

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



IMPACTO DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE
CALABACITA TIPO GREEY ZUCCHINI Y EN LA ACTIVIDAD DE LA LOMBRIZ
ROJA CALIFORNIANA

Tesis

Que presenta JOSÉ ANTONIO HUERTOS RAMÍREZ

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

IMPACTO DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE
CALABACITA TIPO GREEY ZUCCHINI Y EN LA ACTIVIDAD DE LA LOMBRIZ
ROJA CALIFORNIANA

Tesis

Elaborada por JOSÉ ANTONIO HUERTOS RAMÍREZ como requisito parcial
para obtener el Grado de Maestro en Ciencias en Horticultura con la supervisión
y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Alonso Méndez López
Director de Tesis



Dr. Antonio Juárez Maldonado
Asesor



Dra. Miriam Sánchez Vega
Asesor



Dra. Rebeca Betancourt Galindo
Asesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel
Asesor



Dr. Antonio Flores Naveda
Subdirector de Postgrado
UAAAN

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) por brindarme la oportunidad de seguir creciendo en conocimientos, experiencias y vivencias.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por el apoyo económico otorgado a través de la beca, permitiendo así culminar mis estudios de Maestría en Ciencias en Horticultura.

Al Dr. Alonso Méndez López, por sus palabras de aliento, motivaciones y además apoyo incondicional durante todo el proyecto de la maestría.

Al Dr. Antonio Juárez Maldonado, por los consejos brindados y su apoyo en la parte experimental del proyecto.

A la Dra. Miriam Sánchez Vega, por su apoyo en la parte del secado de las muestras y sus conocimientos brindados en la mejora personal y profesional.

A la Dra. Rebeca Betancourt Galindo, por proporcionarnos las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) usadas en esta investigación.

Al Dr. Alberto Sandoval Rangel, por su apoyo los consejos y motivaciones brindados.

A todos mis compañeros y profesores de la Maestría en Ciencias en Horticultura

¡Por su apoyo, muchas gracias!

DEDICATORIA

A mis padres María Isabel Ramírez Ramírez y Saúl Huertos Ramírez, por su dedicación, su sacrificio, su entrega y las ganas de querer darme un futuro mejor.

A mi hermano Daniel Huertos Ramírez, por su apoyo, confianza y consejos cuando más he necesitado.

A mi amiga Alma Morales Reyes, por sus consejos, su amistad, cariño y apoyó durante todo el proceso de la maestría.

A mis amigos y compañeros de la Maestría en Ciencias en Horticultura y de la planta piloto de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) Cuajimalpa, por los consejos, enseñanzas, experiencias y vivencias. Este triunfo también es suyo.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Antecedentes del cultivo.....	4
Importancia mundial y nacional.....	4
Importancia nutricional.....	5
Problemas en la producción de calabaza.....	5
¿Qué es la nanotecnología?.....	6
Nanotecnología en la salud.....	7
Nanotecnología en la industria.....	7
Nanotecnología en la agricultura.....	8
Nanopartículas en la agricultura.....	8
Nanopartículas de óxido de zinc.....	9
Efecto de las nanopartículas en las plantas.....	10
Toxicidad de nanopartículas en el agua.....	10
Toxicidad de nanopartículas en el suelo.....	11
Importancia de los organismos del suelo.....	11
Importancia de la lombriz roja californiana.....	12
Impacto de la lombriz en la agricultura.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14

Establecimiento del experimento	14
Material vegetativo.....	14
Síntesis de las nanopartículas de óxido de zinc	14
Establecimiento experimental y tratamientos.....	15
Evaluación de variables agronómicas.....	16
Evaluación de variables de calidad de fruto.....	16
Evaluación de variables en las lombrices	18
Evaluación de variables de pigmentos en hojas y frutos	18
Evaluación de variables de los compuestos orgánicos.....	19
Análisis estadísticos.....	24
RESULTADOS.....	25
Características de las nanopartículas	25
Variables agronómicas en el cultivo de calabacita	25
Variables de calidad del fruto de calabacita.....	33
Variables de pigmentos en hojas y frutos de calabacita	39
Variables de los compuestos orgánicos en frutos de calabacita.....	43
Efecto de NPsZnO en la lombriz roja californiana.....	46
DISCUSIÓN.....	51
CONCLUSIONES.....	58
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	59

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1. Comparación de medias de variables agronómicas en plantas de calabaza <i>Cucurbita pepo</i> L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación.....	25
Tabla 2. Comparación de medias de variables agronómicas en plantas de calabaza <i>Cucurbita pepo</i> L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc con diferentes vías de aplicación.....	29
Tabla 3. Comparación de medias de variables de calidad de fruto en plantas de calabaza <i>Cucurbita pepo</i> L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc mediante diferentes vías de aplicación.....	34
Tabla 4. Comparación de medias de variables de pigmentos de frutos y hojas en plantas de calabaza <i>Cucurbita pepo</i> L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc mediante diferentes vías de aplicación.....	39
Tabla 5. Comparación de medias de variables del contenido nutrimental en frutos de calabaza <i>Cucurbita pepo</i> L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc mediante diferentes vías de aplicación.....	44
Tabla 6. Comparación de medias de variables de natalidad y contenido nutrimental en lombriz roja californiana, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc mediante diferentes vías de aplicación.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Forma, estructura y tamaño de las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) (Magdaleno-García et al., 2023).....	15
Figura 2. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas a frutos de calabacita y peso seco y fresco de la parte aérea de la planta, tratadas con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.....	27
Figura 3. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con la raíz de plantas de calabacita y su rendimiento, tratadas con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, con aplicación foliar y en drench. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.....	31
Figura 4. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con la calidad de fruto en el cultivo de calabacita, tratado con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.....	36
Figura 5. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con el contenido de pigmentos en frutos y hojas, tratados con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.....	41
Figura 6. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con el contenido nutrimental en frutos, tratados con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench (medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$); se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza).....	45
Figura 7. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con el contenido de natalidad y contenido nutrimental en lombrices, tratados con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$); se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.....	49

RESUMEN

IMPACTO DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE
CALABACITA TIPO GREEY ZUCCHINI Y EN LA ACTIVIDAD DE LA LOMBRIZ
ROJA CALIFORNIANA

POR

JOSÉ ANTONIO HUERTOS RAMÍREZ
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. ALONSO MÉNDEZ LÓPEZ

(ASESOR)

Saltillo, Coahuila

Julio, 2024

El uso indiscriminado de agroquímicos y fertilizantes sintéticos para incrementar el rendimiento de los cultivos agrícolas, ha ocasionado grave deterioro en la salud del suelo y degradación del agroecosistema, generando problemas de contaminación en el ambiente. La nanotecnología ha mostrado un gran potencial para mitigar la contaminación del suelo y el agua. El presente trabajo tiene como objetivo determinar el efecto de nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) aplicadas sobre el crecimiento, rendimiento y la calidad de frutos de calabaza tipo Grey Zucchini. El cultivo se estableció en campo. Se evaluaron cuatro concentraciones de las nanopartículas (0, 500, 1000 y 2000 mg·L⁻¹) en aplicación foliar y drench, distribuidos en un diseño experimental de bloques completos al azar con 8 tratamientos y 5 réplicas cada uno. Se midió el número, peso, largo, y ancho de fruto; peso fresco y seco aéreo; diámetro, longitud, peso fresco y seco, y volumen de raíz; firmeza, sólidos solubles totales, potencial de hidrogeno, conductividad eléctrica, acidez titulable, vitamina C en frutos de calabaza, número de lombrices, peso de lombrices, pigmentos y contenido nutrimental en calabacita y lombrices. Los resultados: indican que la aplicación de NPsZnO a diferente concentración estimularon el crecimiento de los parámetros vegetativos, de rendimiento (2000 mg·L⁻¹) y de la calidad de frutos (1000 mg·L⁻¹), en tanto que el crecimiento radicular fue mejor con la aplicación de 1000 mg·L⁻¹. En todos los casos la aplicación foliar mostro mejor efecto. En conclusión, la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de zinc tiene efecto positivo en el crecimiento, el rendimiento, la calidad de los frutos de calabaza tipo Grey Zucchini, la natalidad de las lombrices y el contenido nutrimental.

Palabras clave: nanopartículas, calidad de frutos, rendimiento, bioestimulación, contenido nutrimental.

ABSTRACT

IMPACT OF ZnO NANOPARTICLES ON THE PRODUCTION OF GREEN ZUCCHINI TYPE ZUCCHINI SQUASH AND ON THE ACTIVITY OF THE RED CALIFORNIAN EARTHWORM

By

JOSÉ ANTONIO HUERTOS RAMÍREZ
MÁSTER IN SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. ALONSO MÉNDEZ LÓPEZ
(ADVISER)

The indiscriminate use of agrochemicals and synthetic fertilizers to increase the yield of agricultural crops has caused serious deterioration of soil health and degradation of the agroecosystem, resulting in pollution problems in the environment. Nanotechnology has shown great potential to mitigate soil and water pollution. The objective of this work is to determine the effect of applied zinc oxide nanoparticles (NPsZnO) on the growth, yield and quality of gray zucchini squash fruits. Methodology: The crop was established in the field. Four concentrations of nanoparticles (0, 500, 1000 and 2000 mg·L⁻¹) were evaluated in foliar and drench applications, distributed in a BCA experimental design with 8 treatments and 5 replicates each. Number, weight, length and width of fruits were measured; air fresh and dry weight; diameter, length, fresh and dry weight and root volume; firmness, total soluble solids, hydrogen potential, electrical conductivity, titratable acidity and vitamin C in pumpkin fruits, number of worms, weight of worms, pigments and nutritional content in zucchini and worms. The results indicate that the application of NPsZnO at different concentrations stimulated the growth of vegetative and yield parameters (2000 mg·L⁻¹) and fruit quality (1000 mg·L⁻¹), while the root growth was better with the application of 1000 mg·L⁻¹. In all cases, the foliar application showed a better effect. Conclusion, the foliar application of zinc oxide nanoparticles has a positive effect on the growth, yield, quality of gray zucchini fruits, the birth rate of worms and the content of nutritional content.

Key words: nanoparticles, fruit quality, yield, biostimulation, nutritional content .

INTRODUCCIÓN

El uso excesivo de plaguicidas y fertilizantes para incrementar la productividad de los cultivos agrícolas, ha ocasionado grave deterioro en la salud del suelo y degradación del agroecosistema, lo que ha generado problemas de contaminación del ambiente, ante este panorama sombrío la nanotecnología surge como una alternativa capaz de aliviar dichas problemáticas derivadas de la producción agrícola (Lira-Saldivar et al., 2018). La nanotecnología ha mostrado un gran potencial para abordar desafíos ambientales en la agricultura, estudios como el de Rico-Herrera et al. (2012) han explorado la capacidad de las nanopartículas (NPs) para remediar la contaminación del suelo y el agua, proporcionando soluciones innovadoras para mitigar los impactos negativos de prácticas agrícolas intensivas. Además, la aplicación de nanopartículas en la protección de cultivos ha sido objeto de atención, ya que se ha demostrado su capacidad como agentes antimicrobianos y plaguicidas eficaces, ofreciendo métodos más sostenibles y selectivos para el control de plagas y enfermedades (Prasad et al., 2012). En conjunto, la aplicación de nanopartículas en la agricultura no solo promete mejorar la eficiencia de los sistemas agrícolas, sino que también ofrece soluciones innovadoras y sostenibles para abordar desafíos críticos. Un gran número de nanopartículas no cuentan con los estudios necesarios que garanticen su uso seguro, realizar estudios eco toxicológicos permiten evaluar los efectos de un determinado xenobiótico. En el caso de la lombriz roja californiana, esta es utilizada en los ensayos de toxicidad por su amplia distribución en los ecosistemas y su importancia en la mejora de los suelos (Linares et al., 2017). A medida que se avanza en la comprensión de la intersección entre la nanotecnología y la agricultura, se revelan oportunidades para optimizar la productividad y la sostenibilidad de los cultivos.

El zinc (Zn), es un micronutriente esencial para todas las plantas, desempeñando un papel vital para las actividades fisiológicas de los vegetales, como la biosíntesis de proteínas, clorofilas, fertilizaciones y en la producción de las

semillas (Slusarz, 2022), tiene la capacidad de modificar los efectos de las auxinas a través de la regulación del triptófano y actúa en una gran cantidad de enzimas como el superóxido dismutasa y las deshidrogenasas (Narendhran y Sivaraj, 2016). Uno de los misterios en el uso de nanopartículas lo representa su acumulación, ya que puede llegar a afectar el crecimiento de plantas como pepino, lechuga, frijol, maíz, centeno, calabacita y algunos chiles, lo que constituye una ruta a la contaminación de la cadena alimenticia por la acumulación excesiva de nanopartículas de metales en su sistema radical, en los tallos, en las hojas y en los frutos, estas nanopartículas pueden ser de dióxido de titanio (TiO_2), óxido de cobre (CuO), óxido de zinc (ZnO) y nanopartículas de zinc (Dimkpa et al., 2012).

La calabaza *Cucurbita pepo* L. es uno de los cultivos de gran importancia en la historia agrícola de México, es una hortaliza con arraigo en las tradiciones alimentarias y culturales de las comunidades mesoamericanas a lo largo de los siglos. La importancia económica de la calabaza en gran medida se debe a la amplia adaptabilidad a diferentes climas, terrenos y altitudes (SIAP, 2018).

Lorenzo-Hernández et al. (2019) señalan que la producción y comercialización de calabazas contribuyen significativamente a los ingresos de los agricultores, desempeñando un papel crucial en la estabilidad económica de diversas regiones del país, además, la calabaza ha sido reconocida por su valor nutricional, siendo una fuente rica en vitaminas, minerales y antioxidantes esenciales para la salud humana (Beatriz-Gómez et al., 2019). Este aspecto ha despertado el interés no solo de nutricionistas y dietistas, sino también de aquellos preocupados por la seguridad alimentaria y la diversificación de cultivos. Desde una perspectiva agronómica, la sostenibilidad del cultivo de calabaza, está basada en técnicas de cultivo eficientes y estrategias para mejorar la resistencia a plagas y enfermedades (Martínez-Aguilar et al., 2011), con lo que se busca optimizar los rendimientos, garantizar la continuidad y viabilidad a largo plazo de este importante cultivo en México.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el efecto de la aplicación por vía foliar y drench de nanopartículas de ZnO en el rendimiento y acumulación de contenido nutrimental en frutos de calabaza tipo Grey Zucchini y en la lombriz roja californiana, así como su actividad.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de las NPZnO sobre variables agronómicas y de rendimiento en el cultivo de calabacita.
- Determinar la vía de aplicación que mejora la acumulación de contenido nutrimental en el fruto de calabacita.
- Evaluar el efecto de las NPZnO sobre la actividad de la lombriz roja californiana.

Hipótesis

La aplicación de nanopartículas de ZnO mejoran la calidad y rendimiento del fruto de calabaza, sin afectar la actividad reproductiva de la lombriz roja californiana

REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes del cultivo

La calabacita *Cucúrbita pepo* L. también conocida como calabacín o calabaza de verano, tiene como centro de origen Mesoamérica y el sur de los Estados Unidos. Es una planta herbácea, de crecimiento tipo rastrero, se cultiva para la obtención principalmente de sus frutos y flores para la alimentación humana (Basurto-Peña et al., 2015). El género *Cucurbita* ha sido muy importante en la alimentación de los pueblos originarios de Mesoamérica y se extendió durante miles de años a través del continente americano, debido a su versatilidad, con ella se pudieron elaborar diversos platillos, se consumía sola, en ensaladas, sopas, guisadas y otras recetas más, la calabacita fue llevada a Europa por los españoles en los años de la conquista, donde ésta fue domesticada y diversificada por todo el mundo (SIOVM, 2006). La diversificación se debió a su fácil adaptabilidad a diversos climas y terrenos, se puede cultivar, tanto a nivel del mar como en valles y lugares altos.

Importancia mundial y nacional

La calabacita es uno de los frutos más consumidos, se le considera fundamental en la alimentación humana, por lo que su producción a nivel mundial, va cada vez más en aumento (Ayala-Garay et al., 2016). China es el principal país productor de calabacita, representa un tercio de la producción a nivel mundial con 7,433,743 toneladas, lo que representa el 26.6%, seguido de la India con 5,113,692 toneladas, con un 18.3% de representatividad y Ucrania con 1,268,270 toneladas, lo que indica un 4.5%, éstas tres naciones representan, por tanto, el 49.4% de la producción total mundial (SIAP, 2018).

En 2022, esta verdura se sembró en 26,067 hectáreas de las cuales se obtuvieron 552,000 toneladas; 2.2% menos que la producción del 2021, y 3.2%

menor al promedio de los últimos 10 años, por lo que, México se posicionó como el séptimo productor mundial de esta hortaliza con un volumen de producción de 551,886 toneladas. Los principales estados productores en México son Sonora, Puebla, Sinaloa, Hidalgo y Michoacán; tres cuartas partes de la producción total nacional se exporta, siendo Estados Unidos el destino principal (SIAP, 2024).

Importancia nutricional

Los frutos de calabacita tienen un alto contenido nutricional y proporcionan muchos beneficios para la salud del ser humano, los frutos de calabacita contienen agua, proteínas, hidratos de carbono, fibra, grasas, calcio, magnesio, yodo, hierro, zinc, sodio, potasio, vitamina B2 (Riboflavina), vitamina B6 (Piridoxina), ácido fólico y vitamina C (Robledo-Torres et al., 2010).

Problemas en la producción de calabaza

El desarrollo de la calabaza tipo Grey Zucchini enfrenta grandes desafíos que pueden afectar considerablemente el rendimiento y la calidad de los frutos. Estos problemas pueden estar relacionadas con el manejo agronómico, aspectos como la fertilización, el riego, el control de plagas y enfermedades, además con el material genético empleado, Sajid et al. (2022) mencionan que el manejo de todos estos factores es esencial para evitar deficiencias o excesos que puedan afectar el crecimiento y la producción de las plantas. Otro de los factores a considerar son los problemas ambientales, como la temperatura, la humedad, la luz y la disponibilidad de agua, estos factores manejados adecuadamente pueden garantizar el crecimiento óptimo de los cultivos y mejorar los rendimientos en la producción (Conti et al., 2023).

La búsqueda de estrategias para reducir el impacto ecológico, en la producción agrícola, se ha basado en el desarrollo de tecnologías como los bioestimulantes, los cuales se definen como cualquier sustancia o producto, de origen mineral o

vegetal, que al aplicarse en los momentos y dosis adecuadas, mejora una o más características de la planta, tales como la eficiencia en el uso de nutrientes, la tolerancia al estrés (biótico o abiótico), rasgos de calidad de frutos y la disponibilidad de nutrientes. Entre los hallazgos más importantes e innovadores para la reducción de esos factores es el uso de la nanotecnología (Rivera-Solís et al., 2023).

¿Qué es la nanotecnología?

La nanotecnología se define como la manipulación de la materia a escala nanométrica, esta definición implica trabajar con estructuras y sistemas de dimensiones en el rango de 1 a 100 nanómetros, donde las propiedades físico y químicas de los materiales pueden diferir significativamente (Gleiter, 1989). La nanotecnología surge como uno de los avances tecnológicos más importantes y significativos en el mundo, esto se debe al gran campo multidisciplinario en el cual se adapta, generando un interés particularmente amplio en áreas de la ciencia y la tecnología, debido a su potencial para revolucionar numerosos campos (Knoll y Fritzsche, 2005).

En el siglo XXI el uso de las nanotecnologías tendrá un fuerte impacto en la vida humana, importantes como en el caso de antibióticos, circuitos integrados, la micro eléctrica y los polímeros, puesto que converge con varias disciplinas, la importancia de las nanotecnologías se da fundamentalmente por dos aspectos, un primero, se refiere a que permite modificar radicalmente las propiedades de los materiales e incluso crear otros, y un segundo aspecto es que se hace posible maquilar con extrema precisión ciertos materiales (Mendoza et al., 2007). La nanotecnología la podemos encontrar en nuestro día, en diferentes campos y formas.

Nanotecnología en la salud

La nanotecnología aplicada a la medicina, mejor conocida como nanomedicina y su aplicación a la tecnología en las ciencias de la salud, es una rama que se perfila como una de las de mayor proyección a futuro próximo, debido a sus importantes aplicaciones, especialmente diagnóstica y terapéutica, la detección de enfermedades a etapas tempranas, sus tratamientos personalizados y un preciso seguimiento posterior a su evolución se hacen posibles para años posteriores, gracias a la aplicación de la nanotecnología, mejorando así los tratamientos y diagnósticos teniendo una mayor eficiencia que los actuales, lo que conllevará a una mayor calidad de vida para el hombre (Lechuga, 2011). También la nanotecnología ha permitido el desarrollo de sistemas de administración de fármacos más eficaces y la creación de nanomateriales para la detección de enfermedades y tratamiento contra el cáncer, mejorando así sustancialmente el modo de vida de la población, esta nueva realidad, posee un gran potencial científico y tecnológico (Echeverría, 2013).

Nanotecnología en la industria

La nanotecnología tiene aplicación en gran variedad de materiales, influye en los procesos de fabricación y tecnología, que se usan para crear y mejorar muchos productos de uso diario, esta necesita de la participación de varios campos del conocimiento, cada una contribuyendo al trabajo práctico que se requiere para que puedan ser complementarias e iniciar de una base sobre la cual investigar y desarrollar, es por eso que esta tecnología se considera a fin, cuando se puede observar que las limitantes que separan el saber científico (Urquilla, 2019).

En la industria agroalimentaria, la nanotecnología brinda grandes oportunidades para la obtención de productos y aplicaciones innovadoras para la agricultura y la ganadería, para ello se utiliza una gran diversidad de nanomateriales, que van

desde metales y óxidos de materiales inorgánicos a nanomateriales orgánicos, los cuales llevan ingredientes activos (Ávalos- Fúnez et al., 2016).

Nanotecnología en la agricultura

Los grandes avances en el campo de la nanotecnología han traído nuevas oportunidades para la innovación en la agricultura. Los nanomateriales se presentan como un sustituto potencial de los materiales convencionales, debido a sus atributos y la mejora que estos, representan, los plaguicidas y fertilizantes son dos de los muchos productos que han demostrado tener un gran potencial a nivel nanométrico, con gran eficiencia en la liberación dirigida y controlada de agroquímicos (Vázquez-Núñez, 2023). Esto se traduce con el uso de nanotecnologías como, tubos de carbono y nanomateriales a base de metales que tienen un efecto benéfico en la agricultura moderna y han comenzado a investigarse, porque ofrecen incrementar la producción de alimentos. La nanotecnología brinda también la posibilidad de generar nano-fertilizantes y promotores del crecimiento en las plantas (Muñoz-Márquez et al., 2022).

Nanopartículas en la agricultura

El uso de nanopartículas tiene una mayor efectividad biológica, al lograr, un aumento en el rendimiento y la productividad de los cultivos, ayudando también a la germinación de los cultivos de una manera más rápida, tener cultivos libres de plagas, y a que los cultivos absorban mejor los nutrientes proporcionados por el suelo (Quispe, 2010). La nanotecnología ha desarrollado materiales con propiedades antimicrobianas, estos materiales son principalmente de origen metálico y óxido metálicos, los cuales sugieren un control a través de los diversos mecanismos de acción (Chichimequillas et al., 2021). Las nanopartículas pueden ser combinadas con métodos convencionales y construir alternativas promisorias para la remediación de suelos contaminados con metales pesados (vía remoción

o estabilización), por ejemplo, el uso de nanopartículas de hierro para la reducción del metal cromo (Carrillo-González y González-Chávez, 2009).

Nanopartículas de óxido de zinc

El aumento en el uso de nanopartículas de óxido metálicas, entre las que destacan las de óxido de cobre y óxido de zinc, se debe a la abundancia con la que se cuenta, además de sus propiedades específicas de gran relevancia, tales como efectos antimicrobianos, mejora la conductividad eléctrica y la catálisis (Abrica-González y Gómez-Arroyo, 2022).

La suplementación con nanopartículas como alimento en gallinas ponedoras. puede mejorar el rendimiento, ya que estas mejoran la absorción de zinc en el intestino de las capas envejecidas y además, ser una fuente eficiente y adecuada para su dieta, de esta forma se puede regular los contenidos de nutrimentos proporcionados a estas aves (Abedini et al., 2018).

El uso de nanopartículas de óxido de zinc es efectivo en el control *in vitro* de *Fusarium acuminatum*, por lo cual, el uso de esta tecnología se le considera como una estrategia de gran impacto para manejar esta enfermedad (Malacara-Herrera et al., 2023).

Los nanofertilizantes son nanopartículas compuestas de micro y/o macronutrientes, que por su tamaño y propiedades superficiales se convierten en una alternativa agrícola sustentable para generar mayor producción en el campo, estas mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad del sabor de los productos hortícolas, la aplicación de nanopartículas de óxido de zinc aplicadas de manera foliar en plantas como lechugas, ayuda a mitigar las deficiencias de micronutrientes (Galindo-Guzmán et al., 2022).

La aplicación de nanopartículas, tienen efectos bioestimulantes, ya que incrementa la acumulación de biomasa y mejora los parámetros de rendimiento en las plantas de pepino aplicadas vía drench (Ucan-Tucuch et al., 2023).

Efecto de las nanopartículas en las plantas

Estudios realizados muestran que las nanopartículas pueden tener efectos, tanto positivos como negativos en la germinación y en el vigor de las semillas, se ha llegado a observar que las dosis bajas de las nanopartículas promueven el crecimiento de las plántulas, mejoran el tamaño del tallo, raíces y en algunas especies ambas estructuras, en el caso del uso de dosis más altas de nanopartículas se puede inhibir (Ruiz-Torres et al., 2016).

Las nanopartículas de óxido de cobre a concentraciones de 10 a 400 ppm no afecta el crecimiento de plantas de girasol, debido a que influyen en el desarrollo, pero aún se tiene que realizar investigaciones para ver el efecto que se tiene a dosis más altas (Tapia et al., 2016).

Los efectos de las nanopartículas de plata de síntesis verde a concentraciones altas en el cultivo de rábano, no afectaron la germinación a ninguna de las dosis evaluadas, mientras que el crecimiento de la raíz, vario enormemente entre las diferentes concentraciones, tanto altas como bajas. Las concentraciones más altas prácticamente detuvieron el alargamiento de la raíz, con eso se demuestra que a dosis excesivas genera contaminantes, promoviendo síntomas tóxicos en los rábanos (Clave et al., 2020).

Toxicidad de nanopartículas en el agua

El uso de nanopartículas puede inducir efectos deletéreos en sistemas acuáticos, así como también en la vida acuática, observando una variedad de cambios de

causa tóxica en los peces y embriones que se encuentran expuestos a las nanopartículas, también producen cambios relacionados al estrés oxidativo, apoptosis, y cambios en la expresión génica (Chae et al., 2009)

Toxicidad de nanopartículas en el suelo

El uso de nanopartículas metálicas tiene un efecto significativo sobre los microorganismos del suelo, los cuales son importantes debido a su importancia agrícola, el efecto químico en el ambiente por el uso de nanomateriales en el suelo debe ser analizado y estudiado, principalmente sobre los microorganismos del suelo, debido a que obedece a mecanismos inespecíficos y multidireccionados, resultantes de la múltiple interacción de estas con diferentes biomoléculas (Palencia et al., 2013). Las condiciones del suelo son muy complejas y variables, por lo que, es complicado y difícil realizar predicciones genéricas sobre el destino de los iones en el medio ambiente, la biodisponibilidad de las nanopartículas en los suelos depende, tanto de las partículas, las propiedades del suelo, esto es debido a la capacidad de retención de humedad (Gutiérrez-Praena et al., 2016).

Importancia de los organismos del suelo

Los suelos son la base de los sistemas productivos, sin embargo, pocos de estos sistemas contemplan la preservación de los organismos que contiene, la preservación es clave para el desarrollo de sistemas y estrategias productivas en equilibrio con el ambiente, ya que los organismos del suelo llevan a cabo procesos biológicos irremplazables que sustentan la previsión y cuidado de ecosistemas (Álvarez et al., 2018).

Las funciones de los organismos del suelo en los ecosistemas, desempeñan un papel de gran importancia y relevancia, tal es el caso de los descomponedores primarios, como los coleópteros, las lombrices y las termitas, estos organismos

destacan por ser los responsables de descomponer las excretas de los mamíferos y las hojarascas de los pastizales, con ello incrementan la fertilidad general de los suelos y la productividad, estos descomponedores primarios desempeñan una función fundamental en el reciclaje de los nutrientes en los ecosistemas (Crespo, 2013).

Importancia de la lombriz roja californiana

Las lombrices, como la lombriz roja californiana *Eisenia foetida* (Savigny, 1826) es uno de los organismos más importantes del suelo, especialmente en ecosistemas productivos, debido a su influencia en la descomposición de la materia orgánica, que favorece en la estructura de los suelos, mejora también el ciclo de los nutrientes, la aplicación e inoculación de lombrices favorece el desarrollo y las características morfológicas del suelo (color, tamaño de partícula, nutrientes y retención de agua) y de las plantas (altura, grosor de tallos, número de hojas y biomasa de los cultivos), lo que resalta la importancia y beneficios en su implementación (Hermitaño et al., 2023).

Impacto de la lombriz en la agricultura

El uso de las lombrices o la aplicación de la lombricultura, ha permitido el manejo de los residuos contaminantes, como el estiércol de las granjas, además de solucionar el problema de la contaminación, genera abono de calidad con los residuos, ya que la lombriz es el motor principal para la transformación del estiércol acumulado y la mejora de los suelos, como fuente de nutrición para las plantas (Ríos-Yolmar, 2005).

El uso de la lombriz para producir un fertilizante orgánico, es de gran utilidad, efectivo y económico de realizar, supliendo así los requisitos y las necesidades de los agricultores, proporcionando muchas ventajas para la producción de sus cultivos a un bajo costo (de la Cruz et al., 2021).

El aprovechamiento de los residuos orgánicos, urbanos y rurales, con procedimientos biológicos, como el compostaje a través de lombrices, tanto a mediana como alta tecnología, y a pequeña o gran escala, se pueden llegar a obtener abonos de calidad, los cuales aplicados a los cultivos, logran buenas cosechas y reducen inmensas cantidades de residuos orgánicos que se generan diariamente, por lo que con esta herramienta se crea una agricultura sostenible y orgánica (Quispe-Limaylla, 2015).

MATERIALES Y MÉTODOS

Establecimiento del experimento

El experimento se estableció en el área agrícola del Departamento de Botánica dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México.

Material vegetativo

Se utilizó semilla de calabaza de la variedad Grey Zucchini de la casa comercial Seminis®, esta variedad se caracteriza por ser de polinización abierta, presenta frutos de color verde grisáceo, rectos, de tamaños uniformes, además de que este material puede sembrarse durante gran parte del año.

Síntesis de las nanopartículas de óxido de zinc

Las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) fueron sintetizadas en el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). En este proceso se utilizó acetato de zinc ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (99%), trietelamina TEA (99%) y propilamina (99%), todos estos adquiridos de Sigma Aldrich.

Se disolvieron 8.9 g de acetato de zinc dihidratado en 150 mL de H_2O desionizada en un matraz de tres bocas soportado por pinzas, con un sistema de agitación y calentamiento acoplado. En etanol (99.5%) se disolvieron 1.78 mL de trietanolamina y 0.472 mL de n-propilamina. Las dos soluciones obtenidas se mezclaron y agitaron a 80°C durante 12 h. Por último, el precipitado obtenido se centrifugó a 15,000 rpm y se lavó tres veces con etanol para descartar una acumulación de los reactivos que no terminaron de reaccionar al momento de llevarse a cabo la síntesis de nanopartículas. Por último, éste se dejó secar durante 24 h para su posterior caracterización (Esparza-González et al., 2021).

La morfología esférica de las NPsZnO fue observada y caracterizada en 20.63 nm con un intervalo entre 7.5 y 42.5 nm con la ayuda de un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución (HRTEM, Titan 80-300 kV, empresa FEI, Hillsboro, OR, EE. UU.) (Figura 1).

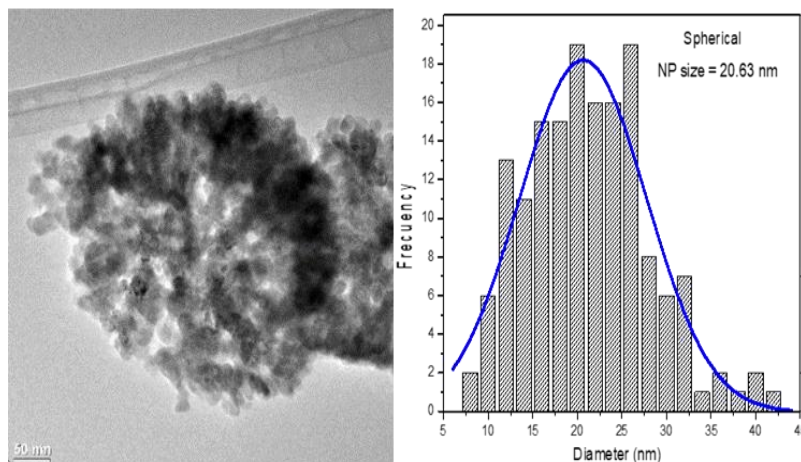


Figura 1. Forma, estructura y tamaño de las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) (Magdaleno-García et al., 2023).

Establecimiento experimental y tratamientos

La siembra de la semilla se realizó directamente en macetas de polietileno de 10 litros de capacidad con una mezcla de sustrato, compuesta por 50% composta, 20% peatmoss y 30% suelo agrícola en proporción con el volumen del contenedor.

Los tratamientos evaluados se distribuyeron bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo factorial A x B, donde el factor A correspondió a las dosis: 0, 500, 1000 y 2000 mg·L⁻¹ de NPsZnO, y el factor B a las vías de aplicación (foliar y drench) para un total de ocho tratamientos con cinco repeticiones cada uno. La unidad experimental consistió de tres macetas con una planta cada una. Las concentraciones de nanopartículas aplicadas se

prepararon en agua desionizada y para la dispersión de estas, la solución se trató con un sónicoador marca Vevor® durante 30 minutos previos a la aplicación.

Evaluación de variables agronómicas

Las variables evaluadas en el fruto fueron: el número, peso, largo y ancho; el rendimiento se evaluó en cada una de las cosechas; en la planta se evaluó el peso fresco y seco aéreo; mientras que en la raíz se consideró el diámetro, longitud, volumen, peso fresco y seco; las cuales se tomaron al finalizar el experimento. Para la determinación de peso seco de la parte aérea de la planta y peso seco de raíz, las muestras se sometieron a deshidratación total en una estufa a 50°C durante 72 horas, una vez transcurrido el tiempo las muestras se pesaron. Para las variables de peso de fruto, peso fresco aéreo y de raíz se utilizó una báscula digital (VINSON®), las variables ancho de fruto y diámetro de raíz se determinaron utilizando un vernier digital (Truper®), el largo de fruto y longitud de raíz se hizo utilizando un flexómetro (Truper®), mientras que el volumen de raíz se utilizó una probeta de 500 mL de capacidad.

Evaluación de variables de calidad de fruto

Para la calidad de fruto se determinó la firmeza, sólidos solubles totales (°Brix), potencial de hidrogeno (pH), conductividad eléctrica (CE), acidez titulable y vitamina C, estas mediciones se llevaron a cabo en frutos que cumplieran con los estándares de calidad para el corte. Para la firmeza de los frutos se utilizó un penetrómetro manual (Wagner Instruments, modelo FDK 20, Greenwich, CT, EE. USA.), haciendo tres mediciones en la parte intermedia del fruto, los resultados se expresaron en $\text{Kg}\cdot\text{cm}^{-2}$. El potencial de hidrógeno (pH) y la conductividad eléctrica (CE) se determinaron utilizando un potenciómetro digital (HANNA®). La Acidez titulable (Act) se determinó de acuerdo al método de la (AOAC, 2000), para ello se extrajo jugo a tres frutos de calabaza por cada tratamiento, se diluyeron 10 mL de jugo de los frutos en 125 mL de agua destilada en un matraz

Erlenmeyer. Posteriormente se hizo la titulación de las muestras utilizando NaOH 0.01 N y pH 8.3. Se registraron tres lecturas para cada tratamiento y los resultados se expresaron en porcentaje de ácido cítrico por medio de la aplicación de la formula siguiente:

$$\%acidez = \frac{VNaOH * NNaOH * meqacidoX * 100}{V}$$

Donde:

VNaOH = Volumen de NaOH usado para la titulación. NNaOH = Normalidad del NaOH. Meqácido X = Miliequivalentes de ácido. El valor equivalente de base a ácido para el ácido cítrico es: 0.064. V = Peso en g o volumen de la muestra en mL.

La vitamina C (VitC), se determinó mediante el método del 2,6- dicloroindofenol por titulación. Para efecto se preparó reactivo de Thielman de acuerdo con la (AOAC, 1968). Se utilizó una muestra de 20 g la cual se cortó en fragmentos pequeños y posteriormente colocada en un matraz Erlenmeyer de 50 mL con 10 mL de HCl al 2% y se llevó hasta aforo. El contenido se filtró utilizando una gasa, en un matraz Erlenmeyer. Se tomaron alícuotas de 10 mL y se titularon con el reactivo de Thielman hasta la aparición de una coloración rosa sin desaparecer durante 30 segundos, la lectura fue en mL del reactivo gastados.

Para calcular el contenido de ácido ascórbico en las muestras se realizó una curva de calibración con una solución patrón del mismo ácido, según la AOAC, 967.21. Posteriormente se calculó la concentración de la vitamina C en la muestra, por medio de la fórmula:

$$Vitamina\ C = \frac{VRT * 0.088 * VT * 100}{VA * P}$$

Donde:

Vitamina C = En la muestra expresada en mg en 100 g. VRT = Volumen gastado en mL del reactivo de Thielman. 0.088 = mg de ácido ascórbico equivalente a un mL de reactivo de Thielman. VT = Volumen total en mL del filtrado total de vitamina C en HCl. VA = Volumen en mL de la alícuota valorada. P = Peso de muestra en gramos.

Evaluación de variables en las lombrices

Las variables evaluadas en las lombrices fueron número de lombrices y el peso de las lombrices al final del ciclo de cultivo de calabacita. En la variable de número de lombrices se realizó el conteo de manera manual, lavando los residuos que ese adhirieron en la lombriz. Para la toma del peso se utilizó, cinco lombrices adultas, observó la estructura de la lombriz, tomado como adultos los que contaran con un clitelo bien definido, se usó una báscula de precisión (OHAUS® PIONEER TM).

Evaluación de variables de pigmentos en hojas y frutos

Cuantificación de clorofilas y carotenoides

La cuantificación de clorofilas y carotenoides se realizó de acuerdo al método modificado de Lichtenthaler y Buschmann (2001). Las muestras fueron liofilizadas y posteriormente se pesaron 0.01 g de tejido vegetal en tubos de disrupción, se agregaron 250 mL de perlas de vidrio y 1 mL de solvente (Metanol 99.8%), después se colocó cada uno de los tubos en un disruptor de perlas (Benchmark®, modelo BeadBugTM6 de origen estadounidense) configurándolo a tres ciclos de 60 segundos, posteriormente se centrifugó por 5 min a 13,000 revoluciones por minuto (rpm), se recuperó el sobrenadante en tubos Falcón® de 15 mL, estos pasos se repitieron 2 a 4 veces hasta que la biomasa no presentó pigmentos aparentes, después se aforaró el volumen del tubo Falcon® de 15 mL

con metanol a un volumen conocido (volumen de 4 o 5 mL sugerido, fue importante registrar este volumen para los cálculos posteriores). Para la cuantificación de pigmentos, se utilizó una celda de vidrio de 1 mL de capacidad, se colocó el extracto para su medición por espectrofotometría en un espectro marca Thermo Scientific™ ® UV-Visible GENESYS™ 50 de origen estadounidense, se utilizó metanol como blanco, se midieron y registraron las absorbancias de cada muestra a 470, 652.4 y 665.2 nm. El contenido de clorofila a, b, total y carotenoides fueron calculados posteriormente al utilizar las siguientes ecuaciones, para ajustar las absorbancias a unidades de concentración ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$):

$$CclA = 16.72 * ABS\ 665.2 - 9.16 * ABS\ 652.4$$

$$CclB = 34.09 * ABS\ 652.4 - 15.28 * ABS\ 665.2$$

$$Ccltotal = clA + clB$$

$$Cc = (1000 * ABS470 - 1.63 * CclA - 104.96 * CclB)/221$$

Donde:

Ccl A= clorofila a. Ccl B= clorofila b. Ccltotal= clorofila total. Cc= carotenoides

Evaluación de variables de contenido nutricional

Cuantificación de proteínas totales por Lowry et al. (1951) y Bradford (1976).

La extracción de proteínas se realizó mediante una hidrólisis alcalina utilizando NaOH (0.1 N), y la cuantificación por el método modificado de Lowry et al. (1951). Las muestras fueron liofilizadas y posteriormente se pesaron 0.01 g de tejido vegetal en tubos de disrupción, se agregaron 250 mL de perlas de vidrio y 2 mL de solvente NaOH (0.1 N), después se colocó cada uno de los tubos en un disruptor de perlas (Benchmark®, modelo BeadBug™6 de origen estadounidense) el cual se configuró a tres ciclos de 60 segundos. Posteriormente se colocó cada una de las muestras a baño maría a 100°C durante 20 minutos para llevar a cabo una hidrólisis alcalina. Se procuró que el

tubo estuviera bien cerrado para evitar la evaporación del hidrolizado, y se centrifugó por 5 min a 14,000 revoluciones por minuto (rpm).

Para la realización de la curva estándar, se preparó Sero Albumina Bovina (BSA, por sus siglas en inglés.), se pesaron 10 mg y se disolvieron en 100 mL de NaOH (0.1 N) para obtener una concentración final de 300 mg·L⁻¹. La solución estándar se reservó y almacenó en refrigeración y oscuridad hasta su posterior uso. La curva estándar se realizó utilizando diferentes volúmenes de stock previamente descritos para obtener concentraciones de 15, 30, 45, 60 y 100 mg·L⁻¹. Todos los puntos se realizaron por triplicado, una vez separados los volúmenes de solución estándar y solución de NaOH (0.1 N), se realizó el procedimiento de la medición de proteínas por el método de Lowry et al. (1951) utilizando el kit de Bio-Rad RC DC™ Protein Assay, siguiendo los siguientes pasos: 1. En un tubo Eppendorf de 2 mL se agregó 200 µL del extracto alcalino, realizando una dilución 1:10 con la solución de NaOH (0.1 N), 2. Se agregó 100 µL del reactivo A-Bio-Rad RC DC™ Protein Assay, 3. Posteriormente se agregó 800 µL de reactivo B-Bio-Rad RC DC™ Protein Assay y se agitó manualmente hasta homogenizar, 4. Se dejó reaccionar en la oscuridad por 15 min y posteriormente se leyó la absorbancia inmediatamente en un espectrofotómetro marca Thermo Scientific™ ® UV-Visible GENESYS™ 50 de origen estadounidense a 750 nm en una celda de vidrio de 1 mL, manteniendo siempre las muestras en oscuridad, en el caso del blanco se utilizaron 200 µL de NaOH (0.1 N) y se siguieron los pasos 2-4.

Para la cuantificación se empleó la siguiente formula:

$$Cx = \left(\frac{Cs * FD * V}{M} \right) / 1000$$

Donde:

Cx = Concentración en mg·g⁻¹. Cs = Concentración obtenida en la ecuación de la recta (ppm). FD = Factor de dilución. V = Volumen utilizado en la dilución de la muestra. M = Masa total utilizada en la extracción.

Cuantificación de carbohidratos totales

Para la cuantificación de carbohidratos totales se utilizó el método modificado colorimétrico de Dubois et al. (1956), debido que es poco sensible a la interferencia por proteínas y el color producido es muy estable. Las muestras fueron liofilizadas y posteriormente se pesaron 0.01 g de tejido vegetal en tubos HACH® y se resuspendieron en 5 mL de H_2SO_4 1 M, tal cual como se indicó en la técnica. Posteriormente se colocó a baño maría a 100°C durante 20 minutos para llevar a cabo una hidrólisis ácida. Se tuvo cuidado de que el tubo utilizado estuviera bien cerrado para evitar evaporación del hidrolizado. Al término se centrifugó a 4,000 rpm por 10 min y se midió el volumen del hidrolizado recuperado. El extracto ácido fue utilizado para la cuantificación de carbohidratos totales mediante la metodología de Dubois.

Para la realización de la curva estándar, se preparó una solución patrón de glucosa (dextrosa), por lo cual se pesaron 0.01 g y se aforó a 100 mL con agua destilada. La curva estándar se realizó utilizando diferentes volúmenes previamente descritos para obtener las concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Todos los puntos se realizaron por triplicado, una vez separados los volúmenes de solución estándar, se realizó el procedimiento de la medición de proteínas por el método de Dubois siguiendo los siguientes pasos: 1. En un tubo de HACH® de al menos 5 mL, se agregó 500 μL de la muestra, realizando una dilución 1:20 con la solución de H_2SO_4 1 M; 2. Posteriormente se agregó 500 μL de solución acuosa de fenol al 5% (p/v), y se agitó ligeramente, 3. Se dejó la muestra 40 min en reposo, 4. Terminado el tiempo, se adicionó 2.5 mL de H_2SO_4 concentrado de manera lenta por las paredes para evitar ebullición excesiva, y posteriormente se agitó en un vortex (Agitador Vortex GENIE II MIXER Cat. SCI-SI-0236 Marca Scientific Industries®) con la ayuda de pinzas para tubo de ensaye, 5. Por último se puso a enfriar la muestra a temperatura ambiente y se

midirá la absorbancia a una longitud de onda de 485 nm en un espectrofotómetro (marca Thermo Scientific™ UV-Visible GENESYS™ 50 de origen estadounidense) a 595 nm en una celda de vidrio. En el caso del blanco se utilizaron 500 µL de H₂SO₄ 1 M y se siguieron los puntos 2-5.

Para la cuantificación se utilizó la siguiente fórmula:

$$Cx = \left(\frac{Cs * FD * V}{M} \right) / 1000$$

Donde:

Cx = Concentración en mg·g⁻¹. Cs = Concentración obtenida en la ecuación de la recta (ppm). FD = Factor de dilución. V = Volumen utilizado en la dilución de la muestra. M = Masa total utilizada en la extracción.

Cuantificación de lípidos neutros

Para la cuantificación de lípidos neutros se utilizó el método modificado de Sulfo-Fosfo-Vainillina SPV (Valenzuela et al., 2014). Las muestras fueron liofilizadas y posteriormente se pesó 0.01 g de tejido vegetal en tubos HACH® y se agregaron 2.0 mL de H₂SO₄ concentrado (98%) sobre las paredes del tubo, posteriormente se taparon los tubos y se agitaron con el vortex (GENIE II SI-0236 Scientific Industries®), se calentó a 100°C durante 15 minutos utilizando un baño maría, después se dejaron enfriar las muestras durante 5 min en baño de hielo y se continuó con la metodología de SPV. La solución estándar se preparó utilizando aceite de canola comercial, para ello se pesaron 20 mg de aceite y se disolvió en 10 mL de cloroformo a una concentración de 70 µg para obtener los lípidos, la curva estándar se realizó utilizando diferentes volúmenes para obtener 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 70 µg de lípidos. El método de SPV se llevó a cabo, siguiendo los seis pasos: 1. En un tubo de HACH® se agregaron 200 µL de la muestra, realizando una dilución 1:10 con agua destilada; 2. Y posteriormente se agregaron 2 mL de solución de H₂SO₄ concentrado; 3. Después se agregaron 5

mL del reactivo PV al tubo que contenía la muestra de biomasa (es recomendable usar pipeta de repetición ya que el reactivo es fotosensible); 4. Se tapó el tubo y se mezcló por inversión e inmediatamente se llevó a incubar; 5. La incubación se hizo a 37°C por 20 minutos con agitación a 200 rpm y en oscuridad, 6. Por último, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 530 nm en un espectrofotómetro marca Thermo Scientific™ UV-Visible GENESYS™ 50, en una celda de vidrio. En el caso del blanco se utilizaron 200 µL de agua destilada y se agregaron 2 mL de H₂SO₄ concentrado y posteriormente se siguieron los puntos 3-6.

Para la cuantificación se ejecutó la siguiente formula:

$$Cx = \left(\frac{Cs * FD * V}{M} \right) / 1000$$

Donde:

Cx = Concentración en mg·g⁻¹. Cs = Concentración obtenida en la ecuación de la recta (ppm). FD = Factor de dilución. V = Volumen utilizado en la dilución de la muestra. M = Masa total utilizada en la extracción.

Determinación de cenizas totales en frutos y lombrices

La determinación de cenizas se realizó siguiendo la metodología de (Rea-Páez, 2017), la cual consiste en pesar 1.0 g de muestra seca en un crisol (teniendo el peso constante), la muestra se metió en una mufla marca Felisa® modelo FE-340 a una temperatura de 550°C durante 4 h, después se dejó enfriar por 30 minutos en una estufa de secado a 25°C, y se volvió a pesar el crisol con la muestra, se realizaron los cálculos correspondientes bajo la siguiente formula:

$$Cx = \left(\frac{(Pc + M) - Pcs}{GM} \right) * 10$$

Donde:

Cx = Concentración en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Pc = Peso del crisol. M = Muestra. Pcs = Peso del crisol seco. GM = Gramos de la muestra.

Análisis estadísticos

Los resultados fueron analizados por medio de un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias por el método de LSD de Fisher ($p \leq 0.05$) con la ayuda del software InfoStat, versión 2020 para Windows.

RESULTADOS

Características de las nanopartículas

Se observó que la morfología de las NPsZnO es esférica, presentando un tamaño promedio de 20.63 nm con un intervalo entre 7.5 y 42.5 nm, una pureza del 97%, de color blanco y un potencial Z promedio de -20.44 mV.

Variables agronómicas en el cultivo de calabacita

Las variables consideradas para los frutos de calabacita en el experimento, fueron: el número, peso, largo y ancho, y variables de la parte aérea de la planta, como: el peso fresco y seco (Tabla 1). De acuerdo con la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$), se expresaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y las vías de aplicación, para éstas variables.

Tabla 1. Comparación de medias de variables agronómicas en plantas de calabaza *Cucurbita pepo* L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc por diferentes vías de aplicación.

Tratamiento	Número de frutos	Peso de fruto (g)	Largo de fruto (cm)	Ancho de fruto (cm)	Peso fresco aéreo PFA (g)	Peso seco aéreo PSA (g)
Concentraciones (mg L⁻¹)						
Testigo 0	11.0 c	108.66 b	9.31 bc	3.20 b	238.23 a	47.10 b
NPsZnO-500	12.70 ab	113.07 b	9.65 ab	3.34 b	232.10 a	52.10 a
NPsZnO-1000	11.90 bc	109.72 b	9.24 c	3.27 b	204.70 b	43.50 c
NPsZnO-2000	13.70 a	118.89 a	9.91 a	3.58 a	230.73 a	47.0 b
(p-valor)	0.0002	0.0026	0.0073	0.0058	0.0001	0.0001
Vía de aplicación						
Foliar	13.15 a	122.25 a	9.99 a	3.57 a	244.07 a	47.45 a
Drench	11.50 b	102.92 b	9.07 b	3.13 b	208.82 b	47.40 a
(p-valor)	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.8923
Concentraciones*Vía de aplicación						
(p-valor)	0.0946	0.3894	0.0236	0.5867	0.0001	0.0001

‡ = Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

La aplicación de las NPsZnO tuvo un efecto positivo, en el número de frutos, siendo los tratamientos manejados con las concentraciones de 500 y 2000 mg·L⁻¹, superiores al tratamiento testigo; también se observó que la aplicación de manera foliar en las plantas de calabacita, tuvo mejor respuesta en comparación con los tratamientos aplicados vía drench. De manera similar, en las variables peso, largo y ancho de fruto se observó una respuesta favorable con el tratamiento a 2000 mg·L⁻¹. En el largo de fruto, el tratamiento a 500 mg·L⁻¹ se comportó estadísticamente igual al tratamiento con la concentración de 2000 mg·L⁻¹. El peso fresco aéreo solo se vio afectado con la aplicación de 1000 mg·L⁻¹. En tanto que el peso seco aéreo mostró respuesta positiva con la aplicación de 500 mg·L⁻¹, con diferencias estadísticas comparado con el resto de los tratamientos. Respecto a la vía de aplicación, con excepción del peso seco aéreo, en todas las variables influyó la aplicación foliar y mostró ser la mejor vía de suministro de las NPsZnO en las plantas de calabaza. No obstante que la interacción entre la concentración y la vía de aplicación solo fue significativa para las variables largo de fruto y peso fresco y seco aéreo.

En la Figura 2 puede apreciarse el comportamiento de las medias de la interacción en las variables número de frutos (2A), peso de frutos (2B), largo de fruto (2C), ancho de fruto (2D), peso fresco aéreo (2E) y peso seco aéreo (2F) de las plantas de calabacita. En el número de frutos (Figura 2A) se observó en todos los tratamientos que la aplicación foliar de las NPsZnO expresó mejor respuesta en comparación con los aplicados por vía drench, mostrando un aumento del 25% en el testigo, 13% a dosis de 500 mg L⁻¹, 8% a concentración de 1000 mg L⁻¹ y un 4% con 2000 mg L⁻¹. También se pudo observar que la concentración a 2000 mg L⁻¹ expresó valores más altos, en comparación con los demás tratamientos. El peso fruto (Figura 2B) con la aplicación a 2000 mg L⁻¹ tuvo un aumento del 29% en comparación con el tratamiento testigo drench y pudo observarse una tendencia positiva al aplicar los tratamientos de NPsZnO mediante la vía foliar, siendo 19% mayor en el testigo, 18% mayor a la concentración de 500 mg L⁻¹, 13% a 1000 y 2000 mg L⁻¹.

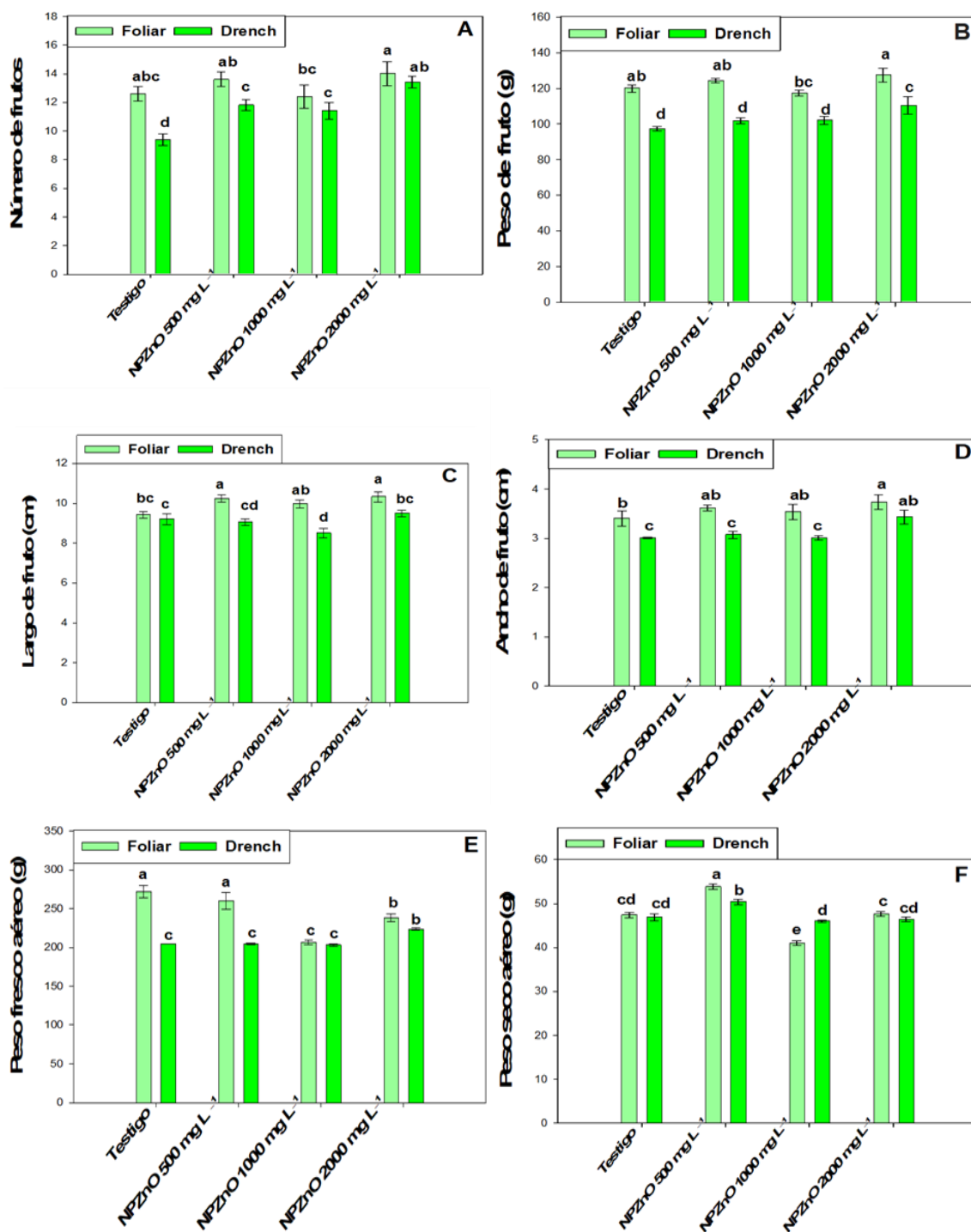


Figura 2. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas a frutos de calabacita y peso seco y fresco de la parte aérea de la planta, tratadas con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench. Mmedias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

En el caso de la variable largo de fruto (Figura 2C) hubo un aumento del 2% en el testigo, 11% con la concentración de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 15% con la concentración de $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y un 8 % con la concentración de $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, al aplicar de manera foliar las NPsZnO, esta variable de fruto tendió a presentar valores más altos en comparación a los testigos y a las aplicaciones por vía drench. Mientras que en el ancho de fruto (Figura 2D), el testigo foliar tuvo un aumento de 11% sobre el testigo drench, se observó además, la misma tendencia de éste efecto positivo al aplicar las nanopartículas por vía foliar en los tratamientos con las diferentes concentraciones. El comportamiento expresado en el ancho de fruto, fue similar a la variable largo de fruto, ya que los tratamientos a concentración de 500 y $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ presentaron también, un aumento en esta variable del 15%, para cada una de las concentraciones; además también se mostró un aumento del 7% a $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ comparado con su respectivo homólogo por vía drench.

En la variable de peso fresco aéreo (Figura 2E), el tratamiento de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ aplicado de forma foliar, se mostró estadísticamente igual al testigo respectivo, pero ambos fueron estadísticamente superiores al resto de los tratamientos, tanto en aplicación foliar como en drench, y promovieron un aumento de 21% y 25%, respectivamente en esta variable. Por otro lado, los tratamientos a 1000 y $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, sólo expresaron un 2 y 6 % de incremento con respecto al testigo.

En el peso seco aéreo (Figura 2F) el tratamiento a $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ fue 10.6% superior en comparación al testigo y 18.3 % mayor al tratamiento de $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, en esta investigación la aplicación de las nanopartículas por vía foliar ha mostrado una respuesta positiva, siendo 6% mayor a la dosis de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y 3% a dosis de $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, aplicados por vía drench. Sin embargo, la concentración de $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ por vía drench mostró un aumento del 11% con respecto al valor obtenido para la aplicación por vía foliar, por lo que pueden estar interactuando el sustrato con la absorción de las nanopartículas.

Los resultados para las variables, rendimiento ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), diámetro de raíz (mm), longitud de raíz (cm), peso fresco de raíz (g), peso seco de raíz (g) y volumen de raíz (mL) en plantas de calabacita, están representados en la Tabla 2. De acuerdo con la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$) se muestran diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y las vías de aplicación, en dichas variables la aplicación de NPsZnO tuvo un efecto positivo.

Tabla 2. Comparación de medias de variables agronómicas en plantas de calabaza *Cucurbita pepo* L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc con diferentes vías de aplicación.

Tratamiento	Rendimiento (Kg ha ⁻¹)	Diámetro de raíz DR (mm)	Longitud de raíz LR (cm)	Peso fresco de raíz PFR (g)	Peso seco de raíz (g)	Volumen de raíz VR (mL)
Concentraciones (mg L⁻¹)						
Testigo 0	49800.99 c	16.14 a	32.75 b	42.77 b	19.90 a	34.30 b
NPsZnO-500	59302.09 b	16.51 a	33.26 ab	41.30 c	18.70 b	32.67 c
NPsZnO-1000	53527.05 c	15.19 b	33.85 a	43.73 a	18.90 b	36.03 a
NPsZnO-2000	66677.87 a	13.39 c	32.91 b	42.53 b	19.20 ab	33.0 c
(p-valor)	0.0001	0.0001	0.0077	0.0001	0.0396	0.0001
Vía de aplicación						
Foliar	65848.16 a	16.21 a	35.99 a	42.12 b	18.95 a	34.47 a
Drench	48805.84 b	14.41 b	30.39 b	43.05 a	19.40 a	33.53 b
(p-valor)	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.1382	0.0001
Concentraciones*Vía de aplicación						
(p-valor)	0.0219	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

‡ = Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

En la variable rendimiento se ve un efecto positivo a la concentración de 2000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, siendo superior a los tratamientos de 500 y 1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y al testigo. La mejor respuesta positiva se observó cuando la aplicación se hizo por vía foliar (Tabla 2).

En el diámetro de la raíz los tratamientos a 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NPsZnO y el testigo, presentaron similitud, estadísticamente hablando y fueron los que presentaron una respuesta superior, en comparación con los tratamientos a concentración de

1000 y 2000 mg·L⁻¹, siempre por la vía de aplicación foliar. Por otro lado, la variable longitud de raíz, presentó los valores más altos en los tratamientos de 500 y 1000 mg·L⁻¹, ambos estadísticamente iguales, pero estadísticamente superior a los tratamientos de 2000 mg·L⁻¹ y el testigo; la vía de aplicación foliar fue la que presentó valores más altos, con respecto a la realizada en forma de drench. Continuando con los parámetros de raíz, se encontró que el peso fresco mostró mejor respuesta cuando las plantas fueron tratadas con 1000 mg·L⁻¹, siendo éste superior a los tratamientos manejados a 500 y 2000 mg·L⁻¹, y al testigo. Este parámetro fue mayormente influenciado por la aplicación por vía drench. En este mismo sentido, el peso seco de la raíz se vio beneficiado con los tratamientos a 2000 mg·L⁻¹ y el testigo, ya que estos fueron mejores estadísticamente. En esta variable la vía de aplicación foliar y drench, no tuvo diferencias estadísticas significativas. Por el contrario, en la variable volumen de raíz, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos siendo la concentración de 1000 mg·L⁻¹ superior al resto de los tratamientos y al testigo, en la que, la vía de aplicación foliar tuvo el mayor efecto positivo (Tabla 2). En todas las variables citadas en el Tabla 2, las interacciones entre concentraciones*vía de aplicación resultaron significativas ($p \leq 0.05$).

En la Figura 3, se observan las variables rendimiento (3A), diámetro de raíz (3B), longitud de raíz (3C), peso fresco de raíz (3D), peso seco de raíz (3E) y volumen de raíz (3F) tomadas de plantas de calabaza, tratadas con NPsZnO aplicadas por dos vías, foliar y drench.

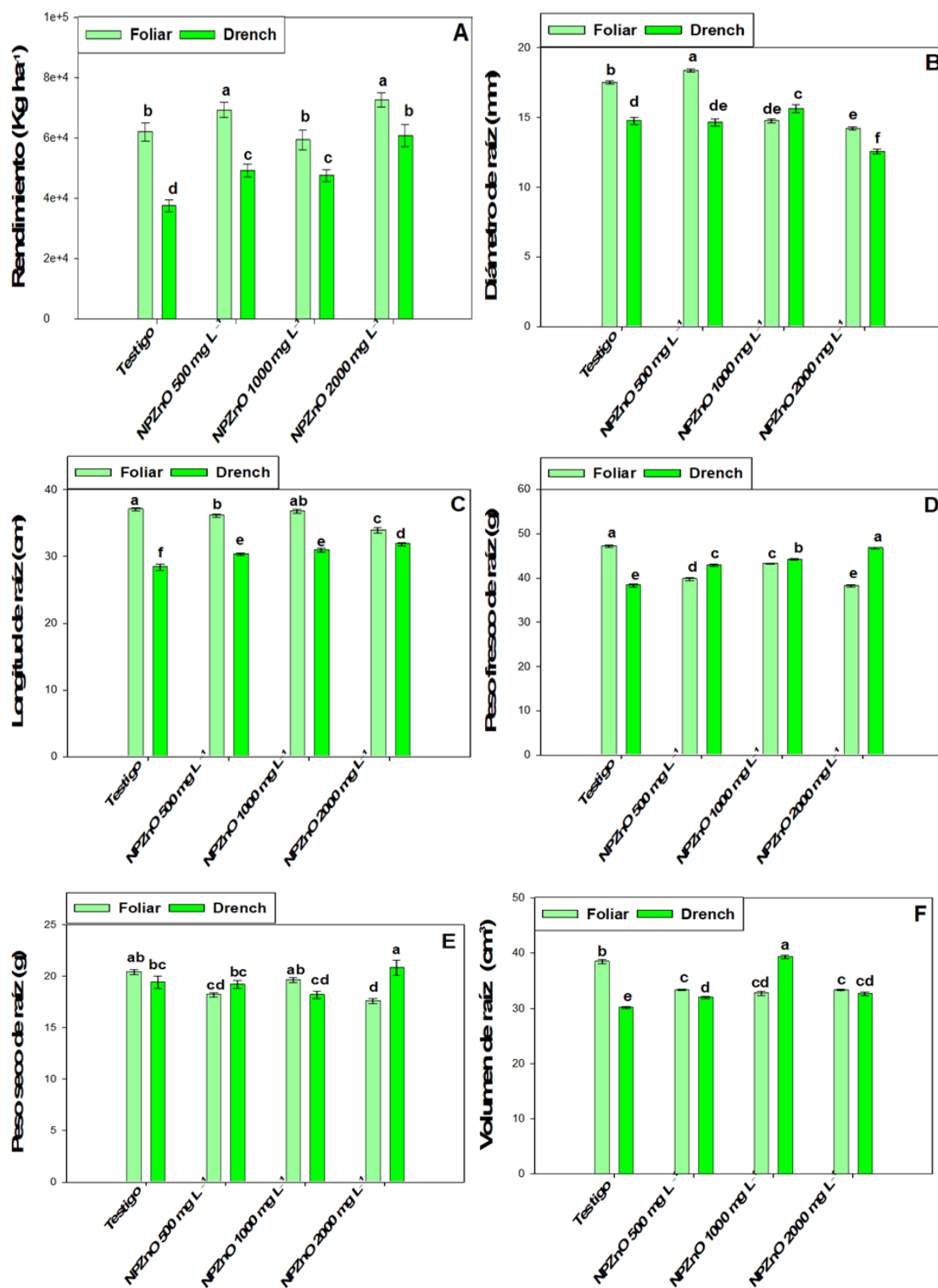


Figura 3. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con la raíz de plantas de calabacita y su rendimiento, tratadas con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, con aplicación foliar y en drench. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$).

0.05). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

En el caso de la variable de rendimiento (Figura 3A) los tratamientos aplicados de manera foliar tienen una mejor respuesta en comparación a la aplicación en drench, debido a que fue mayor, con un 39% en el testigo, 29% en la dosis de 500 mg·L⁻¹, 20% en 1000 mg·L⁻¹ y 30% en 2000 mg·L⁻¹. Los tratamientos a dosis de 500 y 1000 mg·L⁻¹ presentan un valor del 34 y 19 % superior al testigo, respectivamente, esto puede llegar a ser una referencia del efecto positivo que tiene el uso de las NPsZnO en la producción agrícola.

En la variable diámetro de raíz (Figura 3B) se observó que el tratamiento aplicado de manera foliar a dosis de 500 mg·L⁻¹, fue mejor y superior a los demás tratamientos aplicados a concentraciones mayores de nanopartículas (1000 y 2000 mg·L⁻¹) y al tratamiento testigo, la forma de aplicación que presentó una respuesta favorable en esta variable, fue la vía foliar, ya que se observó un incremento del 16% en el testigo, 20% a 500 mg·L⁻¹ y 12% a 2000 mg·L⁻¹. Los tratamientos aplicados en forma drench presentaron uniformidad, siendo la dosis de 1000 mg·L⁻¹ superior con un 6% con respecto a la aplicación vía foliar; además, esta dosis tuvo una respuesta positiva, comparada con las otras dosis y con el testigo.

La variable longitud de raíz (Figura 3C), presentó altos valores cuando se trataron las plantas de manera foliar, con respecto a las aplicaciones vía drench, ya que se observaron incrementos del 20% en el testigo, 6% a 2000 mg·L⁻¹, 16% a 500 y 1000 mg·L⁻¹, los mejores tratamientos fueron el testigo foliar y los tratamientos a concentración a 1000 mg·L⁻¹ de la misma forma de aplicación.

La variable peso fresco de raíz (Figura 3D) fue influenciada por el tratamiento aplicado vía drench a 2000 mg·L⁻¹, ya que tuvo mejor respuesta con valores altos en comparación con los demás tratamientos aplicados de la misma forma y

además este tratamiento también fue superior a los tratamientos aplicados mediante la vía foliar a excepción del tratamiento testigo. Por lo que presentó un aumento del 7% mayor a dosis de 500 mg·L⁻¹, 2% a dosis de 1000 mg·L⁻¹ y 18% a 2000 mg·L⁻¹. Este comportamiento lo presentó de la misma manera la variable de peso seco de raíz, como se puede observar en la Figura 3E, el tratamiento a dosis de 2000 mg·L⁻¹ aplicado vía drench fue numéricamente mejor, teniendo un aumento del 5% a 500 mg·L⁻¹ y 15% a 2000 mg·L⁻¹, pero estadísticamente igual a los tratamientos testigo y 1000 mg·L⁻¹ de manera foliar, siendo 5 y 7 % superiores a los aplicados vía drench.

En el caso de la variable volumen de raíz (Figura 3F), se observó que el mejor tratamiento fue el manejado vía drench a dosis de 1000 mg L⁻¹, siendo 17% mejor en comparación al aplicar vía foliar, esto pudo deberse a que la aplicación iba dirigida a la raíz y que hubo un efecto localizado y de baja movilidad de las nanopartículas. Los tratamientos con las dosis de las nanopartículas tuvieron un efecto positivo en esta variable siendo 5% mejor en comparación al testigo, se observa que en la vía de aplicación foliar el tratamiento que tuvo un mejor volumen de raíz fue el testigo en comparación a los manejados con nanopartículas, además este tratamiento fue superior a los tratamientos testigo, a 500 y 2000 mg·L⁻¹ aplicados vía drench, con un 22, 4 y 2 %, respectivamente.

Variables de calidad del fruto de calabacita

La Tabla 3 resume el comportamiento de las variables, firmeza (Kg·cm⁻²), sólidos solubles totales (°Brix), potencial de hidrogeno (pH), conductividad eléctrica (CE), acidez titulable (% Ácido cítrico) y vitamina C (mg·100 g⁻¹) en frutos de calabaza. De acuerdo con la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$) se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y las vías de aplicación.

Tabla 3. Comparación de medias de variables de calidad de fruto en plantas de calabaza *Cucurbita pepo* L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc mediante diferentes vías de aplicación.

Tratamiento	Firmeza (Kg cm ⁻²)	C.E. (dS m ⁻¹)	pH	SST (°Brix)	Acidez titulable (% Ácido cítrico)	Vitamina C (mg 100 g ⁻¹)
Concentraciones (mg·L⁻¹)						
Testigo 0	4.55 c	4.07 c	6.57 b	3.57 b	0.16 b	6.23 c
NPsZnO-500	5.35 ab	5.67 b	6.61 b	4.38 a	0.18 a	7.12 a
NPsZnO-1000	5.58 a	6.23 a	6.76 a	4.33 a	0.17 ab	6.47 b
NPsZnO-2000	5.31 b	6.30 a	6.66 ab	4.13 a	0.18 a	6.40 b
(p-valor)	0.0001	0.0001	0.0107	0.0001	0.0328	0.0001
Vía de aplicación						
Foliar	5.23 a	5.72 a	6.60 b	4.12 a	0.17 a	6.57 a
Drench	5.16 a	5.41 a	6.70 a	4.09 a	0.17 a	6.53 a
(p-valor)	0.376	0.0512	0.0196	0.7673	0.4829	0.4219
Concentraciones*Vía de aplicación						
(p-valor)	0.0029	0.4887	0.9115	0.0001	0.0201	0.0001

‡ = Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). SST: sólidos solubles totales pH: potencial de hidrogeno, CE: conductividad eléctrica. Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

La aplicación de NPsZnO tuvo un efecto positivo, en la firmeza del fruto, en esta variable se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, donde la concentración a 1000 mg·L⁻¹ presentó el mejor efecto más alto, seguido por la concentración a 500 mg·L⁻¹, lo que indica que fueron estadísticamente superiores al tratamiento testigo, y a los tratamientos a 500 y 2000 mg·L⁻¹, los cuales se mostraron estadísticamente iguales entre ellos, pero superiores al tratamiento testigo. No se encontró diferencia estadística en la forma de aplicación (Tabla 3).

La CE presentó diferencia estadística entre tratamientos, en este parámetro los tratamientos a concentración de 1000 y 2000 mg·L⁻¹, mostraron las medias más altas, y estadísticamente superiores a los tratamientos de 500 mg·L⁻¹ y el testigo. En esta variable la vía de aplicación no tuvo influencia. En cuanto al pH, los

resultados indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, en esta variable las concentraciones a 2000 y 1000 mg·L⁻¹, tuvieron los mejores resultados (5.30 y 6.23, respectivamente), superando estadísticamente al tratamiento de 500 mg·L⁻¹ (5.67) y al testigo (4.07); a su vez el tratamiento a 500 mg·L⁻¹ fue significativamente superior al testigo; En este parámetro la vía de aplicación drench fue significativamente superior. En la variable de sólidos solubles totales todos los tratamientos (500, 1000 y 2000 mg·L⁻¹) con nanopartículas fueron estadísticamente superiores al tratamiento testigo, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas entre las formas de aplicación foliar y drench. La variable de acidez titulable mostró efecto significativo con los tratamientos a 500 y 2000 mg·L⁻¹ de nanopartículas (0.18% en ambos casos), en comparación con el testigo (0.16%), en esta variable la concentración a 1000 mg·L⁻¹ (0.17%) fue estadísticamente igual al testigo, además, la vía de aplicación no tuvo efecto significativo. Para el caso de la vitamina C todos los tratamientos (500, 1000 y 2000 mg·L⁻¹) con nanopartículas fueron estadísticamente superiores al tratamiento testigo. En esta variable, las NPsZnO aplicadas a 500 mg·L⁻¹ mostró el mejor efecto para estimular la síntesis de dicho compuesto (7.12%), seguido de los tratamientos a 1000 y 2000 mg·L⁻¹ de NPsZnO (6.47% y 6.40%, respectivamente) en comparación con el testigo (6.23%), este parámetro no se mostró afectado por la vía de aplicación del suministro de los tratamientos. Las variables firmeza, SST, acidez titulable y vitamina C, mostraron interacción significativa ($p \leq 0.05$) entre la concentración y las vías de aplicación (Tabla 3).

En la Figura 4 se muestran las variables de firmeza (4A), sólidos solubles totales (4B), potencial de hidrogeno (4C), conductividad eléctrica (4D), acidez titulable (4E) y vitamina C (4F), obtenidos en frutos de calabacita, producidos por la influencia de aplicaciones de NPsZnO a diferentes concentraciones y suministradas por dos vías, de forma foliar y en drench.

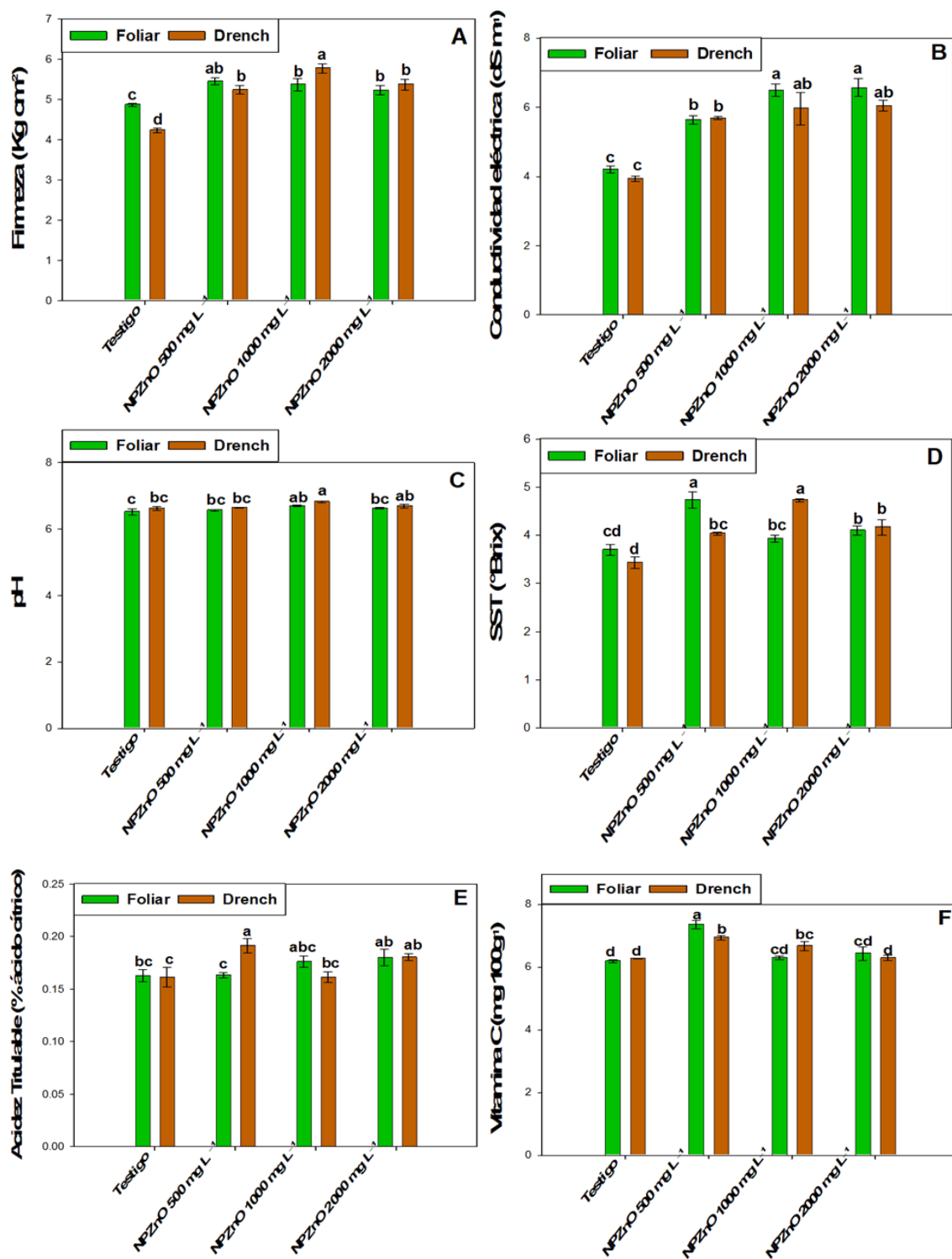


Figura 4. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con la calidad de fruto en el cultivo de calabacita, tratado con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

De acuerdo con la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$) se muestran diferencias estadísticas significativas en la interacción entre los tratamientos y las vías de aplicación. La aplicación de NPsZnO tuvo un efecto positivo en la firmeza del fruto (Figura 4A) independientemente de la vía de aplicación utilizada comparada con los testigos respectivos, en este parámetro el tratamiento con $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, proporcionado de forma foliar promovió un incremento del 2%, con respecto a su homólogo por vía drench; los tratamientos con 1000 y $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ suministrados por vía drench mostraron un incremento de 7% y 3%, con respecto a su homólogo suministrado por vía foliar; el testigo foliar, también mostró un incremento del 13% sobre el testigo drench.

En la conductividad eléctrica (Figura 4B) se observan resultados muy parecidos a la variable firmeza (Figura 4A), el uso de NPsZnO aumenta también la conductividad eléctrica de los frutos de calabaza, por lo que, los tratamientos manejados con las nanopartículas presentaron un mayor valor de conductividad en todas las concentraciones evaluadas de 500, 1000 y $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, siendo 39, 53 y 55%, respectivamente mayores que el tratamiento testigo, sin embargo, en esta variable no se encontraron diferencia estadística significativa entre las vías de aplicación. Por otro lado, las aplicaciones foliares de 1000 y $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ mostraron el mayor efecto, con un incremento de 8% en ambos tratamientos sobre su homólogo drench.

El pH del fruto (Figura 4C) se vio favorecido con la aplicación de las NPsZnO, sin embargo, la interacción entre la concentración y las vías de aplicación foliar y drench no son estadísticamente diferente en cada tratamiento. No obstante, la aplicación por vía drench de $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ promovió un incremento de 2% sobre la aplicación del mismo tratamiento por vía foliar. Este mismo incremento del 2%, se observó entre los testigos drench y foliar.

Los SST (Figura 4E) mostraron efectos positivos con la aplicación de los tratamientos, el incremento observado en esta variable estuvo relacionado con la concentración y la vía de aplicación empleadas. Los mejores efectos se observaron con el suministro de 500 mg·L⁻¹ de NPsZnO por vía foliar y de 1000 mg·L⁻¹ NPsZnO por vía drench, debido a que ambas concentraciones estimularon el incremento de 15 y 17%, respectivamente en comparación con su tratamiento homólogo. La aplicación de 2000 mg·L⁻¹ de NPsZnO, también fue estadísticamente superior al testigo, sin embargo, dichos tratamientos nos mostraron diferencias estadísticamente entre su par en relación a la vía de aplicación foliar y drench.

La acidez titulable (Figura 4E) mostró incremento cuando fue tratada con 500 mg·L⁻¹ de NPsZnO, este tratamiento aumento el contenido de ácido cítrico en el fruto en un 16% cuando la aplicación se hizo por vía drench comparado con la misma concentración suministrada por vía foliar. Un efecto similar se observó con la aplicación de 1000 mg·L⁻¹ de NPsZnO, pero en este caso, el aumento del 11% fue promovido por la aplicación foliar en comparación con su homólogo en aplicación drench. Tanto el tratamiento a 2000 mg·L⁻¹ NPsZnO y el testigo no presentaron diferencias estadísticas para la vía de aplicación foliar y drench.

En la variable de vitamina C (Figura 4F) únicamente el tratamiento a la concentración de 500 mg·L⁻¹ presentó significancia entre las vías de aplicación, en este parámetro, por lo que la vía de aplicación foliar de 500 mg·L⁻¹ estimuló un incremento de 6% sobre la aplicación en drench. Este mismo incremento de 6% se observó con la aplicación en drench de 1000 mg·L⁻¹ con relación al mismo tratamiento en aplicación foliar. Además, los tratamientos a 2000 mg·L⁻¹ y el testigo no presentaron ninguna diferencia estadística.

Variables de pigmentos en hojas y frutos de calabacita

En la Tabla 4, se presentan los resultados para las variables relacionadas con pigmentos fotosintéticos, entre ellos carotenoides, clorofila *a*, *b*, total, de frutos y hojas. De acuerdo con la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$) se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y las vías de aplicación, en dichas variables la aplicación de NPsZnO tuvo un efecto positivo. La clorofila *a* en fruto, con la concentración a 2000 mg·L⁻¹ fue superior a todos los tratamientos con nanopartículas y al testigo, esta concentración fue 31% superior al tratamiento testigo. La vía de aplicación foliar mostró mejor respuesta que la vía drench. La clorofila *b* en fruto presentó diferencias entre los tratamientos, siendo la concentración a 1000 mg·L⁻¹ aplicada por vía foliar la que presentó mejor respuesta, con 34% de incremento en el contenido de clorofila *b* con respecto al testigo. La clorofila total en fruto mostró un comportamiento similar con la clorofila *b*, debido a que la concentración a 1000 mg·L⁻¹ y la vía de aplicación foliar presenta los mejores valores, siendo este tratamiento superior al testigo, con un 24% de mayor contenido de clorofilas totales. En el contenido de carotenoides en el fruto, el tratamiento a dosis de 2000 mg·L⁻¹ mostró mejor aporte de dicho pigmento a los frutos de calabacita, superando al testigo con el 50% en su concentración, y no se presentan diferencias estadísticas en la vía de aplicación.

Tabla 4. Comparación de medias de variables de pigmentos de frutos y hojas en plantas de calabaza *Cucurbita pepo* L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc mediante diferentes vías de aplicación.

Tratamiento	Fruto				Hoja			
	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chl total	Cc	Chl <i>a</i>	Chl <i>b</i>	Chl total	Cc
Concentraciones (mg L⁻¹)								
Testigo 0	2.17 b	2.46 b	4.64 b	0.30 b	4.92 b	5.41 a	10.33 a	0.23 ab
NPsZnO-500	2.34 b	2.56 ab	4.90 ab	0.30 b	6.27 ab	7.14 a	13.41 a	0.09 b
NPsZnO-1000	2.45 ab	3.30 a	5.75 a	0.08 b	5.44 ab	4.99 a	10.43 a	0.54 a
NPsZnO-2000	2.85 a	2.59 ab	5.44 ab	0.60 a	6.42 a	6.91 a	13.34 a	0.21 ab
(p-valor)	0.0295	0.111	0.1425	0.0126	0.1322	0.1723	0.1498	0.2092

Vía de aplicación

Foliar	2.70 a	3.06 a	5.76 a	0.35 a	6.04 a	6.05 a	12.09 a	0.38 a
Drench	2.21 b	2.40 b	4.61 b	0.29 a	5.49 a	6.17 a	11.66 a	0.16 a
(p-valor)	0.0042	0.0193	0.0052	0.567	0.2691	0.8792	0.726	0.1556

Concentraciones*Vía de aplicación

(p-valor)	0.0015	0.0636	0.0082	0.2697	0.6698	0.7989	0.7521	0.8694
------------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

‡ = Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Carotenoides (Cc), clorofila *a* (Chl *a*), *b* (Chl *b*), total (Chl total). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

La prueba de medias de las variables de pigmentos en las hojas de calabacita muestran que hay diferencia estadística significativa entre los tratamientos para variable de clorofila *a* en hoja, siendo la concentración a 2000 mg·L⁻¹ la que aumentó en un 30% en comparación al tratamiento testigo; no se muestran diferencias entre las vías de aplicación, tanto para la clorofila *a* y *b* tomada en hoja. Así mismo, la aplicación de nanopartículas, tampoco aumento en el contenido de clorofila *b* en las hojas, presentando un comportamiento igual entre los tratamientos y el testigo. Por otro lado, el contenido de carotenoides en hojas se mostró beneficiado con la dosis de 1000 mg·L⁻¹, al presentar un aumento del 130% en comparación con el tratamiento testigo, no obstante que la vía de aplicación no tuvo diferencias significativas en este parámetro.

En la Figura 5 se muestran las variables en fruto, clorofila *a* (5A), clorofila *b* (5B), clorofila total (5C), carotenoides (5D); así como también las variables consideradas en hoja, clorofila *a* (5E), clorofila *b* (5F), clorofila total (5G) y carotenoides (5H), tomadas en el cultivo de calabaza, inducidas por aplicaciones a diferentes concentraciones de NPsZnO, en dos vías de aplicación, foliar y drench.

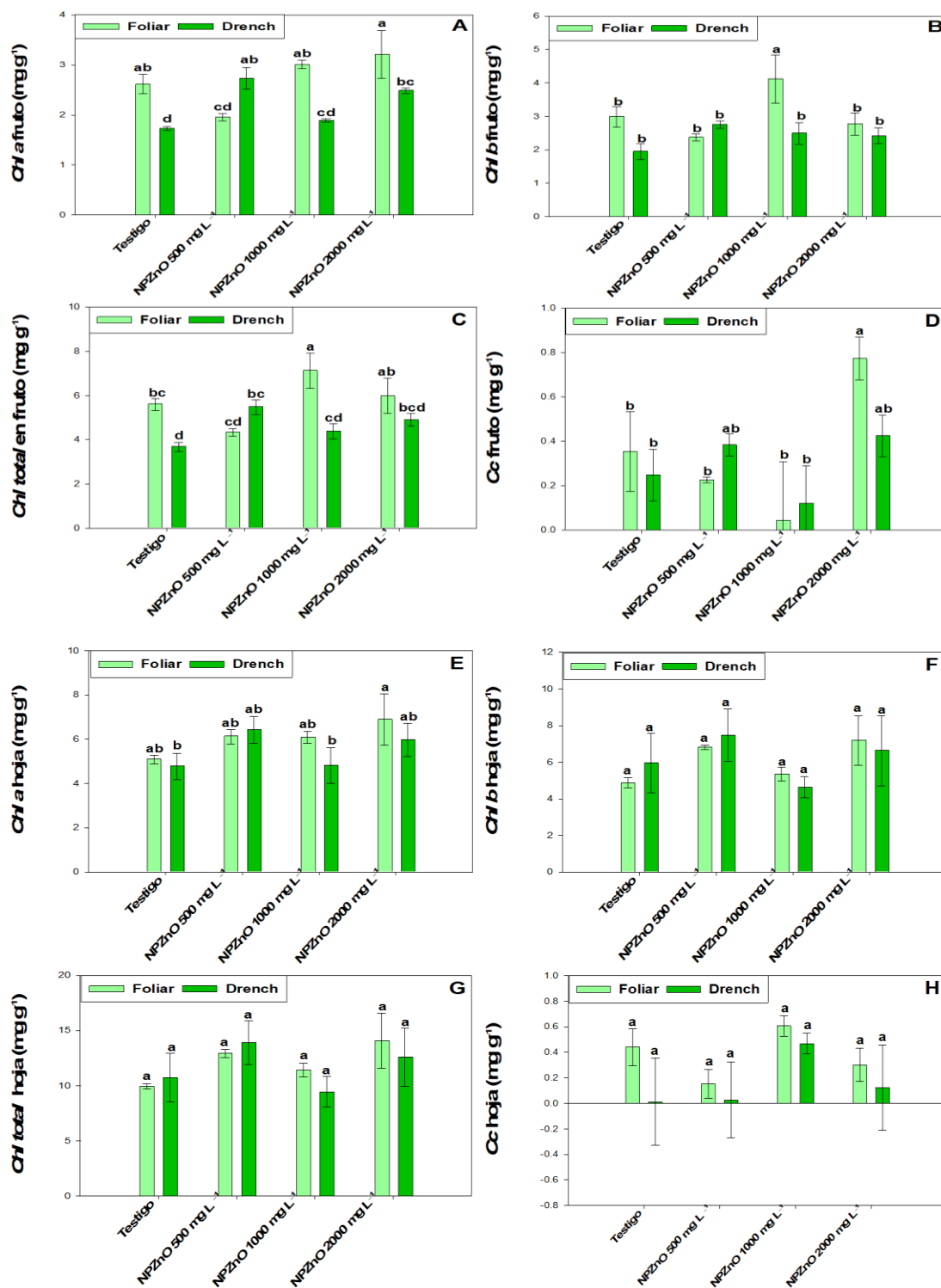


Figura 5. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con el contenido de pigmentos en frutos y hojas, tratados con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$).

Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

De acuerdo con la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$) se presentaron diferencias estadísticas significativas en la interacción entre los tratamientos y las vías de aplicación. La aplicación de NPsZnO tuvo un efecto positivo en la variable clorofila *a* en frutos (Figura 5A), se observó que la concentración de 2000 mg·L⁻¹ en aplicación vía foliar tuvo el mayor contenido de clorofila *a* con un incremento de 23% en comparación con el testigo de la misma vía de aplicación. Por otro lado, la concentración a 500 mg·L⁻¹ de NPsZnO aplicado por vía drench presentó un incremento de 58% en el contenido de clorofila *a* comparado con su correspondiente testigo.

El contenido de clorofila *b* en fruto (Figura 5B) tuvo un aumento del 38% con la aplicación foliar de 1000 mg L⁻¹, comparado con el testigo foliar correspondiente. Por otro lado, los demás tratamientos y vías de aplicación, no presentaron diferencias estadísticas, teniendo un comportamiento igual a los testigos.

En la variable clorofila total en fruto (Figura 5C), se observa una respuesta positiva a la aplicación de NPsZnO mediante la vía foliar a dosis de 1000 mg·L⁻¹, siendo superior a los tratamientos testigos, aumentando el contenido de clorofila total en un 27%, con respecto al testigo foliar y un 94 % en comparación al testigo drench. Así mismo, la aplicación foliar de las NPsZnO a dosis de 2000 mg·L⁻¹ tuvo un efecto positivo sobre el contenido de carotenoides en los frutos (Figura 5D), con un incremento de 120% sobre el testigo con la misma vía de aplicación, y de 208% de incremento sobre el testigo drench.

En el contenido de clorofila *a* en las hojas de calabacita (Figura 5E), se observó que las nanopartículas tuvieron un efecto positivo, a la dosis de 2000 mg·L⁻¹, ya que fue la dosis que presentó un valor más alto en comparación a las demás dosis y al testigo, siendo un 36% mayor al testigo que se aplicó por vía foliar y un 44% en el caso de la aplicación vía drench; las demás dosis presentaron un comportamiento similar estadísticamente hablando. En el caso de las variables

clorofila *b* en hojas (Figura 5F), clorofila total en hoja (Figura 5G) y carotenoides en hojas (Figura 5H), se observó que no contaron con diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$), lo que indicó, que tuvieron un comportamiento igual entre las dosis manejadas y las vías de aplicación administrada, tanto foliar como en drench.

Variables de contenido nutrimental en frutos de calabacita

En la Tabla 5 puede observarse los resultados de las variables relacionadas con el contenido nutrimental consideradas para fruto como: proteínas totales, carbohidratos, lípidos y contenido de cenizas. De acuerdo con la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$), se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y las vías de aplicación. La aplicación NPsZnO tuvo un efecto positivo en la concentración de proteínas totales y carbohidratos en fruto, la dosis que presentó la respuesta con valores más altos fue la de $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, la cual aumento un 13% del contenido de proteínas totales en comparación al tratamiento testigo; sin embargo, las vías de aplicación foliar y drench no tuvieron diferencias significativas. El contenido de carbohidratos en el fruto de calabacita presentó un aumento al aplicar NPsZnO a dosis de $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ mediante aplicación drench, promoviendo un incremento del 21%, en comparación con el testigo. La variable lípidos en fruto mostró una reducción del 14% con la dosis de $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y con la aplicación realizada en drench, de igual forma comparada con el testigo. La vía de aplicación foliar fue mejor para promover el incremento de los lípidos en el fruto. El contenido de cenizas del fruto mostró un incremento del 2% con la aplicación de $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de nanopartículas en comparación con el testigo. No obstante que a concentraciones de 1000 y $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ el contenido de cenizas experimentó un decrecimiento del 6 y 3 %, promovido principalmente por la aplicación vía drench.

Tabla 5. Comparación de medias de variables del contenido nutrimental en frutos de calabaza *Cucurbita pepo* L. var Grey Zucchini, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc mediante diferentes vías de aplicación.

Tratamiento	Proteínas totales (mg g ⁻¹)	Carbohidratos (mg g ⁻¹)	Lípidos (mg g ⁻¹)	Cenizas (mg g ⁻¹)
Concentraciones (mg L⁻¹)				
Testigo 0	47.76 c	147.21 c	9.85 a	0.89 b
NPsZnO-500	54 a	172.21 ab	9.48 a	0.90 a
NPsZnO-1000	50.81 b	178.05 a	9.16 ab	0.84 d
NPsZnO-2000	47.73 c	167.59 b	8.46 b	0.87 c
(p-valor)	0.0004	0.0001	0.0599	0.0001
Vía de aplicación				
Foliar	50.43 a	170.06 a	9.60 a	0.85 b
Drench	49.73 a	162.46 b	8.88 b	0.89 a
(p-valor)	0.4338	0.0143	0.0477	0.0001
Concentraciones*Vía de aplicación				
(p-valor)	0.001	0.0001	0.0158	0.0001

‡ = Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Contenido nutrimental: proteínas totales, carbohidratos, lípidos y contenido de cenizas. Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

En la Figura 6, se observa el comportamiento de las variables relacionadas con el contenido nutrimental en frutos de calabacita: proteínas totales (6A), carbohidratos (6B), lípidos (6C) y contenido de cenizas (6D), estos presentan diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$).

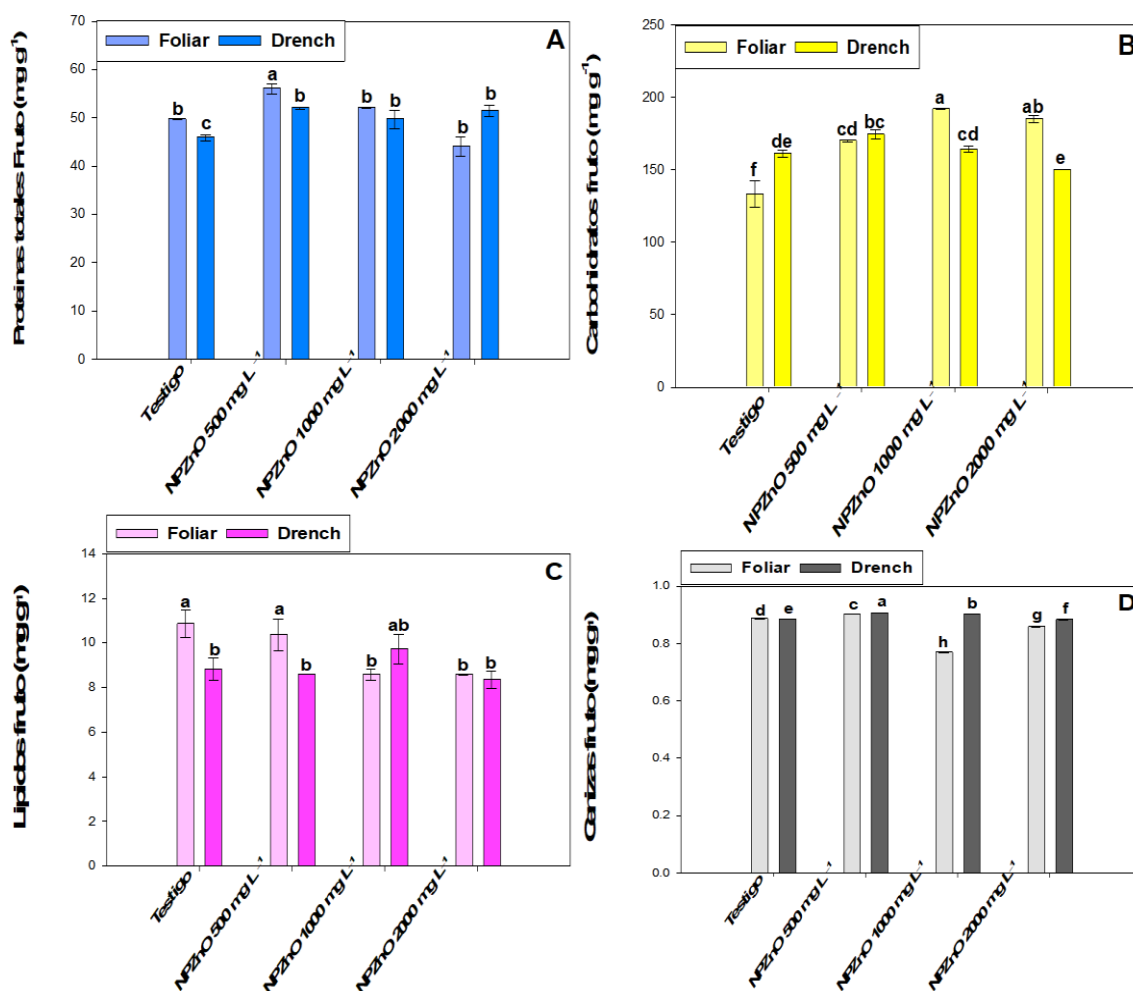


Figura 6. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con el contenido nutricional en frutos, tratados con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench (medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$); se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza).

El contenido de proteínas totales en fruto (Figura 6A) mostró un incremento del 13 y 22 % con el tratamiento a la dosis de 500 mg L⁻¹ de NPsZnO, tanto por vía foliar como en drench, respectivamente, comparado con su testigo correspondiente. En la variable de carbohidratos de frutos (Figura 6B), se observaron diferencias entre las dosis de nanopartículas y la vía de aplicación, con respecto a los tratamientos testigo, siendo el tratamiento aplicado por vía drench a una dosis de 1000 mg·L⁻¹, el que presentó un mayor contenido de carbohidratos con respecto a las demás dosis, este tratamiento aumentó 19% el

contenido de carbohidratos en comparación al testigo aplicado vía drench y un 44% comparado con el testigo foliar. En la variable lípidos de frutos (Figura 6C), se observó que los mejores tratamientos fueron el testigo aplicado vía foliar y el tratamiento a 500 mg·L⁻¹ con la misma vía de aplicación, estos son estadísticamente iguales, pero superiores a todos los demás tratamientos por vía foliar y drench. En la variable contenido de cenizas en fruto (Figura 6D), el tratamiento a 500 mg·L⁻¹ en aplicación vía drench, fue el que tuvo un mayor resultado en dicha variable en comparación con el resto de los tratamientos, esta dosis y la vía de aplicación tuvo un incremento de 2 y 3 % sobre los testigos foliar y drench, respectivamente; se observa, además, que, al aumentar la concentración de nanopartículas, se disminuye el contenido de cenizas en fruto.

Efecto de NPsZnO en la lombriz roja californiana

En la Tabla 6, se presentan los resultados para las variables número de lombrices, peso de lombrices, proteínas, carbohidratos, lípidos y cenizas en las lombrices. De acuerdo con la prueba de medias LSD Fisher ($p \leq 0.05$) se muestran diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y las vías de aplicación, en dichas variables la aplicación de NPsZnO tuvo un efecto positivo. El número de lombrices expresó un incremento de 63% con la aplicación de la dosis de 2000 mg·L⁻¹, de nanopartículas por vía drench, en comparación con el tratamiento testigo, teniendo un comportamiento similar a la variable peso de lombrices, en la que también la dosis a 2000 mg·L⁻¹ presentó un 42% de incremento en el peso de las lombrices, comparado con el tratamiento testigo. La vía de aplicación foliar y drench no fue significativa. La aplicación de NPsZnO aumentó el contenido de proteínas de lombrices en todas las dosis manejadas, siendo superiores al testigo y la vía de aplicación no representó diferencias estadísticas. El contenido de carbohidratos en la lombriz se vio mejorado con la aplicación a 500 y 2000 mg·L⁻¹, que estimuló un incremento de 24 y 19 %, respectivamente, sobre el tratamiento testigo. La vía de aplicación no fue significativa en dicha variable. El contenido de lípidos tuvo un comportamiento

similar al que se expresó con el contenido de los carbohidratos, debido a que también fue estimulado con las concentraciones de 500 y 2000 mg·L⁻¹, siendo estas superiores al testigo con un 14 y 15 %, respectivamente, en este parámetro la vía de aplicación presentó diferencias significativas, siendo la vía drench la que promovió el mejor efecto para la variable. En el parámetro cenizas totales en lombriz se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados, en este parámetro la aplicación de nanopartículas a concentraciones de 2000 y 500 mg·L⁻¹ presentaron el mayor contenido en comparación con el testigo, con un incremento de 4 y 2 %, respectivamente. Este parámetro mostró mejor efecto cuando las nanopartículas se aplicaron por vía foliar.

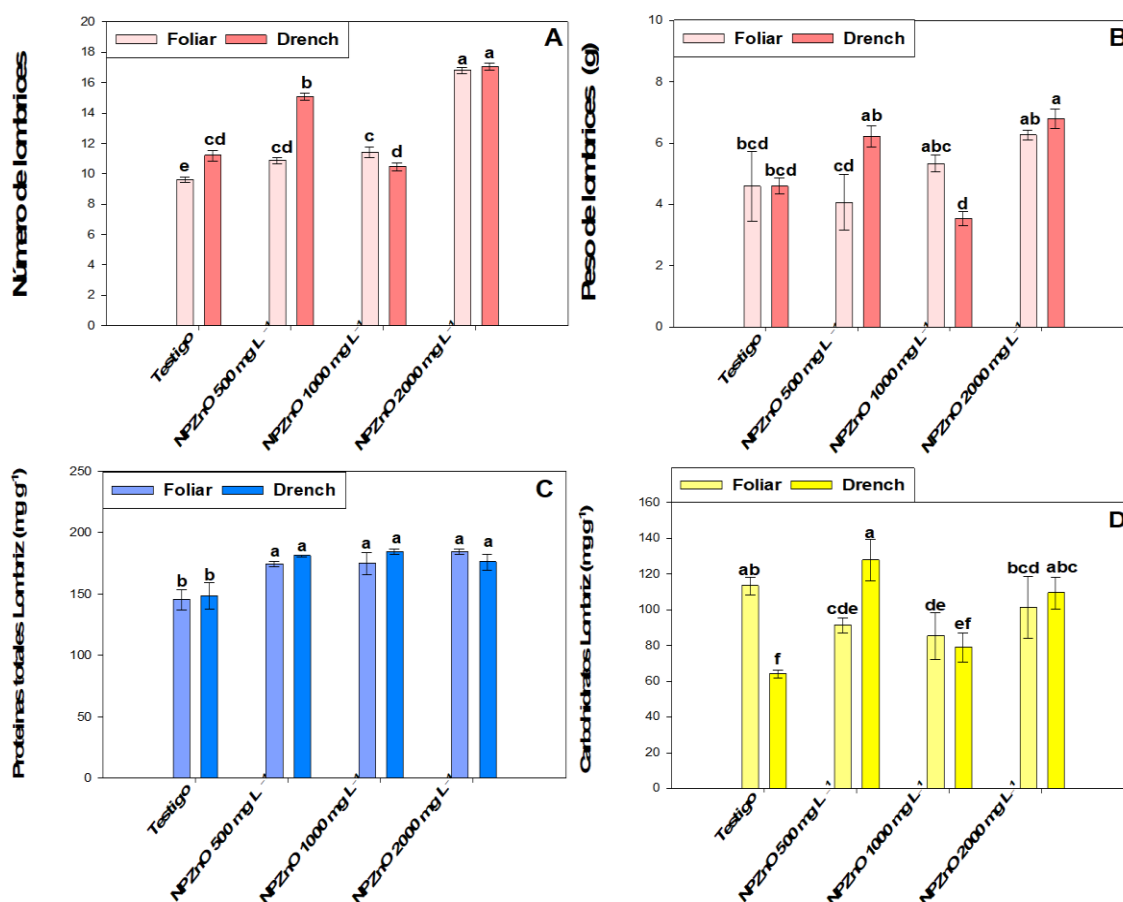
Tabla 6. Comparación de medias de variables de natalidad y contenido nutrimental en lombriz roja californiana, tratadas con nanopartículas de óxido de zinc mediante diferentes vías de aplicación.

Tratamiento	Número de lombrices	Peso (g)	Proteínas totales (mg g ⁻¹)	Carbohidratos (mg g ⁻¹)	Lípidos (mg g ⁻¹)	Cenizas (mg g ⁻¹)
Concentraciones (mg L⁻¹)						
Testigo 0	10.40 c	4.60 b	146.89 b	88.63 b	10.95 b	0.61 c
NPsZnO-500	12.97 b	5.14 b	177.66 a	109.51 a	12.43 a	0.62 b
NPsZnO-1000	10.93 c	4.43 b	179.59 a	82.12 b	10.62 b	0.54 d
NPsZnO-2000	16.93 a	6.53 a	180.17 a	105.22 a	12.50 a	0.63 a
(p-valor)	0.0001	0.0058	0.001	0.0037	0.0164	0.0001
Vía de aplicación						
Foliar	12.17 b	5.07 a	169.73 a	97.76 a	10.66 b	0.61 a
Drench	13.45 a	5.29 a	172.43 a	94.98 a	12.59 a	0.59 b
(p-valor)	0.0001	0.5996	0.5863	0.9501	0.0005	0.0001
Concentraciones*Vía de aplicación						
(p-valor)	0.0001	0.0221	0.5597	0.0008	0.0902	0.0001

‡ = Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$). Se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

En la Figura 7, se observa el comportamiento de las variables relacionadas con la natalidad y contenido nutrimental en lombrices del tipo roja californiana: número de lombrices (7A), peso de lombrices (7B), proteínas (7C), carbohidratos (7D), lípidos (7E) y contenido de cenizas (7F), en las cuáles se encontraron diferencias estadísticas significativas de acuerdo a la prueba de medias LSD

Fisher ($p \leq 0.05$), donde el número de lombrices (Figura 7A), fue favorecido con la aplicación de nanopartículas a una dosis de $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, en este parámetro ambas vías de aplicación (foliar y drench) incrementaron el número de lombrices, en comparación con los tratamientos testigos y las dosis de 500 y $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, este comportamiento es muy parecido a la variable de peso de lombrices (Figura 7B), donde se observa de igual manera que la dosis de nanopartículas a $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, es la que generó mayor peso en las lombrices, en comparación a los demás tratamientos, siendo la vía drench la que presentó mayor respuesta, con respecto a su homólogo en los tratamientos testigo y las dosis a 500 y $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, que éstos son estadísticamente iguales.



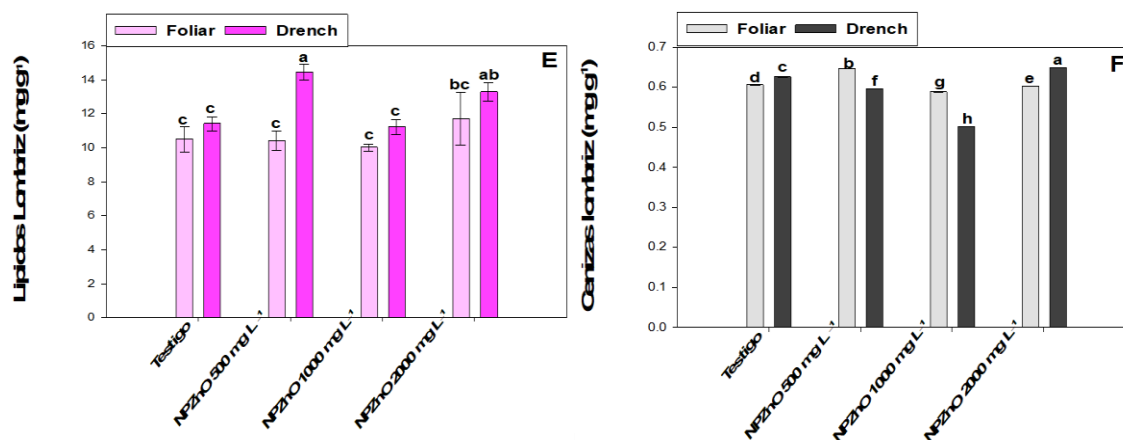


Figura 7. Comparación gráfica de las medias entre variables relacionadas con el contenido de natalidad y contenido nutrimental en lombrices, tratados con diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc, en aplicación foliar y drench. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba LSD Fisher ($p \leq 0.05$); se realizaron aplicaciones con un intervalo de quince días a partir de la germinación de la semilla de calabaza.

En la variable de proteínas en lombriz (Figura 7C) se observó un efecto positivo a la aplicación de NPsZnO en cualquiera de las concentración evaluadas, siendo estas superiores a los tratamientos testigos de ambas vías de aplicación. La variable contenido de carbohidratos en las lombrices (Figura 7D), presentó diferencias estadísticas significativas de acuerdo la prueba de medias, los valores más altos, se registraron en la dosis a 500 mg·L⁻¹ aplicada vía drench, en comparación a las demás dosis y a los testigos, siendo esta superior con un 13% en comparación al tratamiento testigo aplicado de manera foliar y un 100% en comparación al tratamiento testigo por vía drench, duplicando el contenido de carbohidratos en las lombrices. El resto de los tratamientos son estadísticamente iguales.

Por otro lado, la variable lípidos de lombriz (Figura 7E) presentó diferencias significativas. La dosis de 500 mg·L⁻¹ de nanopartículas aplicadas por vía drench aumento el contenido de lípidos en comparación a los demás tratamientos,

siendo esta dosis superior con un 27% con respecto al testigo por vía drench y un 38% más con el testigo por vía foliar; los demás tratamientos son estadísticamente parecidos debido que comportan literales en el análisis de comparación de medias. En la variable cenizas de lombriz (Figura 7F), el tratamiento a $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ con la aplicación en drench fue estadísticamente superior al resto de los tratamientos, con un incremento del 7% con la aplicación foliar y de 5% con la aplicación en drench, en comparación con el tratamiento testigo. Es importante destacar que la aplicación de nanopartículas a 1000 mg L^{-1} la lombriz experimentó una reducción del contenido de cenizas.

DISCUSIÓN

La aplicación de NPsZnO, ha demostrado estimular el desarrollo de la radícula y raíz y con ello mejorar la absorción de nutrientes, Balandrán-Valladares et al. (2021) mencionan que el zinc es esencial para la formación de auxinas y citocininas, las cuales son hormonas vegetales clave que regulan el desarrollo radical y la formación de estructuras reproductivas. La regulación hormonal es un proceso fundamental para la formación de flores y, por ende, de frutos; Rizwan et al. (2019) indican que la aplicación de NPsZnO puede influir en la expresión génica relacionada con las hormonas vegetales, favoreciendo la iniciación y desarrollo de flores, con esto no quiere decir que las flores puedan tener prendimiento en las plantas, se debe tener en cuenta la calidad del polen y la eficiencia en la polinización, ya que son cruciales para el cuajado de frutos principalmente en cucurbitáceas. Gupta et al. (2022) demostraron que las NPsZnO pueden mejorar la viabilidad del polen y la atracción de agentes polinizadores, resultando en un aumento en la tasa de cuajado de frutos, otro factor a considerar es la división celular y el desarrollo del ovario, ya que son procesos clave en la producción de frutos. Singh et al. (2022) mencionan que la aplicación de NPsZnO puede estimular la división celular en los tejidos reproductivos, contribuyendo al desarrollo adecuado de los ovarios y, por ende, al aumento en el número de frutos. Estudios como el de Elmer-Wade y White (2018) hacen referencia a que la aplicación foliar de NPsZnO y su absorción radical, puede ser eficiente para estimular el crecimiento de plantas y aumentar el número de frutos, mientras que la absorción de nutrientes por la raíz contribuye al suministro sostenido de zinc, vital para el desarrollo de las flores y frutos. Estos resultados se asemejan con lo que se encontró en nuestra investigación, debido a que al aplicar las NPsZnO a una dosis de $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de manera foliar se obtuvo un mayor número de frutos en comparación a los testigos y con la vía de aplicación en drench.

La fotosíntesis es un factor clave que influye en la acumulación de peso en los frutos, al respecto Siddiqi et al. (2018) mencionan que la aplicación de NPsZnO puede estimular la fotosíntesis, es decir que aumenta la eficiencia fotosintética y, así, contribuyen a la acumulación de materia seca en los frutos; la disponibilidad de nutrientes esenciales, como el zinc, es crítica para el desarrollo y peso del fruto.

La actividad enzimática relacionada con el crecimiento, como la invertasa y la sintasa de almidón, desempeña un papel esencial en la acumulación de azúcares y carbohidratos en los frutos, en este sentido Sharma et al. (2020) demostraron que la aplicación de nanopartículas puede aumentar la actividad enzimática, mejorando así la calidad y peso de los frutos. Otro factor a considerar es la resistencia al estrés abiótico, como sequías o altas temperaturas, ya que estos factores pueden afectar negativamente el desarrollo de los frutos. Kumar et al. (2021) hacen referencia, a que la aplicación de NPsZnO puede mejorar la resistencia al estrés abiótico, permitiendo que los frutos mantengan un desarrollo adecuado y, en consecuencia, un mayor peso. Esto se asemeja a lo reportado por Rivera-Gutiérrez et al. (2021), quienes mencionan que la aplicación vía foliar de NPsZnO en el cultivo de melón mejoró el peso de frutos en comparación con el tratamiento testigo sin aplicar, encontrando resultados similares a los reportados en la presente investigación, en el sentido de que se presentó un aumento en el peso de los frutos aplicando las nanopartículas de manera foliar.

Por otro lado, Liu et al. (2022) han identificado que la interacción de NPsZnO con genes específicos relacionados con el tamaño de frutos, puede desencadenar cascadas de señalización que influyen en la morfogénesis y el tamaño final de los frutos. Al estimular el crecimiento celular y la elongación de los tejidos vegetales; al respecto, Wang et al. (2018), observaron un aumento significativo en la longitud de frutos y ancho de frutos, atribuido a la activación de procesos celulares que promueven la elongación. El desarrollo radial de los frutos, incluyendo el ancho, está vinculado los a procesos de división celular, al respecto

Zhao et al. (2019) demostraron que las NPsZnO pueden modular la división celular en los meristemos, contribuyendo al desarrollo radial, por ende, al aumento en el ancho y largo de los frutos, esta regulación hormonal desempeña un papel crucial en la expansión tisular, en el tamaño de los frutos; por otro lado, Chen et al. (2023) reportaron que la aplicación foliar de NPsZnO puede influir en la expresión de genes relacionados con hormonas vegetales como las auxinas, que regulan la elongación y expansión celular, tanto de frutos como en diversas partes de las plantas. En este sentido, Hasanuzzaman y Fujita (2022) observaron un incremento en el peso fresco de las plantas debido a un aumento en la síntesis de proteínas, carbohidratos y lípidos en diferentes tejidos vegetales aplicando las nanopartículas de manera foliar, esto ocurre de la misma manera en el peso seco de las plantas. Méndez-Argüello et al. (2016) mencionan que la aplicación foliar de NPsZnO tiene un efecto positivo en el peso seco del cultivo de chile verde ya que el zinc puede contribuir a una mayor acumulación de materia seca, lo que se ve reflejado en un aumento en la eficiencia fotosintética y en la transformación de compuestos orgánicos.

Se ha observado un efecto positivo al utilizar nanopartículas en el cultivo de calabaza, Aguilar-Carpio et al. (2022) demostraron que es posible obtener rendimientos superiores a $21 \text{ ton} \cdot \text{ha}^{-1}$ con la aplicación de extractos naturales de algas con una fertilización química al 50%. Estos rendimientos han sido superados en la presente investigación con la aplicación de NPsZnO a concentración de $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, la cual estimuló rendimientos promedios superiores a las $66 \text{ ton} \cdot \text{ha}^{-1}$ con la aplicación foliar. La dosis o concentración aplicada puede tener un efecto tanto positivo como negativo, en el caso de la concentración a $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, puede llegar a afectar el diámetro, la longitud y el peso de la raíz de los cultivos. En este contexto, Lin y Xing (2007) al aplicar NPsZnO a concentraciones $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ encontraron efectos fitotóxicos en el desarrollo radicular de especies como rábano, colza, lechuga, maíz y pepino, causando una inhibición del crecimiento radicular en semillas tratadas a la concentración citada, mientras que a $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ puede mejorar o reducir la

germinación de semillas, el crecimiento de brotes/raíces, la producción de biomasa y las actividades fisiológicas y bioquímicas, incluso algunas especies de plantas no han mostrado ningún cambio fisiológico, aunque se han observado variaciones significativas en la actividad enzimática antioxidante y la elevada regulación de la proteína de choque térmico. Es bien sabido que las plantas han desarrollado un mecanismo de defensa antioxidante que involucra componentes enzimáticos y no enzimáticos para prevenir daños oxidativos y mejorar la resistencia de estas a la toxicidad inducida por el óxido de metal. No obstante, el mecanismo exacto de defensa de las plantas contra la toxicidad de los nanomateriales no ha sido plenamente explorado, esto obedece a que la absorción y translocación de nanopartículas de óxido metálico en diferentes partes de la planta depende de su biodisponibilidad, concentración, solubilidad y tiempo de exposición (Siddiqi y Husen, 2017).

La aplicación de bioestimulantes a base de *Azotobacter chroococcum* en calabaza aumenta la calidad de los frutos cosechados, en el caso específico de la firmeza del fruto, Soriano-Melgar et al. (2020) al aplicar NPsZnO a una concentración de $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ reportaron un aumento en la firmeza de los frutos de calabaza alcanzado un valor de $5.58 \text{ Kg}\cdot\text{cm}^{-2}$. Por otro lado, Zea et al. (2022) encontraron resultados inconsistentes de conductividad eléctrica de $2.34 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-2}$ a $1.36 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-2}$ en los frutos de calabacita manejadas con cubiertas vivas, estos valores están muy por abajo a los que se encontraron en la presente investigación con la aplicación de las NPsZnO a $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, alcanzando valores de conductividad eléctrica de $6.30 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-2}$, este parámetro es muy importante ya que en gran medida es el responsable del sabor en el fruto.

Otros parámetros importantes de la calidad del fruto son el pH y los SST, en este sentido Derossi et al. (2011) han indicado que los valores de pH de 6.42 y SST 4.8 (°Brix) son adecuados para la cosecha de los frutos de calabaza considerados como en madurez hortícola, en estos valores los frutos poseen características químicas cercanas a la neutralidad y son bajos en dulzura. Estos

valores son similares a los encontrados en la presente investigación, en donde la concentración de $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NPsZnO el pH se ubicó en 6.76, mientras que los SST fue de 4.38 a una concentración de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Por otro lado, la acidez titulable del fruto, de acuerdo con Jacobo-Valenzuela et al. (2011) un valor de 0.04% de ácido cítrico en el fruto de calabaza se considera adecuado, para dicha variable los resultados encontrados en nuestra investigación fueron altamente superiores, ya que al aplicar $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NPsZnO el contenido de acidez titulable se ubicó en 0.18%, este efecto es atribuido a una mayor eficiencia fotosintética promovida por las NPsZnO, ya que el Zn juega un papel muy importante en la actividad de enzimas que participan en la fotosíntesis y en el metabolismo de los carbohidratos, así como en el transporte de azúcares, hacia los puntos de demanda como el fruto (Marschner, 2011).

La aplicación de tratamientos de bioestimulantes a base de *A. chroococcum* + Quitomax $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ durante el desarrollo de las plantas, modifica la calidad y composición de los frutos postcosecha, lo que acentúa la importancia de los tratamientos orgánicos en el desarrollo de las plantas para la obtención de frutos con mejores características organolépticas y aumentando así el contenido de vitamina C a $3.23 \text{ mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ en los frutos de calabaza tratados con este bioestimulante, en la presente investigación la aplicación de NPsZnO a $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ aumento el contenido de vitamina C a $5.50 \text{ mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$, valores superiores a los reportados por Soriano-Melgar et al. (2020).

La aplicación de NPsZnO obtenidas mediante síntesis verde a concentración de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, afecta el contenido de clorofilas *a* y *b*, aplicadas sobre la microalga *Chlorella homosphaera*, mostrando efectos tóxicos (Scodelaro- Bilbao et al., 2023). En la presente investigación la aplicación de nanopartículas de óxido de zinc a dosis de $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ aumento el contenido de clorofila *a*, mientras que el contenido de clorofila *b* y el contenido de clorofila total de las hojas no se observan diferencias estadísticas significativas. Estos valores difieren con lo reportado por Casierra y Poveda (2005), quienes mencionan que al aplicar 350

mg de sulfato de zinc en el cultivo de fresa se puede disminuir el contenido de clorofilas totales en las hojas. Galindo-Guzmán et al. (2022) reportan que la aplicación de nanopartículas de óxido de zinc a una concentración de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, aumenta el contenido de carotenoides en el cultivo de lechuga aplicadas de manera foliar, mientras que en la presente investigación no se observa un aumento en el contenido de carotenoides en las hojas de calabacita al aplicar las nanopartículas de óxido de zinc, mostrando un comportamiento igual en todos los tratamientos.

Guillén-Enríquez et al. (2022) mencionan que la aplicación foliar de NPs Fe a una concentración de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, aumenta el contenido de clorofilas *a*, *b* y total en frutos de pepino en comparación con el tratamiento testigo sin aplicar. Esto se asemeja con la presente investigación, con un aumento en el contenido de clorofila *a* al manejar la concentración de $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, y en el contenido de clorofila *b* y total cuando se aplica una concentración a $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, este comportamiento fue similar en el contenido de carotenoides en los frutos, ya que hubo un aumento de éstos, al aplicar la dosis de nanopartículas de óxido de zinc a $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. El aumento del contenido de carotenoides en los frutos tiene relevancia, ya que aportan grandes propiedades para el beneficio de la salud en las personas, sus usos en la industria farmacéutica, terapéutica y cosmética, ha favorecido su demanda, encontrar fuentes más amigables para el ambiente como el uso de los nanomateriales que incrementan el contenido de carotenoides, es una de las herramientas más prometedoras, siendo esta una alternativa real para la disminución de los colorantes artificiales y mejorar las actividades bioactivas de los alimentos (Cassani et al., 2022).

El aumento de proteínas corresponde al incremento del contenido de clorofilas, con ello se favorece la actividad fotosintéticas, las NPsZnO desempeñan un papel en la transferencia de hierro, potasio y fósforo de las raíces de las plantas, lo que permite mayor disponibilidad de estos elementos, provocando un aumento en el contenido nutricional como carbohidratos, proteínas y lípidos en el cultivo

de brócoli (Awan et al., 2021). Teniendo resultados similares a esta investigación, mostrando que el uso de nanopartículas tiene una influencia positiva en el contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos, tanto en los frutos de calabacita como en el cuerpo de las lombrices.

La determinación de cenizas es referida como el análisis de residuos inorgánicos que quedan después de la quema u oxidación completa de la materia orgánica de un alimento u organismo (Castillo et al., 2018). Este contenido representa los minerales en los tejidos vegetales como potasio, manganeso, hierro, boro, flúor, sílice, magnesio, calcio y zinc, mientras que en los organismos se encuentran presentes los minerales como: zinc, cobre, boro, hierro entre otros (Rodríguez et al., 2010). Estos resultados se asemejan con lo que se encontró en nuestra investigación, debido a que al aplicar las NPsZnO, aumento el contenido de cenizas, tanto en los frutos de calabacita, como en el cuerpo de las lombrices. El uso de nanopartículas metálicas como las NPs de Ag, provocan alteraciones fisiológicas y conductuales a las primeras 24 horas de la aplicación, donde el 30% de las lombrices analizadas en el estudio de Linares et al. (2017), mostró algún tipo de daño, siendo más significativos en las alteraciones de la conducta de las lombrices y la perdida de fluido celómico, pero no se presenta mortandad en las lombrices, al pasar las 96 horas se inicia la pérdida de peso en las lombrices. Estos análisis difieren con lo encontrado en nuestra investigación, esto pudo deberse al periodo de tiempo de duración del experimento (90 días), lo cual nos arrojó que a concentraciones de $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, aplicado en drench promueve el incremento del peso y natalidad de lombrices en comparación con los tratamientos testigos.

CONCLUSIONES

La aplicación de nanopartículas de ZnO a diferente concentración y vía de aplicación promovieron el crecimiento vegetativo y aumento los parámetros de rendimiento de fruto.

El uso de nanopartículas promovió una mayor calidad de frutos y contenido nutricional, esto proporciona un enriquecimiento en los frutos tratados con nanopartículas de óxido de zinc.

La aplicación de nanopartículas de ZnO promovieron incremento en el número y peso de la lombriz, así como del contenido nutricional principalmente el contenido de proteínas, carbohidratos, lípidos y cenizas en las lombrices.

Los resultados obtenidos en la presente investigación indican que el uso de nanopartículas de óxido de zinc más allá de afectar la actividad reproductiva de la lombriz de tierra mejora sus características, sin embargo, se recomienda en estudios posteriores seguir evaluando diferentes concentraciones y diferentes nanopartículas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abedini, M., Shariatmadari, F., Karimi Torshizi, M. A., & Ahmadi, H. (2018). Effects of zinc oxide nanoparticles on the egg quality, immune response, zinc retention, and blood parameters of laying hens in the late phase of production. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(3): 736–745. <https://doi.org/10.1111/JPN.12871>
- Abrica-González, P., & Gómez-Arroyo, S. (2022). Efectos y caracterización de nanopartículas atmosféricas (NP-CuO, ZnO) en plantas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 145–164. <https://doi.org/10.20937/RICA.54303>
- Aguilar-Carpio, C., Cervantes-Adame, Y. F., Sorza-Aguilar, P. J., & Escalante-Estrada, J. A. S. (2022). Growth, yield, and profitability of zucchini (*Cucurbita pepo* L.) fertilized with chemical and biological sources. *Terra Latinoamericana*, 40. <https://doi.org/10.28940/TERRA.V40I0.1059>
- Álvarez, V., Cardozo, A., El Mujtar, V., & Tittone, P. (2018). *El universo escondido bajo nuestros pies: la importancia de conocer y preservar los organismos del suelo*. Agroecología, Ambiente y Sistemas de Producción.
- AOAC. (1968). AOAC 967.21 Vitamina C - AOAC Método Oficial 967.21 Ácido Ascórbico En los preparados - Studocu. <https://www.studocu.com/pe/document/universidad-nacional-pedro-ruiz-gallo/bromatologia/aoac-96721-vitamina-c-aoac-metodo-oficial-96721acido-ascorbicoen-los-preparados-vitaminicos-y-jugos26-dicloroindofenol/29212219>
- AOAC. (2000). AOAC (2000) *Official Methods of Analysis*. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. Methods 925.10, 65.17, 974.24, 992.16. - References - Scientific Research Publishing. <https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=1687699>
- Ávalos-Fúnez, A., Isabel, A., Duaso, H., & Morales-Gómez, P. (2016). Nanotecnología en la industria alimentaria. *Revista Complutense de*

- Ciencias Veterinarias*, 10(2): 1–17.
https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2016.v10.n2.53544
- Awan, S., Shahzadi, K., Javad, S., Tariq, A., Ahmad, A., & Ilyas, S. (2021). A preliminary study of influence of zinc oxide nanoparticles on growth parameters of *Brassica oleracea* var italic. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20(1): 18–24.
<https://doi.org/10.1016/J.JSSAS.2020.10.003>
- Ayala-Garay, A. V., Schwentesius-Rindermann, R. E., & Gómez-Cruz, M. Á. (2016). *Impacto del TLCAN en el sector hortícola de México*. El X Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas, IX Congreso Nacional y II Internacional de Horticultura Ornamental.
- Balandrán-Valladares, M. I., Cruz-Álvarez, O., Jacobo-Cuellar, J. L., Hernández-Rodríguez, O. A., Flores-Córdova, M. A., Parra-Quezada, R. Á., Sánchez-Chávez, E., & Ojeda-Barrios, D. L. (2021). Changes in nutrient concentration and oxidative metabolism in pecan leaflets at different doses of zinc. *Plant, Soil and Environment*, 67(1): 33–39. <https://doi.org/10.17221/525/2020-PSE>
- Basurto-Peña, Castro-Lara, Mera-Ovando, & Juárez-Castro. (2015). Etnobotánica de las calabazas cultivadas (*Cucurbita* spp.) En Valles Centrales de Oaxaca, México. *Agro Productividad*, 8(1). <https://mail.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/639>
- Beatriz-Gómez, M., Ana-Ábalos, R., Sabrina-Lencina, M., Brossard, M., Tulia Aizaga, M., Correa, S., Cristina, A., Muchiutti, G., Meier, G., & Bello, F. (2019). Diseño de platos regionales listos para consumir optimizados en su perfil nutricional. *Eva Perón*, 24, 192.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2): 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Carrillo-González, R., & González-Chávez, M. del C. (2009). La nanotecnología en la agricultura y rehabilitación de suelos contaminados. *Mundo Nano (Artículos)*, 2(2). www.mundonano.unam.mx

- Casierra-Posada, F., & Poveda, J. (2005). La toxicidad por exceso de Mn y Zn disminuye la producción de materia seca, los pigmentos foliares y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp. cv. Camarosa). *Agronomía Colombiana*, 23(2): 283–289. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652005000200013&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Cassani, L., Marcovich, N. E., & Gomez-Zavaglia, A. (2022). Valorization of fruit and vegetables agro-wastes for the sustainable production of carotenoid-based colorants with enhanced bioavailability. *Food Research International*, 152, 110924. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110924>
- Castillo, E., Álvarez, C., & Contreras, Y. (2018). Caracterización fisicoquímica de la cáscara del fruto de un clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) Cosechados en Caucagua estado Miranda. Venezuela. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=376160247008>
- Chae, Y. J., Pham, C. H., Lee, J., Bae, E., Yi, J., & Gu, M. B. (2009). Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 94(4): 320–327. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2009.07.019>
- Chen, F., Li, Y., Zia-ur-Rehman, M., Hussain, S. M., Qayyum, M. F., Rizwan, M., Alharby, H. F., Alabdallah, N. M., Alharbi, B. M., & Ali, S. (2023). Combined effects of zinc oxide nanoparticles and melatonin on wheat growth, chlorophyll contents, cadmium (Cd) and zinc uptake under Cd stress. *Science of The Total Environment*, 864, 161061. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.161061>
- Chichimequillas, C., Marqués, E., Rivas-Ramírez, L. K., & Torres-Pacheco, I. (2021). Nanopartículas: Nuevas aliadas de la agricultura. *Digital Ciencia@UAQRO*, 14(2), 19–27. <https://revistas.uaq.mx/index.php/ciencia/article/view/622>
- Clave, P., Julissa, Y., Luna, S., & Payan, J. V. (2020). Citotoxicidad de nanopartículas de plata biosíntetizadas con extracto acuoso de pronto alivio (*Lippia alba*). *Con-ciencia y técnica*, 4(1): 114–116. <https://revistas.sena.edu.co/index.php/conciencia/article/view/4592>

- Conti, V., Parrotta, L., Romi, M., Duca, S. Del, & Cai, G. (2023). *Tomato Biodiversity and Drought Tolerance: A Multilevel Review*. <https://doi.org/10.3390/ijms241210044>
- Crespo, G. (2013). Funciones de los organismos del suelo en el ecosistema de pastizal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 47.
- de la Cruz, O., Yineth, M., Huertas, P., Bolívar Rodríguez, R., Cardona, A., Yuseth, S., Zarco, M., & Villalobos, A. V. (2021). Estudio de mercado del uso del fertilizante humus de lombriz roja californiana en la región caribe. *Investigación y Desarrollo en TIC*, 12: 13–30.
- Derossi, A., De Pilli, T., Giuliani, R., Orlando, I., Palmieri, L., & Severini, C. (2011). Study on prestabilization of pumpkin (*Cucurbita moschata*) by osmotic dehydration in quaternary complex solution. *Journal of Food Process Engineering*, 34(2): 398–413. <https://doi.org/10.1111/J.1745-4530.2009.00364.X>
- Dimkpa, C. O., Zeng, J., McLean, J. E., Britt, D. W., Zhan, J., & Anderson, A. J. (2012). Production of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in the plant-beneficial bacterium *Pseudomonas chlororaphis* O6 is inhibited by ZnO nanoparticles but enhanced by CuO nanoparticles. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(5): 1404–1410. <https://doi.org/10.1128/AEM.07424-11>
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. https://doi.org/10.1021/AC60111A017/ASSET/AC60111A017.FP.PNG_V03
- Echeverría, F. (2013). *Retos de este siglo: nanotecnología y salud*. Revista Cubana, Inmunología y Hemoterapia.
- Elmer-Wade, M., C., & White, J. (2018). Nanoparticles for plant disease management. En *Current Opinion in Environmental Science and Health*, 6: 66–70. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.08.002>
- Esparza-González, S. C., Bolaina-Lorenzo, E., Pérez-Trujillo, J J, Puente-Urbina, B A, Rodríguez-Fernández, O, Fonseca-García, A, & Betancourt-Galindo, R.

- (2021). *Antibacterial and anticancer activity of ZnO with different morphologies: a comparative study*. 1, 68. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02611-9>
- Galindo-Guzmán, A. P., Fortis-Hernández, M., De La Rosa-Reta, C. V., Zermeño-González, H., Galindo-Guzmán, M., Galindo-Guzmán, A. P., Fortis-Hernández, M., De La Rosa-Reta, C. V., Zermeño-González, H., & Galindo-Guzmán, M. (2022). Síntesis química de nanopartículas de óxido de zinc y su evaluación en plántulas de *Lactuca sativa*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(SPE28), 299–308. <https://doi.org/10.29312/REMEXCA.V13I28.3284>
- Gleiter, H. (1989). Nanocrystalline materials. *Progress in Materials Science*, 33, 223–315.
- Tapia G., C. A., De la Rosa, G., M., García C., M. C., & Andrade M., D. F. (2016). Efecto de nanomateriales metálicos en la salud de plantas en diferentes estadios de crecimiento. *Jóvenes en la ciencia*, 2(1): 1556–1560. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/articloe/view/1345>
- Guillén-Enríquez, R. R., Zuñiga-Estrada, L., Ojeda-Barrios, D. L., Rivas-García, T., Trejo-Valencia, R., Preciado-Rangel, P., Guillén-Enríquez, R. R., Zuñiga-Estrada, L., Ojeda-Barrios, D. L., Rivas-García, T., Trejo-Valencia, R., & Preciado-Rangel, P. (2022). Efecto de la nanobiofortificación con hierro en el rendimiento y compuestos bioactivos en pepino. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(SPE28): 173–184. <https://doi.org/10.29312/REMEXCA.V13I28.3272>
- Gupta, N., Kumar Jain, S., Singh Tomar, B., Anand, A., Singh, J., Sagar, V., Kumar, R., Singh, V., Chaubey, T., Abd-Elsalam, K. A., & Singh, A. K. (2022). *Impact of Foliar Application of ZnO and Fe₃O₄ Nanoparticles on Seed Yield and Physio-Biochemical Parameters of Cucumber (Cucumis sativus L.) Seed under Open Field and Protected Environment vis a vis during Seed Germination*. <https://doi.org/10.3390/plants11233211>

- Gutiérrez-Praena, D., Jos-Gallego, Á. M., Pichardo-Sánchez, S., Puerto-Rodríguez, M., Sánchez-Granados, E., Grilo-Reina, A., & Cameán Fernández, A. M. (2016). Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud. *Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal*, 19–28.
- Hasanuzzaman, M., & Fujita, M. (2022). *Plant Oxidative Stress: Biology, Physiology and Mitigation*. <https://doi.org/10.3390/plants11091185>
- Hermitaño, J. Z. M., Rojas, T. L. A., Quichca, E. M. E., Blacido, D. J. M., Castillo, M. J. M., & Taipe, K. D. S. (2023). Importancia de la aplicación del vermicompost en suelo degradado por sobrecultivo de Jengibre (*Zingiber officinale*), Chanchamayo (Perú). *Yotantsipanko*, 3(1): 49–60. <https://doi.org/10.54288/YOTANTSIPANKO.V3I1.29>
- Jacobo-Valenzuela, N., Maróstica-Junior, M. R., Zazueta-Morales, J. de J., & Gallegos-Infante, J. A. (2011). Physicochemical, technological properties, and health-benefits of *Cucurbita moschata* Duchense vs. Cehualca: A Review. *Food Research International*, 44(9), 2587–2593. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.04.039>
- Knoll, W., & Fritzsche, W. (2005). Nanoparticles for biotechnology applications. *IEE Proceedings Nanobiotechnology*, 152(1): 1. <https://doi.org/10.1049/ip-nbt:20049003>
- Kumar, M., Negi, K., Umar, A., & Chauhan, M. S. (2021). Photocatalytic and fluorescent chemical sensing applications of La-doped ZnO nanoparticles. *Chemical Papers*, 75(4): 1555–1566. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01388-8>
- Lechuga, L. (2011). *Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud*. *Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and Carotenoids Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. In Wrolstad, R.E., Acree, T.E., An, H., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F. and Sporns, P., Eds., Current Protocols in Food Analytical Chemistry, John Wiley and Sons, New York, F4.3.1-F4.3.8. - References - Scientific Research Publishing. (s/f). Recuperado el 2 de mayo*

- de 2024, de
<https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=1698995>
- Linares, Y. D., Castro, O. B., Peláez Rodríguez, R., Díaz García, A., Loaces, E. L., & Fraga Álvarez, R. (2017). Ecotoxicity of metallic and superparamagnetic iron oxide nanoparticles in two species. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 46(2), 102–112. <http://scielo.sld.cu><http://scielo.sld.cu>
- Lin, D., & Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150(2): 243–250. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2007.01.016>
- Lira-Saldivar, R. H., Argüello, B. M., Villarreal, G. D. los S., & Reyes, I. V. (2018). Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*, 28(2): 9-24. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1575>
- Liu, L., Nian, H., & Lian, T. (2022). Plants and rhizospheric environment: Affected by zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs). A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 185, 91–100. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2022.05.032>
- Lorenzo-Hernández, R., Torres-Salado, N., Sánchez-Santillán, P., Herrera-Pérez, J., Mayrén-Mendoza, F. de J., Salinas-Ríos, T., Rojas-García, A. R., & Maldonado-Peralta, M. de los Á. (2019). Evaluation of the quality and bromatological characteristics of ensilages made with pumpkin residues (*Cucurbita argyrosperma*). *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 35(4): 957–963. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.04.14>
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). *Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent*. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Magdaleno-García, G., Juárez-Maldonado, A., Betancourt-Galindo, R., González-Morales, S., Cabrera-De La Fuente, M., Sánchez-Vega, M., & Méndez, a. (2023). Zinc oxide nanoparticle morphology modify germination and early growth of bell pepper seedlings: Zinc oxide nanoparticle morphology. *Biotechnia*, 25(3): 5–15. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v25i3.1908>

- Malacara-Herrera, I. del R., Ochoa-Fuentes, Y. M., Cerna-Chávez, E., Velázquez-Guerrero, J. J., Orozco-Plancarte, A., Hernández-Juárez, A., & Aguirre-Uribe, L. A. (2023). Manejo *in vitro* de *Fusarium acuminatum* con extractos vegetales adicionados con nanopartículas de óxido de silicio y zinc. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 88. <https://doi.org/10.33064/IYCUIAA2023883638>
- Fortis-Hernández, M., Pivaral-Chávez, A. G., Galindo-Guzmán, A. P., Preciado-Rangel, P., Ruiz-Ortega, F. J. & Trejo-Valencia, R. (2024). Nanopartículas de óxido de zinc para incrementar rendimiento, compuestos bioactivos y actividad enzimática en lechuga. *Ecosistema y Recursos Agropecuarios*.
- Marschner, P. (2011). *Mineral Nutrition of Higher Plants Third Edition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.X0001-5>
- Martínez-Aguilar, Y., Orlando, I., Yero, M., Jesús, I., López, C., Manuel, I. I., Navarro, V., Estarrón, M., & Iv, E. (2011). Fitoesteroles y escualeno como hipocolesterolémicos en cinco variedades de semillas de *Cucurbita maxima* y *Cucurbita moschata* (calabaza). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(1): 72–81. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L. A., Puente-Urbina, B. A., & Lira-Saldívar, R. H. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annuum* por nanopartículas de óxido de zinc http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200707052016000200140&lng=es&nrm=iso. ISSN 2007-0705.
- Mendoza, M., Rodríguez-López, G., & Luis, J. (2007). La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=11502906>
- Narendhran, S., & Sivaraj, R. (2016). Biogenic ZnO nanoparticles synthesized using *L. aculeata* leaf extract and their antifungal activity against plant fungal pathogens. En *Bulletin of Materiales Science* (Vol. 39, Número 1).

- Palencia, S. L., Combatt, E. M., Palencia, M. S., & De Revisión, A. (2013). Toxicidad de nanopartículas inorgánicas sobre los microorganismos del suelo con importancia agrícola. Una revisión. *Temas agrarios*, ISSN-e 0122-7610, 18(2): 106–122. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5002409&info=resumen&idioma=SPA>
- Prasad, T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R., Sreeprasad, T. S., Sajanlal, P. R., & Pradeep, T. (2012). Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut [Article]. *Journal of Plant Nutrition*, 35(6): 905–927. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.663443>
- Quispe-Limaylla, A. (2015). El valor potencial de los residuos sólidos orgánicos, rurales y urbanos para la sostenibilidad de la agricultura. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(1): 83–95. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Quispe, R. (2010). Nanotecnología en la agricultura. *Revista de información tecnología y sociedad nanotecnología*, 72–73. http://www.alimentariaonline.com/desplegar_nota.asp?did=
- Rico-Herrera, M. I., Concha-Guerrero, S. I., Orrantia, E., Luna-Velazco, A., & Souza-Brito, E. M. (2012). Toxicidad de nanopartículas de zinc en aislados de suelos agrícolas. *Toxicidad de nanopartículas de zinc en aislados de suelos agrícolas*. http://www.cagc.ugto.mx/gestiona/const_CapLivro/2016_SIBA_MauPort.pdf
- Ríos-Yolmar, S. (2005). *Importancia de las lombrices en la agricultura*. Sistemas integrados de producción con no rumiantes.
- Rivera-Gutiérrez, R. G., Preciado-Rangel, P., Fortis-Hernández, M. Betancourt-Galindo, R., Yescas-Coronado, P., & Orozco-Vidal, J. A. (2021). *Nanopartículas de óxido de zinc y su efecto en el rendimiento y calidad de melón* *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. <https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/view/2987>

- Rivera-Solís, L. L., Benavides-Mendoza, A., Robledo-Olivo, A., & González-Morales, S. (2023). La salud del suelo y el uso de bioestimulantes. *Revista Agraria*, 20(3): 5–10. <https://doi.org/10.59741/AGRARIA.V20I3.46>
- Rizwan, M., Ali, S., Zia ur Rehman, M., Adrees, M., Arshad, M., Qayyum, M. F., Ali, L., Hussain, A., Chatha, S. A. S., & 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>
- Robledo-Torres, V., Foroughbakhch-Pournabav, R., Benavides-Mendoza, A. a, & Ramírez-Godina, F. (2010). *Importancia Alimenticia de las Hortalizas en Nuevo León*. De la lechuguilla a las biopelículas vegetales.
- Rodríguez H., N., Valderrama N., A., Alarcón C., H., & López M., A. (2010). Preparación de partículas de quitosano reticuladas con tripolifosfato y modificadas con polietilenglicol. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 76(4), 336–354. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2010000400005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Ruiz-Torres, N. A., García-López, J. I., Lira-Saldivar, R. H., Vera-Reyes, I., & Méndez-Arguello, B. (2016). *Efecto de Nanopartículas Metálicas y Derivadas del Carbón en la Fisiología de Semillas*.
- Sajid, M. B., Sarker, K. K., Monshi, F. I., Sultana, S., Monika, M. A., & Bhuiyan, M. S. U. (2022). Assessing the genetic diversity of squash (*Cucurbita pepo* L.) genotypes based on agro-morphological traits and genetic analysis. *Journal of Horticultural Sciences*, 17(1): 51–62. <https://doi.org/10.24154/JHS.V17I1.1245>
- Scodelaro-Bilbao, P. G., Pérez-Adassus, M. B., Spetter, C. V., & Lassalle, V. L. (2023). Evaluación del efecto de nanopar-tículas de óxido de zinc sintetiza-das por vía verde sobre chlorellahomosphaera: una alternativa paramitigar el impacto ambiental. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 58, 204–205.

- Sharma, A., Bachheti, A., Sharma, P., Bachheti, R. K., & Husen, A. (2020). Phytochemistry, pharmacological activities, nanoparticle fabrication, commercial products and waste utilization of *Carica papaya* L.: A comprehensive review. *Current Research in Biotechnology*, 2, 145–160. <https://doi.org/10.1016/J.CRBIOT.2020.11.001>
- SIAP. (2018). *Calabacitas tiernas... para el tradicional platillo a la mexicana*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://www.gob.mx/siap/articulos/calabacitas-tiernas-para-el-tradicional-platillo-a-la-mexicana?idiom=es>
- SIAP. (2024). *Calabacita: hortaliza versátil con la que se pueden elaborar diversos platillos*. Servicio de Información Agroalimentaria y <https://www.gob.mx/siap/articulos/calabacita-hortaliza-versatil-con-la-que-se-pueden-elaborar-diversos-platillos?idiom=es>
- Siddiqi, K. S., & Husen, A. (2017). Plant Response to Engineered Metal Oxide Nanoparticles. En *Nanoscale Research Letters* (Vol. 12, Número 1). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-1861-y>
- Siddiqi, K. S., Rahman, A., Tajuddin, & Husen, A. (2018). Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes. En *Nanoscale Research Letters* (Vol. 13). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2532-3>
- Singh, A., Singh Sengar, R., Rajput, V. D., Minkina, T., & Singh, R. K. (2022). Zinc oxide nanoparticles improve salt tolerance in rice seedlings by improving *Physiological and Biochemical Indices*. <https://doi.org/10.3390/agriculture12071014>
- SIOVM. (2006). *Cucurbita pepo* información taxonómica. *Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM) Proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad*. CONABIO, 1–12.
- Slusarz, G. M. (2022). *Há interferência das aplicações de micronutriente e bioestimulantes para as sementes da soja?* <http://tede2.uepg.br/jspui/handle/prefix/3739>

- Soriano-Melgar, L. de A. A., Izquierdo-Oviedo, H., Saucedo-Espinosa, Y. A., & Cárdenas-Flores, A. (2020). Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la calidad y capacidad antioxidante de frutos de calabacita (*Cucurbita pepo* L. var. 'Grey Zucchini'). *Revista terra latinoamericana*, 38(1): 17. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.516>
- Ucan-Tucuch, O., Betancourt-Galindo, R., Juárez-Maldonado, A., Sánchez-Vega, M., Sandoval-Rangel, A., & Méndez-López, A. (2023). Efecto de maltodextrina y nanopartículas de óxido de zinc sobre biomasa y rendimiento en pepino. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 10(NEIII). <https://doi.org/10.19136/ERA.A10NNEIII.3699>
- Urquilla, A. (2019). Impacto de la nanotecnología como revolución industrial a nivel mundial. *Realidad y Reflexión*, 49(49): 66–78. <https://doi.org/10.5377/RYR.V49I49.8063>
- Vázquez-Núñez, E. (2023). Uso de nanomateriales en la agricultura y sus implicaciones ecológicas y ambientales. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 16(30), 1e–25e. <https://doi.org/10.22201/CEIICH.24485691E.2023.30.69704>
- Zea, P., Pierre, L., Lucero, G., Larriva, W., & Chica, E. J. (2022). Desarrollo y rendimiento de calabacín y lechuga cultivados sobre acolchados vivos en Cuenca, Ecuador. <https://doi.org/10.29166/siembra.v7i1>
- Zhao, J., Liu, S., Liu, N., Zhang, H., Zhou, Q., & Ge, F. (2019). Accelerated productions and physicochemical characterizations of different extracellular polymeric substances from *Chlorella vulgaris* with nano-ZnO. *Science of The Total Environment*, 658, 582–589. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.12.019>