hojas*

Tratamiento	Límite inferior	Límite superior
Testigo (T0)	29,96	30,14
Fe-Nanopartículas(T1)	30,16	33,02
Zn-Nanopartículas(T2)	30,94	33,32
Fe+Zn-Nanopartículas (T3)	27,08	32,94

*Nota:* Los limites superior e inferior fueron calculados en base a la ley normal estándar (Z); con un intervalo de confianza de 95%

**Figura 15**

*Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el nivel de Zn en hojas (mg/kg)*



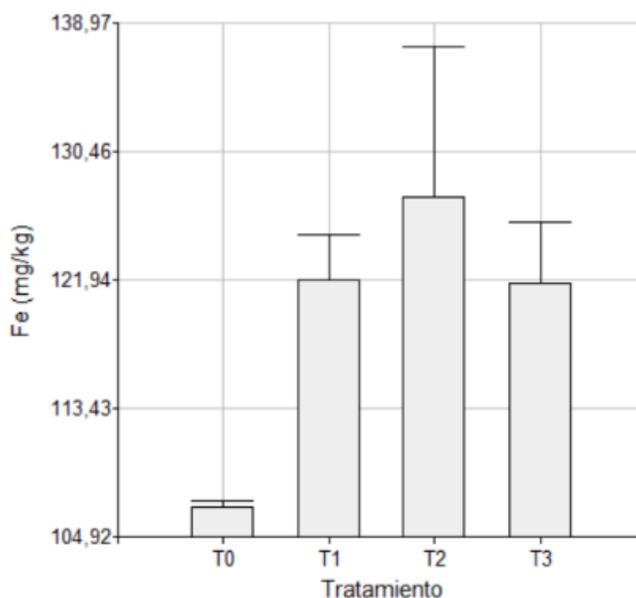
*Nota.* Se expresa el nivel de Zn en hojas por tratamiento junto con la desviación estándar

### **Niveles de Fe en hojas**

El contenido de Fe en las hojas de plantas de chocho *F3* (ECU 2658 x ECU 8415) presentó diferencias significativas entre los diferentes tratamientos Fe-Nanopartículas (T1), Zn-Nanopartículas (T2) y Fe+Zn-Nanopartículas (T3) en comparación con el testigo (T0) que presenta la media más baja con 112,35 mg/kg como lo demuestra la tabla.15. A su vez en la Fig.16 se observa el contenido de zinc presente en las hojas distintos tratamientos junto con la desviación estándar de cada uno de ellos , en donde se puede indicar que pese a no existir una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos, es T2 el que presenta una media más alta en comparación con los otros tratamientos.

### **Figura 16**

*Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el nivel de Fe en hojas (mg/kg)*



*Nota.* Se expresa el nivel de Fe en hojas por tratamiento junto con la desviación estándar

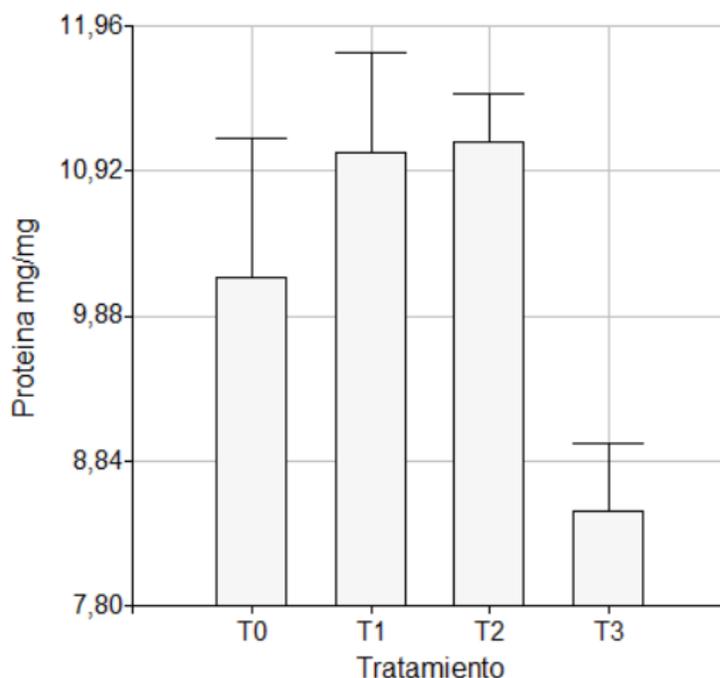
### **Contenido de proteína en la Hoja**

El contenido de proteína en las hojas de plantas de chocho *F3* (ECU 2658 x ECU 8415) no presentó diferencias significativas entre los tratamientos Fe-Nanopartículas(T1) y Zn-

Nanopartículas(T2), sin embargo, ambos presentan diferencias significativas con respecto al resto de tratamientos; por otra parte, Fe+Zn-Nanopartículas(T3) presenta los valores más bajos en el cuanto al contenido de proteína debido a ello presenta diferencias significativas con respecto a todos los tratamientos tal y como se indica en la tabla 15. y Fig.17

### Figura 17

*Efecto de nano partículas de Fe y Zn sobre el nivel de proteína en hojas (ug/mg)*



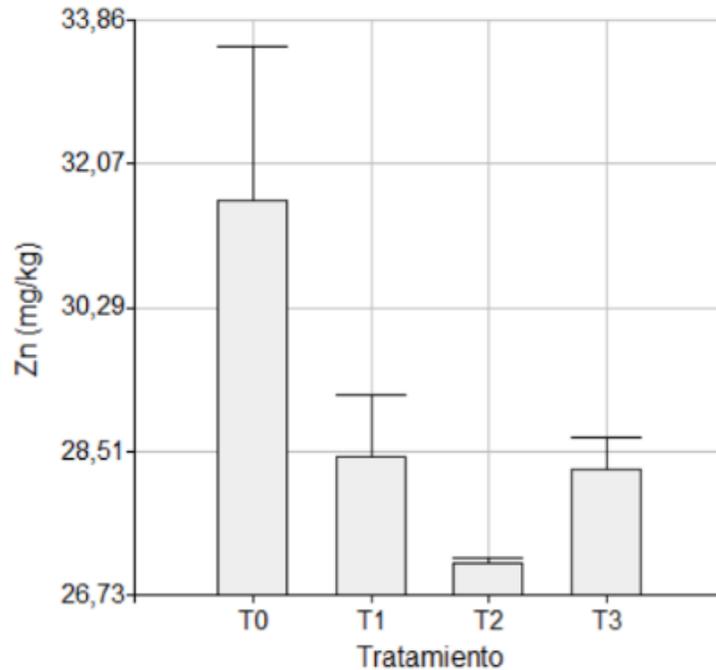
*Nota.* Se expresa la cantidad de proteína en hojas por tratamiento junto con la desviación estándar

### **Niveles de Zn en semillas de chocho**

El contenido de Zn en las semillas de chocho *F3 (ECU 2658 x ECU 8415)* presentó diferencias significativas entre el testigo (T0) con respecto al resto de tratamientos, con un contenido de 31,61 mg/kg de Zn por otro lado hay que resaltar que entre tratamientos no existen diferencias significativas entre ellos tal como lo demuestra la tabla.15 y Fig. 18.

**Figura 18**

*Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el nivel de Zinc en semillas (mg/kg)*



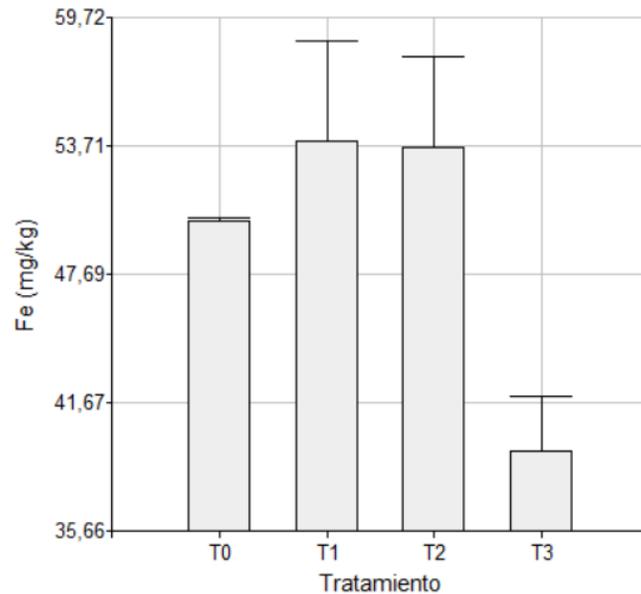
*Nota.* Se expresa la cantidad de Zinc en semillas por tratamiento junto con la desviación estándar

### **Niveles de Fe en semillas de chocho**

El contenido de Fe en las semillas de chocho *F3 (ECU 2658 x ECU 8415)* no presentó diferencias significativas entre Fe-Nanopartículas (T1), Zn-Nanopartículas(T2) y el testigo (T0), por otra parte, para Fe+Zn-Nanopartículas (T3) se presentó el menor contenido de Fe con un valor de 39,37 mg/ kg como lo demuestra la tabla.15, a su vez en la Fig. 19. se observa el nivel de Fe en semillas *F3 (ECU 2658 x ECU 8415)* junto con la desviación estándar, la cual nos permite observar que, si bien no existen diferencias significativas, T1 presenta el valor con la media más alta.

## Figura 19

Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el nivel de Hierro en semillas (mg/kg)



*Nota.* Se expresa la cantidad de Fe en semillas por tratamiento junto con la desviación estándar

### **Contenido de proteína en semillas de chocho**

El contenido de proteína en las semillas de chocho no presentó diferencias significativas entre los diferentes tratamientos como lo indica la tabla.15 Sin embargo, a pesar de no existir una diferencia significativa ya que los datos se ajustan a una normalidad mediante los intervalos de confianza calculados se seleccionó el tratamiento que presenta los valores más altos como se indica en la tabla 14, además en Fig.20 se observa el contenido de proteína de en las semillas de los distintos tratamientos junto con la desviación estándar , es por lo antes expuesto y pese a no existir diferencias significativas que se puede indicar que el mejor tratamiento es el de nanopartículas de Fe(T1) con una media de 41,32 mg de proteína extraída / mg de material vegetal seco.

**Tabla 14**

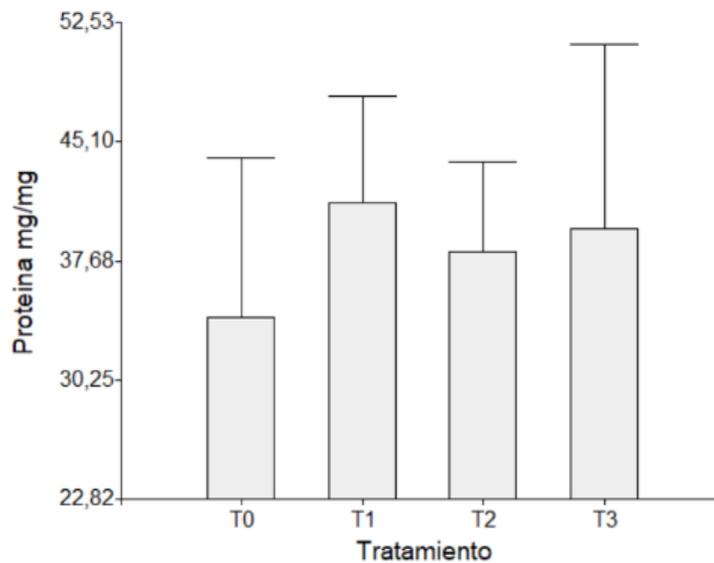
Intervalos de confianza del efecto de nano partículas de Fe y Zn sobre el contenido de proteína en semillas.

Tratamiento	Límite inferior	Límite superior
Testigo (T0)	26,17	42,15
Fe-Nanopartículas(T1)	36,02	46,63
Zn-Nanopartículas(T2)	33,78	42,71
Fe+Zn-Nanopartículas (T3)	30,51	48,89

*Nota.* Los limites superior e inferior fueron calculados en base a la ley normal estándar (Z); con un intervalo de confianza de 95%

**Figura 20**

Efecto de nano partículas de Hierro y Zinc sobre el contenido de proteína en semillas (ug de proteína extraída / mg de material vegetal seco.)



*Nota.* Se expresa la cantidad de proteína por tratamiento junto con la desviación estándar

En la tabla.15 se agrupan los resultados presentados sobre las diferentes variables fisiológicas.

**Tabla 15**

*Resumen del efecto de nano partículas de Fe y Zn sobre las diferentes variables fisiológicas*

<b>Variabes</b>	<b>Testigo (T0)</b>	<b>Fe- Nanopartículas (T1)</b>	<b>Zn- Nanopartículas (T2)</b>	<b>Fe+Zn- Nanopartículas (T3)</b>
CC (µg/ml)	14,14 ± 0,77 <b>B</b>	14,75 ± 1,07 <b>B</b>	19,47 ± 1,76 <b>A</b>	14,90 ± 0,69 <b>B</b>
AIA (µg/ml)	0,30 ± 0,03 <b>C</b>	0,63 ± 0,08 <b>A</b>	0,64 ± 0,03 <b>A</b>	0,56 ± 0,07 <b>B</b>
Zn Hoja (mg/kg)	30,05 ± 0,08 <b>A</b>	31,59 ± 1,26 <b>A</b>	32,13 ± 1,05 <b>A</b>	30,01 ± 2,59 <b>A</b>
Fe Hoja (mg/kg)	106,86 ± 0,40 <b>B</b>	121,72 ± 2,98 <b>A</b>	127,44 ± 9,98 <b>A</b>	121,98 ± 4,01 <b>A</b>
Proteína Hoja (ug / mg)	10,15 ± 1,00 <b>B</b>	11,06 ± 0,72 <b>A</b>	11,13 ± 0,35 <b>A</b>	8,48 ± 0,49 <b>C</b>
Zn Semilla (mg/kg)	31,61 ± 1,92 <b>A</b>	28,43 ± 0,76 <b>B</b>	28,29 ± 0,06 <b>B</b>	27,11 ± 0,38 <b>B</b>
Fe Semilla (mg/kg)	50,21 ± 0,11 <b>A</b>	53,92 ± 4,71 <b>A</b>	53,64 ± 4,26 <b>A</b>	39,37 ± 2,62 <b>B</b>
Proteína Semilla (ug / mg)	34,16± 9,99 <b>A</b>	41,32 ± 6,63 <b>A</b>	38,24 ± 5,58 <b>A</b>	39,70 ± 11,48 <b>A</b>

*Nota.* Filas con una letra común no son significativamente diferentes entre tratamientos de acuerdo a Duncan P<0.05; promedio ± Desviación estándar; donde: CC: Contenido de clorofila; AIA: Contenido de Auxinas

Los resultados obtenidos para el contenido de clorofila demuestran que la aplicación foliar de Zn-Nanopartículas(T2) es el mejor tratamiento ya que incrementa en un 37,69% con respecto al testigo, esto corrobora lo expuesto por Tondey *et al.*(2021) en el cultivo de maíz en donde se aplica ZnO- nanopartículas con una concentración de 40 ppm encontrando diferencias significativas con respecto al testigo, este aumento en la cantidad de clorofila está directamente relacionado con la partícula de Zn como lo expresa Ahmed *et al.*, (2020) en donde se demuestra la interacción directa que tiene el Zn con la clorofila a, b y por lo tanto con la clorofila total en plantas de arroz, de la misma manera Murgueitio *et al.* (2022), menciona que las nanopartículas interactúan de manera directa con los cloroplastos de la planta por ende esto repercute en el contenido de clorofila presente en la planta.

Por otro lado para el contenido de AIA se tiene una diferencia significativa con respecto al testigo bajo la aplicación de nanopartículas, dicha relación está directamente relacionada con las funciones de las moléculas como catalizadores en la síntesis de AIA tal como lo expresa Castillo *et al.* (2018) ,para el caso del Zn , de manera similar para el caso de Fe en donde acorde a lo señalado por Kamnev *et al.* (2001) , es primordial para la transformación enzimática del ácido antranílico, el mismo que es un catalizador esencial en la biosíntesis de L-triptófano el cual es el precursor metabólico del AIA.

En cuanto al contenido de proteína en hojas se encontraron diferencias significativas con la aplicación de nanopartículas con respecto al testigo lo que corrobora lo expuesto por Tariq (2020), para el cultivo de chocho en donde menciona que bajo la aplicación de 20,40 y 60 ppm la cantidad de proteína en los brotes disminuye, por lo que se puede indicar que la aplicación de nanopartículas de manera individual a la concentración de 80 ppm genera cambios en la cantidad de proteína , sin embargo, esta cantidad de proteína no se ve reflejada en la cantidad expresada en el grano, no obstante , a pesar de no existir una diferencia significativa y debido a que los resultados se ajustan a una normalidad mediante los intervalos de confianza calculados se seleccionó el tratamiento que presenta los valores más altos como

se indica en la tabla.14 . Por lo que se puede determinar que el mejor tratamiento es el de nanopartículas de Fe(T1) con una media de 41,32 ug de proteína extraída / mg de material vegetal seco de esta manera se corrobora lo encontrado por Gomaa *et al.*, (2018), en donde la aplicación foliar de nanopartículas logró una mejora significativa sobre el contenido de proteína en plantas de trigo de distintos cultivares, además es importante señalar que esta mejora se da con el uso de cantidades mínimas no obstante se recalca que un adecuado suministro repercute de manera positiva en la fisiología celular, lo cual se ve reflejado en rendimiento lo que concuerda con la mejora en el rendimiento expuesta en el presente trabajo.

Para la cantidad de Fe presente en la hoja, presentó diferencias significativas bajo la aplicación de nanopartículas con respecto al testigo, esto corrobora lo encontrado por Rui *et al.*, (2016), en donde menciona que el contenido de Fe en los brotes en el cultivo de maní (*Arachis hypogaea*), incrementa con respecto al testigo, en donde los mejores resultados se los obtuvo con una concentración de 10 y 250 ppm, de manera similar Li *et al.*, (2021), menciona que existe un incremento en el tamaño de la hoja de las plantas de arroz bajo la aplicación de nanopartículas de Fe en donde el mejor tratamiento es a 50 ppm, y entre mayor concentración menor cambio existe; no obstante, acorde a Rui *et al.*, (2016), las nanopartículas basadas en metales tienden acumularse en los tejidos y bio transformarse, esto gracias a que pueden penetrar en las células vegetales, a su vez les concede la capacidad de translocar el contenido acumulado hacia las raíz y viceversa, por otro lado debido a la plasticidad que las plantas poseen, su morfología puede sufrir diversos cambios bajo condiciones naturales. Li *et al.*, (2021).

Barker *et al.*, (2015), menciona que el contenido de Fe dentro las plantas varía en un amplio rango, en donde para leguminosas como la soya (*Glycine max*) y el fréjol (*Phaseolus vulgaris*) en donde se puede tener un rango de 25-300 ppm, por lo antes mencionado se corrobora que los resultados obtenidos bajo la aplicación de nanopartículas se encuentran en un rango normal para las leguminosas estando entre 121,72- 127,44 ppm, presentando una

mejora significativa con respecto al testigo en donde el tratamiento con la media más alta 127,44 ppm presenta un incremento del 19% en el contenido de Fe con respecto al testigo, no obstante, Barker *et al.*, (2015), expresa que las concentraciones de Fe en las semillas son menores que en hojas en concentraciones que oscilan entre 50 y poco más de 100 ppm de Fe, esto corrobora que la cantidad de Fe encontrada en la semilla está dentro del rango normal para la semilla, sin embargo, estos valores que si bien no presentan una diferencia significativa con respecto al testigo si lo hacen con respecto al tratamiento de nanopartículas combinadas Fe+Zn , esta disminución en el contenido de hierro puede estar estrechamente relacionado con la interacción que presenta el Fe con respecto al Zn , esto corrobora lo expresado para Ram *et al.*, (2017) en donde menciona que el Fe y el Zn tienen una relación antagonista cuando su aplicación es combinada esto se corrobora con los valores expresados en el presente estudio.

Para el caso de los niveles de Zn en la hoja, no se presentó diferencias significativas con respecto al testigo, sin embargo, los valores presentados están dentro del margen establecido para cultivos de leguminosas lo que corrobora lo expresado por Barker *et al.*, (2015), para los cultivos de soya (*Glycine max*) y fréjol (*Phaseolus vulgaris*) en donde se puede tener un rango de 20-75 ppm en los tejidos de las plantas, no obstante, el resultado obtenido en la presente investigación a pesar de no existir una diferencia significativa ya que los datos se ajustan a una normalidad mediante los intervalos de confianza calculados en la tabla 13. A la par ayudado de la Fig.15 se puede indicar que pese a no existir una diferencia significativa T2 presenta una media más alta en comparación con los otros tratamientos convirtiéndola en el mejor tratamiento, esto afirma los resultados obtenidos en diferentes investigaciones realizadas en diversos cultivos como el que obtuvo Bala *et al.*, (2019), para el cultivo de arroz en donde bajo la aplicación de ZnO-nanopartículas con una concentración de 500,1000 y 50000 ppm se obtuvo una mejora en la cantidad de Zn en los brotes de las plantas, en donde el mejor resultado se presenta a los 500 ppm; de manera similar Hussain *et al.*, (2018) en el cultivo de trigo todos los brotes de los tratamientos bajo la aplicación foliar de ZnO-nanopartículas a

concentraciones de 50,100,200 ppm presentaron diferencias significativas con respecto al testigo, a su vez Rizwan *et al.*, (2019), presenta mejoras significativas de la cantidad de Zn en los brotes de maíz bajo la aplicación de ZnO-nanopartículas a concentraciones de 50,100,200 ppm. Además, hay que tener en cuenta lo mencionado por Sun *et al.*, (2020) ,para el Zn absorbido a través de las hojas ya que señala que este se acumularía principalmente en el tejido debido a un movimiento a través del haz vascular ;esta acumulación no necesariamente se translocara hacia la semilla, lo que sugiere que las ZnO-nanopartículas no aumentan la concentración de Zn en el grano de manera directa, sino que se translocan hacia el grano a través del haz vascular de manera paulatina, lo que provoca que no necesariamente todo el Zn acumulado sea translocado hacia la semilla, lo presentado anteriormente corrobora lo encontrado en el presente trabajo en donde si bien en los tejidos de hojas se tiene altos niveles, los mismos no se ven reflejados en la semilla. Por último los resultados en el caso de los niveles de Zn en semilla, refutan lo encontrado por Erazo (2021), para el nivel de Zn en la semilla de chocho en donde en todos los tratamientos bajo nanopartículas presentan diferencias significativas con respecto al tratamiento, si bien los niveles de Zn tanto en hoja como en semillas no presentan diferencias significativas con respecto al testigo , estos resultados no descartan la habilidad que poseen las nanopartículas en la mejora productiva ya que en las otras variables antes analizadas, su aplicación ejerce una mejora directa en comparación con el testigo.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### ***Conclusiones***

- La aplicación de nanopartículas en plantas de chocho repercute de manera directa sobre la fisiología del cultivo y por ende sobre su crecimiento y rendimiento, sin embargo, no lo hace en la calidad de grano.
- Las diferentes variables analizadas en el crecimiento de la planta, demuestran un efecto positivo bajo la aplicación de nanopartículas repercutiendo directamente hacia una mejora productiva en el cultivo de chocho.
- Los tratamientos con nanopartículas tuvieron repercusiones sobre el rendimiento de la planta de chocho donde se encontró diferencias significativas, sin embargo, bajo la aplicación de nanopartículas de Fe+Zn combinados disminuye el rendimiento por efecto de una fitotoxicidad.
- La calidad de grano de chocho no presenta cambios a pesar de ello estos resultados no descartan la habilidad que poseen las nanopartículas en la mejora productiva ya que en las otras variables analizadas sufrieron una mejora directa en comparación con el testigo.

#### ***Recomendaciones***

- Realizar un análisis de suelo previo al establecimiento del cultivo y posterior al mismo para determinar los niveles de Fe y Zn a la par efectuar un análisis de los niveles de Fe y Zn contenidos en las hojas.
- Para determinar el límite en la concentración tolerable de la planta se recomienda realizar diferentes estudios con una concentración mayor a 80 ppm siempre y cuando la aplicación de nanopartículas sea de manera individual.

- Si la aplicación de nanopartículas se realizara de manera conjunta es recomendable usar una dosificación menor a 80 ppm.
- En busca de incrementar las concentraciones de Fe, Zn y proteína en el grano se recomienda realizar más de 3 aplicaciones de nanopartículas en el cultivo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abad Arce, M. E. (2021). *Aislamiento e identificación de bacterias endófitas productoras de ácido indolacético a partir de plantas de lenteja de agua del género Spirodela* [Trabajo de titulación, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].  
<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/23781/1/T-ESPE-044302.pdf>
- Ahmed, N., Hussain, H. Z., Ali, M. A., Rahi, A. A., Saleem, M. y Ahmad, F. (2020). Effect of zinc on chlorophyll contents, gas exchange attributes and zinc concentration in rice. *Pakistan Journal of Botany*. [https://pakbs.org/pjbot/paper\\_details.php?id=10149](https://pakbs.org/pjbot/paper_details.php?id=10149)
- Azcón Bieto, J., y Talón, M. (2013). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Editorial: McGraw-Hill Interamericana  
<https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/FundamentosdeFisiologiaVegetal2008Azcon..pdf>
- Bala, R., Kalia, A. y Dhaliwal, S. S. (2019). Evaluation of Efficacy of ZnO Nanoparticles as Remedial Zinc Nano fertilizer for Rice. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*.  
<https://doi.org/10.1007/s42729-019-00040-z>
- Barabasz, A., Wilkowska, A., Ruszczyńska, A., Bulska, E., Hanikenne, M., Czarny, M., Krämer, U. y Antosiewicz, D. M. (2012). Metal response of transgenic tomato plants expressing P1B-ATPase. *Physiologic Plantarum*, 145(2), 315–331. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01584.x>
- Barker, A. V., Pilbeam, D. J. y Stratton, M. (2015). *Handbook of plant nutrition* Editorial: CRC Press. [https://home.czu.cz/storage/737/65060\\_Books-in-soils-plants-and-the-environment-117.-Barker-Allen-V.-Handbook-of-plant-nutrition-Taylor-et-Francis-2015-.pdf](https://home.czu.cz/storage/737/65060_Books-in-soils-plants-and-the-environment-117.-Barker-Allen-V.-Handbook-of-plant-nutrition-Taylor-et-Francis-2015-.pdf)
- Barrena, R., Casals, E., Colón, J., Font, X., Sánchez, A. y Puntès, V. (2009). Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles. *Chemosphere*, 75(7), 850–857.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.078>

- Basantes, E. R. (2015). *Manejo de cultivos andinos del Ecuador*. Editorial: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.  
<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/10163/4/Manejo%20Cultivos%20Ecuador.pdf>
- Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z. y Zhao, F. (2012). *Function of Nutrients*. En *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (pp. 191–248). Elsevier.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00007-8>
- Bryson, G. M., Mills, H. A., Sasseville, D. N., Jones, B. y Barker, A. V. (2014). *Plant Analysis Handbook III A Guide to Sampling, Preparation, Analysis and Interpretation for Agronomic and Horticultural Crop Plant Tissue*. Editorial: Micro-Macro Publishing, Inc.
- Caicedo, C. y Peralta, E. (2001). El cultivo de chocho *Lupinus mutabilis* Sweet [Archivo PDF]  
<http://repositorio.iniap.gob.ec/jspui/handle/41000/444>
- Castillo, G., Altuna, B., Michelena, G., Sánchez-Bravo, J., Acosta, M. y Acosta, C. M. (2005). Cuantificación del contenido de ácido indolacético (AIA) en un caldo de fermentación microbiana. *Anales de Biología*.  
<https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/27/PDF/16-CUANTIFICACION.pdf>
- Castillo González, J., Ojeda Barrios, D., Hernández Rodríguez, A., González Franco, A. C., Robles Hernández, L. y López Ochoa, G. R. (2018, March 29). Zinc Metalloenzymes in plants. *Redalyc-Interciencia*, 242–248.  
<https://www.redalyc.org/journal/339/33957240004/html/>
- Chandra, S., Askari, K. y Kumari, M. (2018). Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 581–586.  
<https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.09.001>
- Cooper, L. y Ghanem, R. A. (2017). Los micronutrientes son la clave para mejorar la producción. *Fluid Journal*. <https://humagro.com/wp-content/uploads/2017/07/Los->

micronutrientes-son-la-clave-para-mejorar-la-produccion-White-Paper-HG-SP.pdf

- Czubinski, J., Grygier, A. y Siger, A. (2021). Lupinus mutabilis seed composition and its comparison with other lupin species. *Journal of Food Composition and Analysis*, 99. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103875>
- Davarpanah, S., Tehranifar, A., Davarynejad, G., Abadía, J. y Khorasani, R. (2016). Effects of foliar applications of zinc and boron nano-fertilizers on pomegranate ( *Punica granatum* cv. Ardestani) fruit yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 210, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.07.003>
- DeRosa, M. C., Monreal, C., Schnitzer, M., Walsh, R. y Sultan, Y. (2010). Nanotechnology in fertilizers. *Nature Nanotechnology*, 5(2), 91–91. <https://doi.org/10.1038/nnano.2010.2>
- Ekinci, M., Dursun, A., Yıldırım, E. y Parlakova, F. (2014). Effects of nanotechnology liquid fertilizers on the plant growth and yield of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Acta Scientiarum Polonurum., Hortorum Cultus* (Vol. 13). [https://www.researchgate.net/publication/288170110\\_Effects\\_of\\_nanotechnology\\_liquid\\_fertilizers\\_on\\_the\\_plant\\_growth\\_and\\_yield\\_of\\_cucumber\\_Cucumis\\_sativus\\_L](https://www.researchgate.net/publication/288170110_Effects_of_nanotechnology_liquid_fertilizers_on_the_plant_growth_and_yield_of_cucumber_Cucumis_sativus_L)
- Erazo Acosta, A. A. (2021). *Efecto de fertilización con Zn y Fe dopadas en nanopartículas sobre el rendimiento y calidad del grano de chocho (Lupinus mutabilis Sweet) en campo y bajo invernadero* [Trabajo de titulación, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/26768>
- Esper Neto, M., Britt, D. W., Jackson, K. A., Coneglian, C. F., Cordioli, V. R., Braccini, A. L., Inoue, T. T. y Batista, M. A. (2021). Assessments in early growth of corn seedlings after hausmanite ( $Mn_3O_4$ ) nanoscale seed priming. *Journal of Plant Nutrition*, 1–10. <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1871745>
- Falconí, C. E. (2012). *Lupinus mutabilis in Ecuador with special emphasis on anthracnose resistance* [Tesis Doctoral, Wageningen University].

<https://www.proquest.com/openview/e6a4d6905e5625e94592bea14f28e913/1?pq-origsite=gscholarycbl=2026366ydiss=y>

- Falconí, C. E. y Yáñez Mendizábal, V. (2016). Dry heat treatment of Andean lupin seed to reduce anthracnose infection. *Crop Protection*, 89, 178–183.  
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.021>
- Falconí, C. E. y Yáñez Mendizábal, V. (2017). Efficacy of UV-C radiation to reduce seedborne anthracnose ( *Colletotrichum acutatum* ) from Andean lupin ( *Lupinus mutabilis* ). *Plant Pathology*, 67(4), 831–838. <https://doi.org/10.1111/ppa.12793>
- Falconí, C. E. y Yáñez Mendizábal, V. (2019). Solar UV-B radiation limits seedborne anthracnose infection and induces physiological and biochemical responses in *Lupinus mutabilis*. *Plant Pathology*, 68(9), 1635–1644. <https://doi.org/10.1111/ppa.13086>
- Falconí, C. E. y Yáñez-Mendizábal, V. (2022). Available Strategies for the Management of Andean Lupin Anthracnose. *Plants*, 11(5), 654. <https://doi.org/10.3390/plants11050654>
- Falconí, C. E., Yáñez-Mendizábal, V. y Claudio, D. R. (2022). Native *Bacillus subtilis* Strains Efficiently Control Lupin Anthracnose Both under Greenhouse and in Field Conditions. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 12(6), 2519. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.12.6.17169>
- Fátima, F., Hashim, A. y Anees, S. (2021). Efficacy of nanoparticles as nano fertilizer production: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(2), 1292–1303. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11218-9>
- Gang, S., Sharma, S., Saraf, M., Buck, M. y Schumacher, J. (2019). Analysis of indole-3-acetic acid (IAA) production in *Klebsiella* by LC-MS/MS and the Salkowski method. *Bio-Protocol*. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3230>
- Garay Canales, O. B. (2015). *El tarwi alternativa para la lucha contra la desnutrición infantil*. [Archivo PDF]. <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/731>

- Ghasemi-Fasaei, R. y Ronaghi, A. (2008). Interaction of Iron with Copper, Zinc, and Manganese in Wheat as Affected by Iron and Manganese in a Calcareous Soil. *Journal of Plant Nutrition*, 31(5), 839–848. <https://doi.org/10.1080/01904160802043148>
- Gil C., A. I., Marroquín M., M. y Martínez C., L. (2013). Efecto del zinc sobre la inducción de ramas productivas en gulupa (*Passiflora edulis*). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 6(2), 152–160. <https://doi.org/10.17584/rcch.2012v6i2.1973>
- Gomaa, A., Radwan, F., Kandil, E. y Al-Msari, M. (2018). Response of Some Egyptian and Iraqi Wheat Cultivars to Mineral and Nano Fertilization. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, H. Botany*, 9(1), 19–26. <https://doi.org/10.21608/eajbsh.2018.16726>
- Grillet, L., Ouerdane, L., Flis, P., Hoang, M. T. T., Isaure, M.-P., Lobinski, R., Curie, C. y Mari, S. (2014). Ascorbate Efflux as a New Strategy for Iron Reduction and Transport in Plants. *Journal of Biological Chemistry*, 289(5), 2515–2525. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.514828>
- Guaytarilla Cumbal, P. y Falconí Saá, C. (2014). *Selección por arquitectura de la planta y resistencia a la antracnosis de 7 genotipos de chocho (Lupinus mutabilis)*. *Research Gate* [https://www.researchgate.net/publication/262407490\\_SELECCION\\_POR\\_ARQUITECTURA\\_DE\\_LA\\_PLANTA\\_Y\\_RESISTENCIA\\_A\\_LA\\_ANTRACNOSIS\\_DE\\_7\\_GENOTIPOS\\_DE\\_CHOCHO\\_Lupinus\\_mutabilis/references](https://www.researchgate.net/publication/262407490_SELECCION_POR_ARQUITECTURA_DE_LA_PLANTA_Y_RESISTENCIA_A_LA_ANTRACNOSIS_DE_7_GENOTIPOS_DE_CHOCHO_Lupinus_mutabilis/references)
- Gulisano, A., Alves, S., Rodriguez, D., Murillo, A., van Dinter, B.-J., Torres, A. F., Gordillo-Romero, M., Torres, M. de L., Neves-Martins, J., Paulo, M.-J. y Trindade, L. M. (2022). Diversity and Agronomic Performance of *Lupinus mutabilis* Germplasm in European and Andean Environments. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.903661>

- Huwasquiche Sarmiento, L., Moreno Díaz, P. y Jiménez Dávalos, J. (2020). Characterization and evaluation of PGPR potential of the microflora associated with tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet). In *Ecología Aplicada* .  
[https://www.redalyc.org/journal/341/34165034003/html/#redalyc\\_34165034003\\_ref7](https://www.redalyc.org/journal/341/34165034003/html/#redalyc_34165034003_ref7)
- Hussain, A., Ali, S., Rizwan, M., Zia ur Rehman, M., Javed, M. R., Imran, M., Chatha, S. A. S. y Nazir, R. (2018). Zinc oxide nanoparticles alter the wheat physiological response and reduce the cadmium uptake by plants. *Environmental Pollution*, 242, 1518–1526.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.036>
- Hussain, A., Rizwan, M., Ali, S., Rehman, M. Z., Qayyum, M. F., Nawaz, R., Ahmad, A., Asrar, M., Ahmad, S. R., Alsahli, A. A. y Alyemeni, M. N. (2021). Combined use of different nanoparticles effectively decreased cadmium (Cd) concentration in grains of wheat grown in a field contaminated with Cd. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 215, 112139. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112139>
- Itroutwar, P. D., Govindaraju, K., Tamilselvan, S., Kannan, M., Raja, K. y Subramanian, K. S. (2020). Seaweed-Based Biogenic ZnO Nanoparticles for Improving Agro-morphological Characteristics of Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 39(2), 717–728. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-10012-3>
- Jacobsen, S. E. y Mujica, A. (2006). El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. En *Botánica Económica de Los Andes Centrales* (pp.458–482). Editorial: Universidad Mayor de San Andrés.  
[https://www.academia.edu/10299655/El\\_tarwi\\_Lupinus\\_mutabilis\\_Sweet\\_y\\_sus\\_parientes\\_silvestres](https://www.academia.edu/10299655/El_tarwi_Lupinus_mutabilis_Sweet_y_sus_parientes_silvestres)
- Juárez, M., Cerdán, M. y Sánchez, A. (2007). *Hierro en el sistema suelo-planta*. [Archivo PDF]  
<https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/HIERRO.pdf>
- Kamnev, A. A., Shchelochkov, A. G., Perfiliev, Yu. D., Tarantilis, P. A. y Polissiou, M. G. (2001). Spectroscopic investigation of indole-3-acetic acid interaction with iron(III). *Journal of*

*Molecular Structure*, 563–564, 565–572. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(00\)00911-X](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(00)00911-X)

- Lee, W.-M., An, Y.-J., Yoon, H. y Kweon, H.-S. (2008). Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(9), 1915. <https://doi.org/10.1897/07-481.1>
- Li, M., Zhang, P., Adeel, M., Guo, Z., Chetwynd, A. J., Ma, C., Bai, T., Hao, Y. y Rui, Y. (2021). Physiological impacts of zero valent iron, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles in rice plants and their potential as Fe fertilizers. *Environmental Pollution*, 269, 116134. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116134>
- Li, P., Wang, A., Du, W., Mao, L., Wei, Z., Wang, S., Yuan, H., Ji, R. y Zhao, L. (2020). Insight into the interaction between Fe-based nanomaterials and maize (*Zea mays*) plants at metabolic level. *Science of The Total Environment*, 738, 139795. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139795>
- Licto Guano, S. E. (2017). *Estudio de la biofortificación foliar con Diferentes fuentes de zinc en rye grass perenne (Lolium perenne) variedad amazon* [Trabajo de titulación, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].
- Lin, D. y Xing, B. (2008). Root Uptake and Phytotoxicity of ZnO Nanoparticles. *Environmental Science y Technology*, 42(15), 5580–5585. <https://doi.org/10.1021/es800422x>
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y. y Kolmakov, A. (2010). Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of The Total Environment*, 408(16), 3053–3061. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.031>
- Mahajan, P., Dhoke, S. K. y Khanna, A. S. (2011). Effect of Nano-ZnO Particle Suspension on Growth of Mung (*Vigna radiata*) and Gram (*Cicer arietinum*) Seedlings Using Plant

- Agar Method. *Journal of Nanotechnology*, 2011, 1–7.  
<https://doi.org/10.1155/2011/696535>
- Mahakham, W., Sarmah, A. K., Maensiri, S. y Theerakulpisut, P. (2017). Nano priming technology for enhancing germination and starch metabolism of aged rice seeds using photosynthesized silver nanoparticles. *Scientific Reports*, 7(1), 8263.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-08669-5>
- Marschner, P. (2012). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Editorial: Academic Press. <https://www.sciencedirect.com/book/9780123849052/marschners-mineral-nutrition-of-higher-plants>
- Martínez-Cuenca, M.-R., Quiñones, A., Iglesias, D. J., Forner-Giner, M. Á., Primo-Millo, E. y Legaz, F. (2013). Effects of high levels of zinc and manganese ions on Strategy I responses to iron deficiency in citrus. *Plant and Soil*, 373(1–2), 943–953.  
<https://doi.org/10.1007/s11104-013-1861-3>
- Mengel, Konrad., Kirkby, E. A., Melgar, R. y Ruiz Gallud, M. (2000). *Principios de Nutrición vegetal*. International Potash Institute. <https://www.ipipotash.org/uploads/udocs/64-principios-de-nutricion-vegetal.pdf>
- Mercado, G., Davalos, J. (2018). *Los caminos del tarwi y la integración Andina: Bolivia, Perú y Ecuador*. [Archivo PDF].  
[https://www.researchgate.net/publication/329842526\\_Los\\_caminos\\_del\\_tarwi\\_y\\_la\\_integracion\\_andina\\_Bolivia\\_Peru\\_y\\_Ecuador/citations](https://www.researchgate.net/publication/329842526_Los_caminos_del_tarwi_y_la_integracion_andina_Bolivia_Peru_y_Ecuador/citations)
- Michaud, A. M., Bravin, M. N., Galleguillos, M. y Hinsinger, P. (2007). Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. *Plant and Soil*, 298(1–2), 99–111.  
<https://doi.org/10.1007/s11104-007-9343-0>
- Morgounov, A., Gómez-Becerra, H. F., Abugalieva, A., Dzhususova, M., Yessimbekova, M., Muminjanov, H., Zelenskiy, Y., Ozturk, L. y Cakmak, I. (2007). Iron and zinc grain density

in common wheat grown in Central Asia. *Euphytica*, 155(1–2), 193–203.

<https://doi.org/10.1007/s10681-006-9321-2>

Murgueitio-Herrera, E., Falconí, C. E., Cumbal, L., Gómez, J., Yanchatipán, K., Tapia, A. D., Martínez, K., Sinde-Gonzalez, I. y Toulkeridis, T. (2022). Synthesis of Iron, Zinc, and Manganese Nano fertilizers, Using Andean Blueberry Extract, and Their Effect in the Growth of Cabbage and Lupin Plants. *Nanomaterials*, 12(11).

<https://doi.org/10.3390/nano12111921>

Pereira Morales, C. A., Maycotte Morales, C. C., Restrepo, B. E., Mauro, F., Calle Montés, A., Velarde, M. J. E., Marín Serna, G. L., Álvarez Mejía, M. L. y Portela Guarín, H. (2011). *Sistemas de Producción vegetal II*. [Archivo PDF]

[https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/4781/sistemas\\_de\\_produccion\\_vegetal\\_2.pdf](https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/productos/4781/sistemas_de_produccion_vegetal_2.pdf)

Pérez Leal, F. : (2017). *Fisiología vegetal parte III nutrición mineral*. [Archivo PDF]

<http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/3201/000026082L.pdf>

Prasad, T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R., Sreeprasad, T. S., Sajanlal, P. R. y Pradeep, T. (2012). Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 35(6), 905–927. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.663443>

Rahman, A., Sitepu, I. R., Tang, S.-Y. y Hashidoko, Y. (2010). Salkowski's Reagent Test as a Primary Screening Index for Functionalities of Rhizobacteria Isolated from Wild Dipterocarp Saplings Growing Naturally on Medium-Strongly Acidic Tropical Peat Soil. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74(11), 2202–2208.

<https://doi.org/10.1271/bbb.100360>

Raliya, R., Nair, R., Chavalmane, S., Wang, W.-N. y Biswas, P. (2015). Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide

- nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum L.*) plant. *Metallomics*, 7(12), 1584–1594. <https://doi.org/10.1039/C5MT00168D>
- Ram, U. S., Singh, S. K., Srivastava, V. K. y Bohra, J. S. (2017). Effect of Zn, Fe and FYM on Interaction between Zn and Fe on Nutrient Content, Uptake and Yield of Different Varieties of Rice (*Oryza sativa L.*). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(2), 874–890. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.602.098>
- Rizwan, M., Ali, S., Zia ur Rehman, M., Adrees, M., Arshad, M., Qayyum, M. F., Ali, L., Hussain, A., Chatha, S. A. S. y Imran, M. (2019). Alleviation of cadmium accumulation in maize (*Zea mays L.*) by foliar spray of zinc oxide nanoparticles and biochar to contaminated soil. *Environmental Pollution*, 248, 358–367. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.031>
- Rostamizadeh, E., Iranbakhsh, A., Majd, A., Arbabian, S. y Mehregan, I. (2021). Physiological and molecular responses of wheat following the foliar application of Iron Oxide nanoparticles. In *Int. J. Nano Dimens.* [https://ijnd.tonekabon.iau.ir/article\\_679044\\_925a7a6ea7b907d9a3d624687dab3c9e.pdf](https://ijnd.tonekabon.iau.ir/article_679044_925a7a6ea7b907d9a3d624687dab3c9e.pdf)
- Rui, M., Ma, C., Hao, Y., Guo, J., Rui, Y., Tang, X., Zhao, Q., Fan, X., Zhang, Z., Hou, T. y Zhu, S. (2016). Iron Oxide Nanoparticles as a Potential Iron Fertilizer for Peanut (*Arachis hypogaea*). *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00815>
- Samart, S. y Chutipaijit, S. (2019). Growth of pigmented rice (*Oryza sativa L. cv. Riceberry*) exposed to ZnO nanoparticles. *Materials Today: Proceedings*, 17, 1987–1994. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.06.246>
- Shahriaripour, R. y Tajabadipour, A. (2010). Zinc Nutrition of Pistachio: Interaction of Zinc with Other Trace Elements. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 41(15), 1885–1888. <https://doi.org/10.1080/00103624.2010.492445>

- Sheoran, P., Goel, S., Boora, R., Kumari, S., Yashveer, S. y Grewal, S. (2021). Biogenic synthesis of potassium nanoparticles and their evaluation as a growth promoter in wheat. *Plant Gene*, 27, 100310. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2021.100310>
- Song, U. y Kim, J. (2020). Zinc oxide nanoparticles: a potential micronutrient fertilizer for horticultural crops with little toxicity. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 61(3), 625–631. <https://doi.org/10.1007/s13580-020-00244-8>
- Soundar Raju, C., Aslam, A., Thangadurai, D., Sangeetha, J., Kathiravan, K. y Shajahan, A. (2020). Indole acetic acid (IAA) producing endophytic bacteria on direct somatic embryogenesis and plant regeneration of *Exacum travancoricum* Bedd. *Vegetos*, 33(4), 690–702. <https://doi.org/10.1007/s42535-020-00159-w>
- Sumanta, N., Imranul Haque, C., Nishika, J. y Suprakash, R. (2014). Spectrophotometric Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from Commonly Grown Fern Species by Using Various Extracting Solvents. In *Research Journal of Chemical Sciences* [https://www.researchgate.net/publication/269699354\\_Spectrophotometric\\_Analysis\\_of\\_Chlorophylls\\_and\\_Carotenoids\\_from\\_Commonly\\_Grown\\_Fern\\_Species\\_by\\_Using\\_Various\\_Extracting\\_Solvents](https://www.researchgate.net/publication/269699354_Spectrophotometric_Analysis_of_Chlorophylls_and_Carotenoids_from_Commonly_Grown_Fern_Species_by_Using_Various_Extracting_Solvents)
- Sun, H., Du, W., Peng, Q., Lv, Z., Mao, H. y Kopittke, P. M. (2020). Development of ZnO Nanoparticles as an Efficient Zn Fertilizer: Using Synchrotron-Based Techniques and Laser Ablation to Examine Elemental Distribution in Wheat Grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(18), 5068–5075. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00084>
- Tapia Nuñez, M. E. (2015). *El Tarwi, Lupino andino*. [Archivo PDF] <http://fadvamerica.org/wp-content/uploads/2017/04/TARWI-espanol.pdf>
- Tariq Yahya, R. (2020). *Morphological and physiological response of Lupinus albus plants tissues for treatment to zinc oxide nanoparticle*. [http://www.plantarchives.org/SPECIAL%20ISSUE%2020-1/3465-3468%20\(445\).pdf](http://www.plantarchives.org/SPECIAL%20ISSUE%2020-1/3465-3468%20(445).pdf)

- Tondey, M., Kalia, A., Singh, A., Dheri, G. S., Taggar, M. S., Nepovimova, E., Krejcar, O. y Kuca, K. (2021). Seed Priming and Coating by Nano-Scale Zinc Oxide Particles Improved Vegetative Growth, Yield and Quality of Fodder Maize (*Zea mays*). *Agronomy*, 11(4), 729. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040729>
- Uchida, R. y Silva, J. A. (2007). *Recommended Plant Tissue Nutrient Levels for Some Vegetable, Fruit, and Ornamental Foliage and Flowering Plants in Hawaii*. [Archivo PDF] <https://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/pnm4.pdf>
- Venkatachalam, P., Jayaraj, M., Manikandan, R., Geetha, N., Rene, E. R., Sharma, N. C. y Sahi, S. V. (2017). Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) alleviate heavy metal-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* seedlings: A physiochemical analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.022>
- Villacrés, E., Rubio, A., Egas, L. y Segovia, G. (2006). *Usos alternativos del Chocho*. [Archivo PDF] <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/298/1/iniapscbd333.pdf>
- Vistoso Gacitúa, E. M. y Martínez Lagos, J. (2019). *Los micronutrientes del suelo* [Archivo PDF] <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/66900/Ficha%20T%C3%A9cnica%20INIA%20N%C2%B0%2018?sequence=1&isAllowed=y>
- Yzarra Tito, W. J. y López Ríos, F. M. (2012). *Manual de observaciones fenológicas*. [Archivo PDF] <https://www.senamhi.gob.pe/load/file/01401SENA-11.pdf>