



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN**

---

---

**Expresión fenotípica de semillas de frijol  
tratadas con nanopartículas de óxido de zinc**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERA AGRÍCOLA**

**P R E S E N T A:**

**ZAIRA CITLALI LÓPEZ PATRICIO**

**ASESOR: Dr. GUSTAVO MERCADO MANCERA**

**COASESORA: Dra. ALMA GUADALUPE VÁZQUEZ DURÁN**

**CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2023**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDEERRAMA BRAVO  
Jefa del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis.**

**Expresión fenotípica de semillas de frijol tratadas con nanopartículas de óxido de zinc**

Que presenta la pasante: **Zaira Citlali López Patricio.**

Con número de cuenta: **418068083** para obtener el título de: **Ingeniera Agrícola**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 29 de mayo de 2023.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	M. en C. Vicente Silva Carrillo	
<b>VOCAL</b>	Dr. Gustavo Mercado Mancera	
<b>SECRETARIO</b>	Dr. Jesús Abraham Méndez Albores	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. Nancy Berenice Martínez Valles	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Ing. Jonathan Alfredo Fernández Mendiola	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

MCVB/ntm\*

## *AGRADECIMIENTOS*

*A mis padres, por todo el apoyo brindado hasta este momento, y en especial a mi madre por siempre creer en mí, por consolarme y motivarme cuando sentía que ya no podía.*

*A mi alma mater, por la formación académica, profesional y personal que recibí a treves de mi trayectoria universitaria*

*A la carrera de Ingeniería agrícola por sembrar en mí semillas de conciencia.*

*A la Dra. Alma Vázquez Durán y al Dr. Abraham Méndez Albores por su compromiso, guía y apoyo en todas las etapas de la elaboración de este trabajo.*

*Al Dr. Gustavo Mercado Mancera, por su tiempo, orientación, dedicación, paciencia y apoyo constante durante todo este tiempo. Le agradezco por todo lo que ha hecho por mí. Aprecio enormemente las enseñanzas transmitidas y la confianza depositada en mí para la elaboración de este trabajo.*

*Al Team “BDLS”, por todo su apoyo brindado, por las risas y por hacer que crea siempre en mí, en especial a Irving y Adri por no dejarme sola durante todo este proceso.*

*Al Jurado revisor, por sus comentarios para mejorar este documento.*

*Al Proyecto PAPIME PE208722 por el apoyo brindado para el desarrollo y culminación de este trabajo.*

## *DEDICATORIA*

*A mis padres, por su apoyo y motivación constante y por enseñarme que el esfuerzo y el trabajo duro siempre valen la pena.*

*A mi hermano mayor, por hablarme de tan maravillosa carrera y motivarme a estudiarla, por todos sus consejos, conocimientos y experiencias.*

*A mis amigos (BDLS), por su amistad, por ser mi red de apoyo, por sus risas y distracciones necesarias en este proceso y durante toda la carrera.*

*A Mari y Araceli quienes en su momento me consolaron y me dieron palabras de aliento, siempre confiaron en mí y me mostraron su apoyo incondicional.*

*A mis sobrinos: Karla, León, Zaid y Bebé. No sabía lo profundo que se puede llegar amar a alguien hasta que los conocí.*

## CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	<i>i</i>
ÍNDICE DE TABLAS	<i>ii</i>
RESUMEN	<i>iii</i>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1 Objetivo general	2
1.1.1. Objetivos particulares	2
1.2. Hipótesis	2
<b>II. ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
2.1. Importancia económica del cultivo de frijol	3
2.1.1. Superficie y rendimiento del cultivo en México	4
2.2. Fenología del frijol	6
2.2.1. Fases y etapas fenológicas	6
2.2.2. Componentes del rendimiento	8
2.3. Nanotecnología	9
2.3.1. Nanoestructuras y nanopartículas	10
2.3.2. Aplicación de las nanopartículas en la agricultura	10
2.3.3. Efecto de las nanopartículas de óxido de zinc dopado con cobre en la germinación de semillas	12
2.4. Descripción del área de estudio	15
2.4.1. Localización geográfica	15
2.4.2. Características agroclimáticas	16
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>17</b>
3.1. Metodología	17
3.1.1. Síntesis y caracterización de las nanopartículas de ZnO dopadas con cobre y acondicionamiento de las semillas de frijol con el material nanoestructurado	17
3.1.2. Trabajo de campo	18
3.1.3. Pruebas de laboratorio a las semillas cosechadas	19
3.2. Análisis estadístico	20
3.3. Materiales	20

	Página
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>22</b>
4.1. Caracterización de nanopartículas ZnO-Cu	22
4.2. Condiciones climáticas	24
4.3. Fenología del cultivo	26
4.4. Componentes del rendimiento	29
4.5. Grupos funcionales	30
4.6. Prueba de germinación y parámetros de vigor	32
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>34</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES</b>	<b>35</b>
<b>VII. LITERATURA CITADA</b>	<b>36</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>43</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
<b>Figura 1.</b>	Producción de frijol en México del año 2010 al 2021 (SIAP, 2021b).	5
<b>Figura 2.</b>	Etapas de desarrollo de una planta de frijol hábito II (Fernández <i>et al.</i> , 1986).	7
<b>Figura 3.</b>	Localización geográfica del Municipio de Cuautitlán Izcalli. México (INEGI, 2018).	15
<b>Figura 4.</b>	Parcela 14 del Centro de Enseñanza Agropecuaria, FES-C, UNAM (Google Earth, 2023).	16
<b>Figura 5.</b>	Espectro de absorción UV-Vis de las nanopartículas de ZnO-Cu sintetizadas	22
<b>Figura 6.</b>	Espectro de infrarrojo de las nanopartículas de ZnO-Cu sintetizadas.	23
<b>Figura 7.</b>	Imagen de microscopia electrónica de transmisión de las nanopartículas de ZnO-Cu sintetizadas	24
<b>Figura 8.</b>	Temperatura ambiental diaria (°C). Ciclo P-V 2022. Estación meteorológica Almaraz.	25
<b>Figura 9.</b>	Precipitación y evaporación diaria (mm). Ciclo P-V 2022. Estación meteorológica Almaraz.	26
<b>Figura 10.</b>	Altura promedio de las plantas de frijol (cm) de los tratamientos evaluados, ciclo P-V 2022. Cuautitlán Izcalli, México.	27
<b>Figura 11.</b>	Espectro FTIR de la semilla de frijol. A) Cotiledones B) Testa.	31

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>Tabla 1.</b> Producción de frijol bajo condiciones de temporal año agrícola 2021 (SIAP, 2022).	6
<b>Tabla 2.</b> Etapas fenológicas del frijol común (Fernández <i>et al.</i> , 1986).	8
<b>Tabla 3.</b> Datos fenológicos del cultivo de frijol, ciclo P-V 2022. Cuautitlán Izcalli, Méx.	28
<b>Tabla 4.</b> Componentes del rendimiento del cultivo de frijol, en función del tratamiento aplicado. Ciclo P-V 2022, Cuautitlán Izcalli, Méx.	29
<b>Tabla 5.</b> Asignaciones de las principales vibraciones presentes en los espectros FTIR-ATR de las semillas de frijol.	32
<b>Tabla 6.</b> Parámetros de la germinación y vigor en semillas de frijol vaquita negro (F2).	33

## RESUMEN

El frijol es importante en la dieta de los mexicanos, se cultiva en todas las regiones agroclimáticas de México, principalmente bajo condiciones de temporal lo que ha traído una variación importante en la producción a través de los años. Con los avances científicos la nanotecnología surge como una alternativa para el mejoramiento de los cultivos agrícolas y el cuidado del ambiente, por lo que este trabajo tuvo como objetivo evaluar la expresión fenotípica y el efecto de la aplicación de nanopartículas de óxido de Zinc (NPs de ZnO) dopadas con Cobre en semillas de frijol vaquita negro, en el ciclo P-V 2022 en Cuautitlán Izcalli, México. Las variables evaluadas fueron de carácter climático (temperatura y precipitación), fenológico (fases y duración de las etapas fenológicas y la altura de la planta), componentes del rendimiento (número de vainas por planta, número de semillas por vaina, peso de 100 semillas, peso hectolítrico, y rendimiento) y por último la caracterización de las semillas F2 (grupos funcionales, % de germinación y vigor de las plántulas). El arreglo experimental fue completamente al azar con tres repeticiones. Los resultados no reportaron diferencia estadística significativa en los componentes de rendimiento así mismo las NPs no influyeron en la formación de grupos funcionales. Sin embargo, la aplicación de las NPs a  $200 \text{ mg L}^{-1}$  de ZnO-Cu mejoró la germinación de la F2 y algunos parámetros como la longitud de tallo, longitud de raíces y un mayor número de raíces, el cual presentó diferencia estadística significativa con el tratamiento de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de ZnO-Cu. Se concluye que el método utilizado y las características meteorológicas presentes durante el ciclo del cultivo en campo influyeron en los resultados obtenidos.

## I. INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es uno de los cultivos más importantes en México, por la superficie sembrada y la producción obtenida; se cultiva en todas las regiones agrícolas del país y es parte esencial en la dieta del mexicano (CEDRSSA, 2019). Sin embargo, a través de los años la producción ha tenido variaciones importantes, debido a condiciones climáticas adversas que afectan el cultivo, donde la sequía representa el mayor de los problemas, principalmente para los sistemas de producción en condiciones de temporal.

La innovación y la expansión para producir la cantidad y la calidad de los alimentos necesarios para alimentar a la población mundial en rápido crecimiento es un desafío. En la industria agrícola y alimentaria, el uso de la nanotecnología es una de las áreas de investigación en nanociencia en crecimiento (Lira *et al.*, 2018). La nanotecnología se define como el diseño, producción, procesamiento y la aplicación de estructuras pequeñas (nanoestructuras) o pequeños materiales (NMs) con dimensiones que van de 1 a los 100 nanómetros (nm) (Benelmekki, 2019). Las nanopartículas (NPs) son nanoestructuras, en este rango de tamaño, las propiedades físicas y/o químicas de las nanopartículas cambian radicalmente. Las NPs pueden ser compuestas por materiales de diversa naturaleza química, donde los más comunes son los metales, los óxidos metálicos, silicatos, cerámicas sin óxido, polímeros, compuestos orgánicos, carbono y biomoléculas (Nagaranjan y Hatton, 2008).

Dentro de las nanopartículas (NPs) estudiadas para su aplicación en la agricultura se encuentran las metálicas, las poliméricas, los nanoencapsulados y las de óxidos metálicos. Las nanopartículas de óxidos metálicos, particularmente las de óxido de zinc (ZnO) han sido evaluadas como nanofertilizantes, debido a que el Zn es un elemento esencial en varios procesos bioquímicos de las plantas tales como: la síntesis de citocromos y nucleótidos, el metabolismo de las auxinas, la producción de clorofila, la activación de las enzimas y la integridad de la membrana (Adhikari *et al.*, 2016); también desempeñan una función importante en la germinación de semillas, en la producción de polen y de biomasa (Kaya y Higgs, 2002). Por otro lado, las NPs de origen metálico como el cobre han sido estudiadas por su actividad antimicrobiana para el control de enfermedades en los cultivos. Además, se ha reportado que el cobre actúa como un elemento estructural en las proteínas reguladoras, asimismo, participa en los procesos bioquímicos tales como la fotosíntesis,

respiración mitocondrial, respuesta al estrés oxidativo, el metabolismo de la pared celular y la señalización hormonal además es un cofactor en muchas enzimas. Por lo tanto, el cobre es un micronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo normal de las plantas (Yruela, 2005). Se ha reportado la aplicación de NPs de ZnO en semillas de diversos cultivos en donde se obtiene una mejor germinación, vigor de las plántulas, así como una mejora en el rendimiento, resultados similares han sido reportados en el uso de NPs de Cu las cuales además mostraron una actividad antifúngica y nematicida en una amplia gama de hongos y nematodos (Tryfon *et al.*, 2022).

Debido a las características que han presentado tanto las NPs de ZnO y las de Cu en la germinación de semillas y desarrollo de plantas, se decidió conjuntar dichos elementos y potencializar sus propiedades a través del dopaje, para lo cual se plantearon los siguientes objetivos.

### 1.1. Objetivo general

- Evaluar la expresión fenotípica de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) tratadas con nanopartículas de óxido de zinc dopadas con cobre.

#### 1.1.1. Objetivos particulares

- Aplicar nanopartículas de óxido de zinc dopadas con cobre en dos concentraciones a semillas de frijol variedad vaquita negro.
- Analizar el efecto de la aplicación de las nanopartículas de óxido de zinc dopadas con cobre en los componentes del rendimiento del cultivo de frijol.
- Evaluar la expresión fenotípica del cultivo de frijol con la aplicación de nanopartículas, en condiciones de temporal, en Cuautitlán Izcalli, Méx.

### 1.2. Hipótesis

- La aplicación de nanopartículas de óxido de zinc dopadas con cobre tendrá una diferencia significativa en la expresión fenotípica y en el rendimiento del cultivo de frijol.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. Importancia económica del cultivo de frijol

De las leguminosas que poseen semillas comestibles, el frijol corresponde a una de las más importantes. En la actualidad, esta se encuentra distribuida en los cinco continentes y es un componente esencial de la dieta de los humanos, especialmente en Centroamérica y Sudamérica. México se ha reconocido como el Centro primario de diversificación de esta especie, asimismo el frijol es considerado uno de los cultivos más antiguos en el país. Algunos de los hallazgos arqueológicos en México y Sudamérica indican que se conocía desde hace 5,000 a.C. (Ulloa *et al.*, 2011).

El frijol forma parte importante en la dieta de los mexicanos desde antes de la conquista, ocupa el segundo lugar en importancia nacional después del maíz por su alto contenido de proteína y constituye una fuente de hidratos de carbono natural. Además, contiene niveles altos de vitamina B, proporciona hierro, cobre zinc, fósforo potasio, magnesio y calcio (Sangerman *et al.*, 2010). También es buena fuente de fibra cuyo valor va de los 14-19g/100g de alimento crudo, del cual hasta la mitad puede ser de la forma soluble. Los principales componentes químicos de la fibra del frijol son las pectinas, los pentosanos, la hemicelulosa, la celulosa y la lignina (Ulloa *et al.*, 2011).

Por lo anterior, el frijol representa una tradición productiva y de consumo considerado un producto estratégico en el desarrollo rural y social del país, al ser no solo un alimento tradicional, sino también un representante de la cultura (SE, 2012). Es uno de los cultivos que más común se encuentra en los sistemas productivos de la milpa, conceptualizada como un sistema agrícola con maíz y otras especies que son cosechadas o toleradas en el temporal (Ramírez, *et al.*, 2020). El cultivo tiene un amplio rango de adaptación, su producción se realiza prácticamente en todos los climas y suelos presentes en todas las regiones agrícolas del país, siendo su única limitante la disponibilidad de agua (SE, 2012).

Existen 70 variedades de frijol, de las cuales 50 se cultivan en México; destacan cinco especies que se han domesticado: *Phaseolus vulgaris* L. (frijol común), *Phaseolus coccineus* L. (frijol ayocote), *Phaseolus lunatus* L. (frijol comba), *Phaseolus dumosus* (frijol gordo) y *Phaseolus acutifolius* Gray (frijol tepari) (Sangerman *et al.*, 2010).

Las variedades del frijol se pueden clasificar por: el consumo: como grano seco, grano y vaina verde; o desde el punto de vista agronómico: precoces o tardíos y por su color en; negros, amarillos, blancos, morados, bayos, pintos y moteados (Lara, 2015).

Durante los últimos 30 años el consumo de frijol en México ha disminuido gradualmente, para el año 1994 se reportó un consumo per cápita de 15 kg, para el año 2005 fue de 11.8 kg (Sangerman *et al.*, 2010) y para el 2021 fue de 9 kg (SIAP, 2021).

El SIAP reportó que para el año 2017 se satisfizo el 89.23% de los requerimientos nacionales con la producción interna, mientras que las importaciones provenían principalmente de Estados Unidos, Canadá y China. La producción de frijol en México se destina principalmente al consumo y al autoconsumo, así como a la siembra, y exportación.

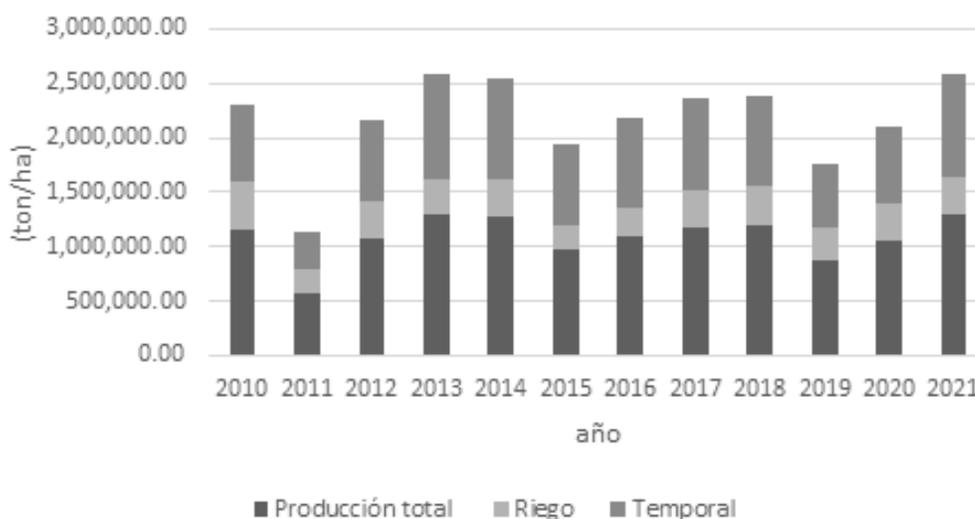
#### 2.1.1. Superficie y rendimiento del cultivo en México

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en el 2020, México fue el séptimo productor mundial de frijol aportando 1.06 millones de toneladas, es decir el 3.83% de la producción mundial.

Considerando la importancia que tiene el frijol en México por la superficie que ocupa y el número de productores involucrados, en el año 2021 se cultivó en 31 entidades y 527 municipios del país (FIRA, 2022). El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2022) reportó que en el año agrícola 2020 la producción nacional fue de 1.05 millones de toneladas, y para el año agrícola 2021 la producción fue de 1.28 millones de toneladas que representa un incremento del 22% en la producción; sin embargo, la producción nacional ha reportado variaciones muy importantes (Figura 1) a través de los años, que se relacionan con el efecto de las condiciones climáticas adversas que afectan al cultivo, principalmente la sequía, debido a que se desarrolla mayormente bajo condiciones de temporal (FIRA, 2012).

En México, el frijol se produce en dos épocas del año: primavera-verano y otoño-invierno. En otoño-invierno se siembra menos superficie, pero se obtiene un mayor rendimiento unitario. El frijol se cultiva principalmente con el fin de cosechar semilla seca, y como vaina en fresco en menor porción. Además, el cultivo es una fuente importante de ingresos y demanda proporcional de mano

de obra, así como una garantía de seguridad alimentaria a través del autoconsumo (Sangerman *et al.*, 2010).



**Figura 1. Producción de frijol en México del año 2010 al 2021 (SIAP, 2021).**

De la producción total del año agrícola 2021 el 72.25% corresponde a producción bajo condiciones de temporal y si bien el cultivo se realiza en la mayor parte del país, ésta se encuentra concentrada de manera importante en los estados de Zacatecas, Durango, Chihuahua y Chiapas; estos estados lideran la producción aportando más de la mitad de la producción. La producción restante corresponde a la condición de riego (27.75%) en donde los estados que lideran son Sinaloa, Zacatecas, Nayarit y Chihuahua. La mayor superficie sembrada de frijol en México es bajo condiciones de temporal en la época de primavera-verano donde en total se sembraron 1.5 millones de hectáreas de las cuales los estados con más superficie sembrada fueron Zacatecas con 643.4 mil (43.5%), Durango con 213.5 mil (14.4%) y en tercer lugar a San Luis Potosí con 131.9 mil (8.9%) (Tabla 1). El rendimiento promedio de producción de frijol bajo condiciones de temporal es de 0.64 ton ha<sup>-1</sup>, mientras bajo condiciones de riego es de 1.75 ton ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2022).

**Tabla 1. Producción de frijol bajo condiciones de temporal año agrícola 2021 (SIAP, 2022).**

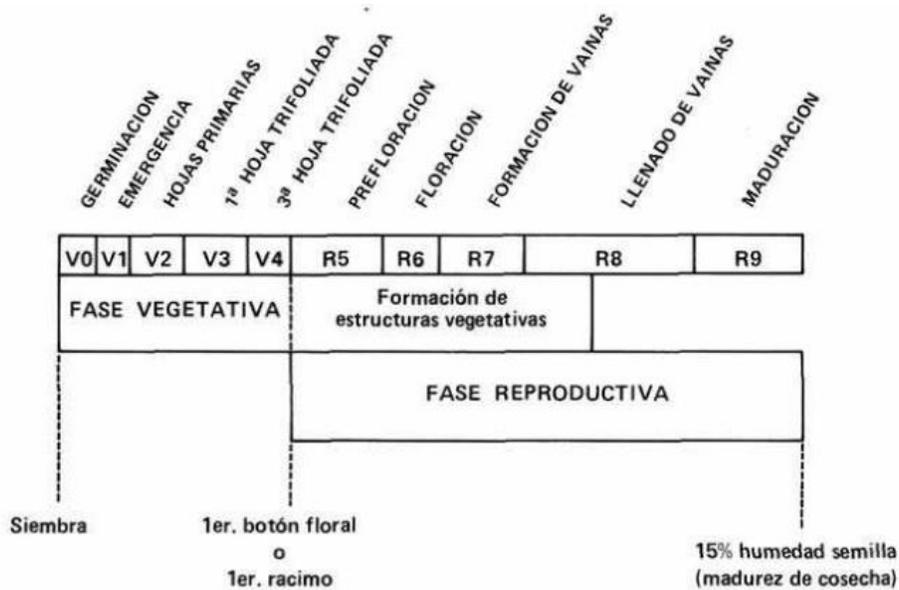
Posición	Entidad	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (ton)	Rendimiento (ton ha <sup>-1</sup> )	PMR (\$ ton <sup>-1</sup> )	Valor de la producción (miles de pesos)
1	Zacatecas	646,383.70	644,843.70	397,981.69	0.62	13,009.06	5,177,368.66
2	Durango	213,538.02	213,458.02	120,936.37	0.57	15,936.88	1,927,348.36
3	Chihuahua	94,352.00	94,322.00	75,364.21	0.8	16,190.06	1,220,151.27
4	Chiapas	114,670.20	114,670.20	67,572.49	0.59	13,856.67	936,329.70
5	Nayarit	49,818.25	49,808.25	53,600.78	1.08	19,960.40	1,069,892.86
6	San Luis Potosí	131,917.74	114,181.89	53,291.74	0.47	12,891.49	687,010.04
7	Guanajuato	58,130.50	58,130.50	33,645.42	0.58	14,308.48	481,414.81
8	Puebla	40,270.70	40,270.70	32,302.82	0.8	13,477.05	435,346.74
9	Veracruz	35,086.30	34,749.30	25,133.63	0.72	15,098.97	379,492.01
10	Oaxaca	30,642.19	30,642.19	21,087.70	0.69	13,544.93	285,631.36
	Resto	71,334.25	70,599.35	50,278.78	0.79	268,627.56	688,313.59
	Total	1,486,143.85	1,465,676.10	931,195.63	0.64	14,270.15	13,288,299.42

## 2.2. Fenología del frijol

Durante el ciclo biológico, en la planta de frijol, transcurren diversos momentos fenológicos (fases y etapas), para alcanzar la madurez fisiológica entre los 95 a 100 días después de la siembra (dds), pudiéndose iniciar poco después de esta etapa el corte de la planta para su secado y trilla a los 120 dds (Ávila *et al.*, 2014).

### 2.2.1. Fases y etapas fenológicas

De acuerdo con Fernández *et al.*, (1986) el desarrollo de la planta de frijol comprende de manera general dos etapas sucesivas: la vegetativa y la reproductiva. A lo largo de las etapas se han identificado 10 fases bien definidas de desarrollo (Figura 2).



**Figura 2. Etapas de desarrollo de una planta de frijol hábito II (Fernández *et al.*, 1986).**

La etapa vegetativa comienza cuando la semilla tiene condiciones favorables para la germinación y finaliza cuando aparecen los primeros botones florales. Durante la etapa vegetativa se forma la mayor parte de la estructura vegetativa que la planta necesita para iniciar la reproducción.

La etapa reproductiva inicia con la aparición de los primeros botones o racimos florales y termina cuando el grano alcanza el grado de madurez necesaria para la cosecha (Tabla 2) (Fernández *et al.*, 1986).

La duración de las distintas etapas en las plantas está determinada por el hábito de crecimiento (Tipo I, II, III y IV), el clima (temperatura, fotoperiodo), el suelo (fertilidad, condiciones físicas) y el genotipo (aún dentro del mismo hábito de crecimiento) (Ventura, 1991).

**Tabla 2. Etapas fenológicas del frijol común (Fernández *et al.*, 1986).**

Etapa	Fase		Evento con que inicia cada fase (50%)
	Código	Nombre	
<b>Vegetativa</b>	V0	Germinación	La semilla está en condiciones favorables para iniciar la germinación.
	V1	Emergencia	Los cotiledones de las plantas aparecen al nivel del suelo.
	V2	Hojas primarias	Las hojas primarias de las plantas están desplegadas.
	V3	Primer hoja trifoliada	La primer hoja trifoliada de las plantas está desplegada.
	V4	Tercer hoja trifoliada	La tercer hoja trifoliada de las plantas está desplegada.
<b>Reproductiva</b>	R5	Prefloración	Los primeros botones o racimos han aparecido.
	R6	Floración	Se ha abierto la primera floración.
	R7	Formación de vainas	Al marchitarse la corola de las plantas aparece por lo menos una vaina.
	R8	Llenado de vainas	Llenado de semillas en la primera vaina.
	R9	Maduración	Cambio de color en por lo menos una vaina (del verde al amarillo uniforme o pigmentado).

### 2.2.2. Componentes del rendimiento

El rendimiento del grano se puede analizar separándolo en sus componentes para determinar su contribución relativa (Kohashi, 1996). Dentro de los principales componentes del rendimiento en frijol se encuentran: número de vainas por planta; granos por planta; número de granos por vaina; peso de 100 granos; peso hectolítrico; largo y ancho de vaina, y el rendimiento agrícola con un 14% de humedad del grano (Boudet *et al.*, 2015).

Los componentes de rendimiento están influenciados por los diferentes estadios del cultivo, así como por las condiciones ambientales que afectan positiva o negativamente el crecimiento y desarrollo del cultivo, puesto que modifican el entorno y alteran la producción de materia seca, los componentes de rendimiento y, por ende, el rendimiento del grano (Rodríguez *et al.*, 2014).

Conocer los momentos en que se definen los distintos componentes del rendimiento y el efecto de los parámetros ambientales sobre los mismos, puede ayudar a detectar los estadios críticos. Con

estos datos se puede adecuar el manejo del cultivo; evitar o minimizar las situaciones de estrés por efecto ambiental durante dichos periodos, esto a través de la correcta aplicación de las prácticas agronómicas (fecha de siembra, densidad de siembra, ciclo del cultivar, entre otros); lo cual permite adecuar los factores ambientales que pueda limitar el rendimiento del cultivo (radiación solar, agua, nutrientes, temperatura) a los momentos de mayor demanda de los mismos (Aguirrezábal *et al.*, 2001).

Ante las condiciones actuales de la agricultura una gran cantidad de investigaciones a nivel mundial se han enfocado en el estudio de alternativas para los sistemas agronómicos de producción convencional. En este sentido, la nanotecnología surge como una opción para el mejoramiento de los cultivos agrícolas.

### 2.3. Nanotecnología

La idea y concepto de nanociencia y nanotecnología tienen su inicio en el año 1959 con el físico Richard Feynman y su conferencia dictada en la Sociedad Americana de Física (APS por sus siglas en inglés) en Caltech, Pasadena. Sin embargo, el término nanotecnología fue utilizado por primera vez por el profesor Norio Taniguchi en 1974, y no fue hasta 1981, cuando se desarrolló el microscopio de efecto túnel y que los átomos individuales pudieron ser observados, nació la nanotecnología moderna (Marchiol, 2012).

La nanotecnología se ha definido como el diseño, la fabricación, la manipulación y aplicación de pequeñas estructuras (nanoestructuras) o pequeños materiales (NMs) con dimensiones que van desde de 1 a 100 nanómetros (Benelmekki, 2019). Los materiales que se encuentran en la nano-escala presentan propiedades que son completamente diferentes a sus homólogos en tamaño másico. Estas propiedades están en función del tamaño, la estructura, la forma y la composición de la partícula. Por ejemplo, el mismo material presentará propiedades ópticas/eléctricas diferentes en tamaño nanométrico en comparación con la macro escala (Thangadurai *et al.*, 2020).

Aunque la nanociencia y la nanotecnología modernas son relativamente nuevas, los materiales a nanoescala se han utilizado durante siglos, y en la actualidad es una disciplina en donde científicos e ingenieros de diversos campos están descubriendo fenómenos y aplicaciones para el diseño de

materiales, componentes y avances en física, química, biología molecular, medicina, ambiente, agricultura, industrias químicas, farmacéuticas, entre otras (Mendoza y Rodríguez, 2007).

### 2.3.1. Nanoestructuras y nanopartículas

Una nanoestructura es un material con dimensiones entre 1 y 100 nm. El concepto de dimensionalidad es muy útil y ha permitido que las nanoestructuras sean clasificadas en:

- Nanomateriales dimensión 0: son más pequeños que 100 nm en todas sus direcciones. Por ejemplo: las nanopartículas y los nano-poros.
- Nanomateriales unidimensionales (1-D): son más pequeños que 100 nm en dos direcciones solamente. Por ejemplo: nanobarras, nano cables y nanotubos.
- Nanomateriales bidimensionales (2-D): son más pequeños que 100 nm solo en la dirección de espesor, por ejemplo; películas delgadas y nanoplacas (De Mello, 2014).
- Nanomateriales tridimensionales (3-D): todas sus dimensiones son mayores a 100 nm, pero estos materiales se consideran nanoestructurados siempre y cuando hayan sido elaborados por bloques de construcción tipo 0-D, 1-D y 2-D (Amaya y Quiroga, 2020). Por ejemplo: policristales, nanobolas, estructuras dendríticas, nanobobinas, nanoconos, nanopastillas y nanoflores (Tiwari *et al.*, 2012).

En este rango de tamaño, las propiedades físicas, químicas y comportamiento en aplicaciones biológicas cambian de manera importante. Las NPs pueden ser compuestas por materiales de diversa naturaleza química, donde las más comunes son las metálicas, las de óxidos metálicos, las de silicatos, las cerámicas sin óxido, las de polímeros, las de compuestos orgánicos, las de carbono y las formadas por biomoléculas (Nagarajan y Hatton, 2008).

### 2.3.2. Aplicación de las nanopartículas en la agricultura

La innovación y el desarrollo para producir alimentos en las cantidades y calidad necesarias para alimentar a la población mundial en rápido crecimiento sigue siendo el mayor desafío. En la agricultura y la industria de alimentos la aplicación de la nanotecnología es una de las áreas de investigación de más rápido crecimiento actualmente (Lira, 2016).

El uso desmesurado e inadecuado de agroquímicos con el fin de aumentar el rendimiento de los cultivos lleva a la degradación de los ecosistemas y el suelo, así como problemas de contaminación ambiental y desarrollo de resistencia de plagas y enfermedades. La nanotecnología ha surgido como un avance tecnológico que podrá transformar los sectores de la agricultura, al proporcionar herramientas para la detección rápida de enfermedades de los cultivos, así como para mejorar la capacidad de las plantas para absorber nutrientes y crecer más rápido (Lira, 2016).

La aplicación de la nanotecnología en la agricultura abre amplias oportunidades para producir productos agrícolas, como: nanofertilizantes, nanoplaguicidas, nanoherbicidas y nanosensores, entre otros (Lira *et al.*, 2018). Se ha reportado que la aplicación de estos productos podría minimizar la pérdida de nutrientes, aumentar la biodisponibilidad, mejorar la actividad biológica, mejorar la germinación de las semillas, ayudar en el manejo del agua y reducir la cantidad de agroquímicos esparcidos, aumentar la producción de alimentos y reducir el impacto ambiental de manera sostenible (Konappa *et al.*, 2021). Diversos materiales nanométricos han sido estudiados en la agricultura, por ejemplo, Stadler *et al.* (2010) evaluaron por primera vez la actividad insecticida de la alúmina nanoestructurada contra dos plagas de insectos, *Sitophilus oryzae* L. y *Rhizopertha dominica* (F.) que son las principales plagas en granos almacenados en todo el mundo. Estos autores reportaron una mortalidad significativa después de tres días de exposición continua del trigo tratado con alúmina nanoestructurada, considerando el tratamiento como una alternativa económica y confiable para el control de plagas. De igual manera Rehman *et al.* (2021) encontraron que las nanopartículas de plata sintetizadas a partir de un extracto de *Camelina sativa* funcionaron para el control del carcoma dentado de los granos (*Oryzaephilus surinamensis* L.) y el gorgojo del grano (*Sitophilus granarius* L.), dos plagas de importancia económica del trigo almacenado (*Triticum aestivum* Linn.). Por otro lado, Arunthirumeni *et al.* (2022) reportaron la eficiencia de la aplicación de nanopartículas de selenio mico-sintetizadas usando *Trichoderma* sp. en el control del gusano oriental de la hoja (*Spodoptera litura*), una plaga cuarentenaria en México.

El cultivo de tabaco (*Nicotiana benthamiana* Domin) y el virus del mosaico del nabo (TuMV) se utilizaron para promover el uso de los nanomateriales (NM) en el crecimiento del cultivo y la resistencia a la infección viral. La presencia de los NM a base de metales y carbono ejerció efectos positivos en el crecimiento del tabaco y la confinación efectiva de la infección viral y la replicación del virus (Hao *et al.*, 2018).

En semillas de arroz envejecidas (*Oryza sativa* L.) Mahakham *et al.* (2017), lograron mejorar significativamente la germinación y el vigor al aplicarles nanopartículas de plata, en concentraciones de 10 y 20 mg L<sup>-1</sup> utilizando extracto de hoja de lima kaffir (*Citrus hystrix* D.C) como agente *priming* en las semillas. Las semillas de cacahuete son muy propensas al deterioro en el almacenamiento, sin embargo, Krishna y Natajan (2014) aplicaron NPs de óxido de zinc (ZnO), plata (Ag) y dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) en cuatro concentraciones 500, 750, 1000 y 1250 mg Kg<sup>-1</sup> y encontraron que se potencializó la germinación (75%) y el vigor de las plántulas con la dosis de 1000 mg Kg<sup>-1</sup> en comparación con el control (55%).

Srivastava *et al.* (2014) reportaron el uso de nanopartículas de pirita de hierro (FeS<sub>2</sub>) como un fertilizante en semillas de espinaca. Las semillas se trataron en una solución acuosa que contenía las NPs a una concentración de 80 mg L<sup>-1</sup> durante catorce horas y posteriormente se sembraron en campo. Los resultados obtenidos fueron: una mayor producción de biomasa (un mayor número de hojas y hojas más anchas); junto con una mayor concentración de calcio, magnesio y zinc en las hojas en comparación con las plantas control.

El uso de NPs de plata (Ag) en concentración de 20 a 60 mg L<sup>-1</sup> en cultivos como el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y el maíz (*Zea mays* L.) provocó un aumento en la longitud de los brotes y de las raíces, el área de superficie foliar, la clorofila, los carbohidratos y el contenido de proteínas en ambos cultivos (Salama, 2012).

Asimismo, el uso de NPs tiene el potencial de mejorar la calidad de la germinación de las semillas y los parámetros fisiográficos relacionados con el fin de optimizar la capacidad de absorción, la degradación de reservas y la división celular, reflejándose en una mayor emergencia y uniformidad debido a la penetración de los nanomateriales (Cruz, 2017).

### 2.3.3. Efecto de las nanopartículas de óxido de zinc dopado con cobre en la germinación de semillas

Dentro de las nanopartículas estudiadas para su utilización en la agricultura se encuentran las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y de cobre (Cu). Esto debido a que el Zn es esencial en varios procesos bioquímicos de las plantas tales como: la síntesis de citocromos y nucleótidos, el metabolismo de las auxinas, la producción de clorofila, la activación de las enzimas y la integridad

de la membrana (Adhikari *et al.*, 2016); también desempeña una función importante en la germinación de semillas, en la producción de polen y de biomasa (Kaya y Higgs, 2002). Mientras que el Cu actúa como un elemento estructural en las proteínas reguladoras, asimismo, participa en los procesos bioquímicos tales como la fotosíntesis, respiración mitocondrial, respuesta al estrés oxidativo, el metabolismo de la pared celular y la señalización hormonal además es un cofactor en muchas enzimas. Por lo tanto, las plantas requieren Cu como micronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo normal (Yruela, 2005).

Las NPs de ZnO que tienen el potencial de actuar como fertilizante para ayudar a corregir las deficiencias de este microelemento en las plantas y posiblemente mejorar el crecimiento y desarrollo de estas. Lo anterior coincide con lo encontrado por Prasad *et al.* (2012), donde al aplicar 1000 mg L<sup>-1</sup> de ZnO en semillas de cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) se promovió tanto la germinación como el vigor de la plántula.

En el estudio llevado a cabo por Estrada (2018), se evaluó la aplicación de nanopartículas de ZnO para mejorar la calidad fisiológica y sanitaria de semillas de una variedad de maíz rojo nativo. Los resultados mostraron un aumento significativo en la germinación de las semillas en comparación con el tratamiento control, así como una protección contra ciertos organismos patógenos como hongos y bacterias. Además, las nanopartículas mejoraron significativamente algunas características de las plántulas de maíz, como la longitud y el diámetro de la plúmula, la longitud de la raíz y el número de raíces secundarias.

Awasthi *et al.* (2017) reportaron que la aplicación de 50 mg L<sup>-1</sup> de nanopartículas de ZnO tuvo un efecto positivo sobre la germinación de semillas, el número de las raíces, la biomasa de la planta y el crecimiento en general en el cultivo de trigo.

En cultivos como el pepino (*Cucumis sativus* L.) se encontró que al aplicar las NPs de ZnO, a una concentración de 50 mg L<sup>-1</sup> se mejoraron los procesos de germinación y crecimiento de las plántulas, con un efecto positivo en el vigor de la semilla y en la longitud de la radícula (García, 2018). En melón (*Cucumis melon* L.) el uso de las nanopartículas de zinc a una concentración de 200 mg L<sup>-1</sup> mostró ser una buena alternativa para mejorar el rendimiento y el contenido nutracéutico y la concentración de Zn en el fruto (Rivera *et al.*, 2021).

Otros resultados revelaron que el tratamiento de semillas de jitomate (*Solanum lycopersicum* var. Patharkuchi) con NPs de ZnO (0, 2, 4, 8, 10 y 14 mg L<sup>-1</sup>), fósforo y óxido de titanio (0, 10, 20, 30, 40 y 50 mg L<sup>-1</sup>) se mejoró significativamente las características de la semilla, la germinación y el crecimiento de las plántulas (Das *et al.*, 2015).

En cultivos de la familia *Solanaceae* como son el jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) y el chile ancho (*Capsicum annuum* L.) presentaron mejores resultados en variables como el vigor (%), longitud de radícula (cm) y longitud de plúmula (cm), además mostraron tendencia a una mejor germinación con la aplicación de NPs de cobre (Cu) a una concentración de 5 mg L<sup>-1</sup> (Arredondo, 2016). Ortega *et al.* (2022), realizaron un estudio donde utilizaron NPs de óxido de cobre (CuO) biosintetizadas, utilizaron cáscara de naranja (*Citrus x sinensis*) como agente reductor para evitar o reducir la toxicidad en semillas y brotes de trigo. Los resultados obtenidos indican que el uso de dosis bajas de las NPs de CuO (0.5 mg ml<sup>-1</sup>), mejoró la germinación, el vigor, la longitud de la plúmula y de la radícula, además de incrementar la biosíntesis de compuestos fitoquímicos en los brotes de trigo.

Otro ejemplo de la aplicación de NPs de Cu fue en el estudio realizado por Aleksandrowicz *et al.* (2018) donde buscaron determinar la influencia de las NPs en los parámetros de crecimiento y la colonización espontánea de micorrizas de raíces en plántulas de pino silvestre de dos años cultivadas en contenedores. La aplicación de las NPs de Cu estimuló la colonización de las micorrizas en todas las concentraciones, aunque el crecimiento de las plántulas solo se promovió a una concentración de 25 mg L<sup>-1</sup>.

Diversas investigaciones han demostrado que las NPs a base de cobre (Cu) y de óxido de zinc (ZnO) proporcionan actividad antifúngica y nematicida contra una amplia gama de hongos y nematodos tal es el caso de Tryfon *et al.* (2022) quienes obtuvieron como resultado que al dopar las NPs de ZnO con cobre (Cu) se inhibió el crecimiento de los hongos *Botrytis cinérea* y *Sclerotinia sclerotiorum* así como una disminución de la población del nemátodo agallador *M. javanica* en plantas de lechuga.

Con base en los estudios realizados por diversos grupos de investigación, se deduce que el dopaje de las nanopartículas de ZnO con cobre podría potencializar sus efectos benéficos en los parámetros productivos de los cultivos, como el frijol.

## 2.4. Descripción del área de estudio

A continuación, se describen las condiciones del área de estudio.

### 2.4.1. Localización geográfica

El área de estudio se encuentra en el Municipio de Cuautitlán Izcalli en el Estado de México, en la longitud Oeste  $99^{\circ} 11' 42''$  y en la latitud norte  $19^{\circ} 41' 35''$  a 2,256 msnm (Figura 3). La parcela experimental se ubicó en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES-C), en la parcela 14 del Centro de Enseñanza Agropecuaria (CEA), durante el ciclo primavera-verano (P-V) 2022 (Figura 4).



**Figura 3. Localización geográfica del Municipio de Cuautitlán Izcalli. México (INEGI, 2018).**



**Figura 4. Parcela 14 del Centro de Enseñanza Agropecuaria, FES-C, UNAM (Google Earth, 2023).**

#### 2.4.2. Características agroclimáticas

La zona se caracteriza por tener un clima templado subhúmedo, el más seco de los subhúmedos, con lluvias en verano, una temperatura promedio de 15.4 °C; una precipitación promedio de 652.1 mm y la presencia de heladas principalmente en la época de invierno (Ángeles, 2022).

El suelo es de textura arcillosa, con un porcentaje de materia orgánica de 3.7%; pH de 6.9; conductividad eléctrica de 0.619 dS m<sup>-1</sup>; y fertilidad media a alta (Mercado *et al.*, 2015).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Metodología

El trabajo experimental constó de tres etapas:

3.1.1. Síntesis y caracterización de las nanopartículas de ZnO dopadas con cobre y acondicionamiento de las semillas de frijol con el material nanoestructurado

Esta se realizó en el laboratorio, y para la síntesis de las nanopartículas de ZnO dopadas con cobre, se utilizaron como precursores nitrato de zinc hexahidratado ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), nitrato de cobre ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ), hidróxido de sodio (NaOH), etanol y agua desionizada. El material vegetal utilizado fue frijol variedad vaquita negro cosechado en el año 2021 en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. El tamaño promedio de la semilla fue de  $10.5 \times 8.0 \times 5.2$  mm de largo, ancho y espesor, y una esfericidad del 73.9%, el peso de 100 semillas fue de  $30.2 \pm 0.2$  g y un peso hectolítrico de  $78.5 + 1.33$  kg hL<sup>-1</sup>. El equipo requerido para el desarrollo del experimento fue el siguiente: regla y libreta de campo, báscula granataria, balanza analítica, plancha de agitación magnética con calentamiento, estufa, báscula de peso hectolítrico, mortero de ágata y cámara fotográfica.

Esta etapa involucró las siguientes actividades:

- *Síntesis y caracterización de las nanopartículas de ZnO-Cu.* Las NPs ZnO-Cu fueron sintetizadas por el método de co-precipitación de acuerdo con lo reportado por Ibarren *et al.* (2014), con algunas modificaciones. Se preparó una disolución 1.1 M de acetato de zinc y 0.011 M de acetato de cobre en 10 ml de etanol, se mantuvo en agitación constante a una temperatura de 70 °C durante 10 minutos. Enseguida se adicionaron 10 mL una disolución acuosa 1.2 M de NaOH a una velocidad de 0.07 mL s<sup>-1</sup>, la reacción se agitó por 10 minutos. La muestra obtenida se dejó en reposo por 18 horas, enseguida el precipitado fue lavado por triplicado utilizando ciclos de centrifugado (7 min a 7000 rpm) y resuspensión en agua desionizada y finalmente con etanol. El precipitado fue secado a una temperatura de 170 °C durante dos horas, la muestra fue homogenizado en un mortero de ágata y almacenado en recipientes herméticos para su posterior caracterización.

Las nanopartículas de ZnO-Cu fueron caracterizadas por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier, espectroscopia de absorción UV-Vis y microscopia electrónica de transmisión, con la finalidad de conocer los grupos funcionales en la superficie, la energía de la banda prohibida, el tamaño y la morfología de las partículas.

• *Acondicionamiento de las semillas con las nanopartículas de ZnO dopadas con cobre.* Las semillas de frijol se lavaron y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante dos minutos, enseguida se enjuagaron con agua destilada. Para el tratamiento de las semillas con las nanopartículas de ZnO dopadas con cobre, las nanopartículas fueron suspendidas en agua desionizada y sometidas a un baño ultrasónico a una frecuencia de 25 Hz durante 20 min.

Los tratamientos empleados para el acondicionamiento fueron:

- Tratamiento 1. Testigo, agua desionizada.
- Tratamiento 2. 100 mg de nanopartículas de ZnO-Cu.
- Tratamiento 3. 200 mg de nanopartículas de ZnO-Cu.

Para el acondicionamiento, 1,500 semillas fueron sumergidas en los diferentes tratamientos y se mantuvieron en agitación constante durante 24 horas a temperatura ambiente (Anexo 1). Una vez acondicionadas fueron llevadas al campo para su siembra.

### 3.1.2. Trabajo de campo

La segunda etapa se llevó en el campo, con la siembra de las semillas de frijol acondicionadas con nanopartículas de ZnO dopadas con cobre. Esta se llevó a cabo el día 10 de junio de 2022. El método de siembra utilizado fue de forma manual, dos semillas por golpe, y la distancia entre plantas fue de 30 cm. En el Anexo 2 se presentan imágenes del trabajo en campo.

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar, con tres repeticiones. Las observaciones se realizaron en nueve unidades experimentales (UE), cada UE constó de cuatro surcos separados a 0.8 m<sup>2</sup> entre sí, de 5 m de largo (16 m<sup>2</sup>). En total fue una superficie total de 144 m<sup>2</sup>. Fueron 60 plantas por unidad experimental, a una densidad de población de 37,500 plantas por hectárea.

El deshierbe fue de forma manual. Se aplicó lombricomposta como biofertilizante, a los 35 días después de la siembra (dds). El cultivo se condujo en condiciones de temporal, sin embargo, se aplicó riego de auxilio debido a que las semillas estaban hidratadas a la hora de la siembra y no ocurrió precipitación en los dos días siguientes.

Se evaluaron las siguientes variables:

- **Condiciones climáticas:** Se registraron los datos diarios de temperatura ambiental, precipitación y evaporación, en la estación meteorológica de la FES Cuautitlán, durante todo el ciclo del cultivo.

- **Fenología:** Se registró la aparición de las distintas fases fenológicas, así como la duración de las etapas fenológicas (Anexo 3).

- **Altura de planta:** Se registró la primera lectura a los 15 días después de la emergencia (dde), y posteriormente cada 15 días, hasta el inicio de la etapa de fructificación. La lectura se realizó en cinco plantas tomadas al azar en cada UE.

- **Componentes del rendimiento:** La cosecha fue manual, el 11 de octubre de 2022, a los 123 dds, y de una muestra por UE se determinaron los siguientes:

- Número de vainas por planta, de 10 plantas tomadas al azar.

- Número de semillas por vaina, en 10 vainas tomadas al azar.

- Peso hectolítrico de la semilla.

- Peso de 100 semillas, tomadas al azar.

- **Rendimiento:** Se consideró el peso total obtenido en la UE. Este valor se extrapoló a  $t\ ha^{-1}$ .

### 3.1.3. Pruebas de laboratorio a las semillas cosechadas

Esta etapa incluyó las siguientes pruebas de laboratorio, que a continuación se describen (Anexo 4).

a) *Grupos funcionales.* Para la identificación de los grupos funcionales en la semilla se realizó el análisis por la técnica de espectroscopia FTIR-ATR en un rango de  $4,000-400\ cm^{-1}$ , para

ello los cotiledones y la testa de las semillas de frijol fueron molidos y tamizados para homogenizar el tamaño de partícula. Las áreas de las bandas principales del espectro IR fueron calculadas mediante el software Spectrum.

b) *Pruebas y porcentaje de germinación (F2)*. Para las pruebas de germinación se realizaron cinco repeticiones de 10 semillas por tratamiento. Las semillas se colocaron sobre toallas de papel, se hidrataron y fueron guardadas en bolsas plásticas y colocadas en una charola dentro de una cámara de germinación a 27 °C durante 7 días. Para el porcentaje de germinación se contó el número de semillas que presentaron la emergencia de la radícula.

c) *Longitud y diámetro de la plántula*. El recuento final de las plántulas se realizó a los siete días posteriores al inicio de la prueba. Para la longitud del tallo se tomó como base el inicio del hipocótilo y como fin la base de los cotiledones, los resultados se reportaron en centímetros. El diámetro de la plántula se tomó con ayuda de un vernier digital. La medición se realizó a la mitad del hipocótilo y los resultados se reportaron en milímetros.

d) *Longitud y diámetro de la raíz principal y número de raíces secundarias*. Se midió la longitud de la raíz principal de las plántulas tomando como inicio la base del hipocótilo hasta el ápice de esta, los datos se reportaron en centímetros. Así también se cuantificó el número de raíces secundarias y los resultados se reportan como el número promedio.

### 3.2. Análisis estadístico

Se realizaron los análisis de varianza y posteriormente pruebas de medias por el método de Tukey, en las variables evaluadas; en ambos casos se consideró un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

### 3.3. Materiales

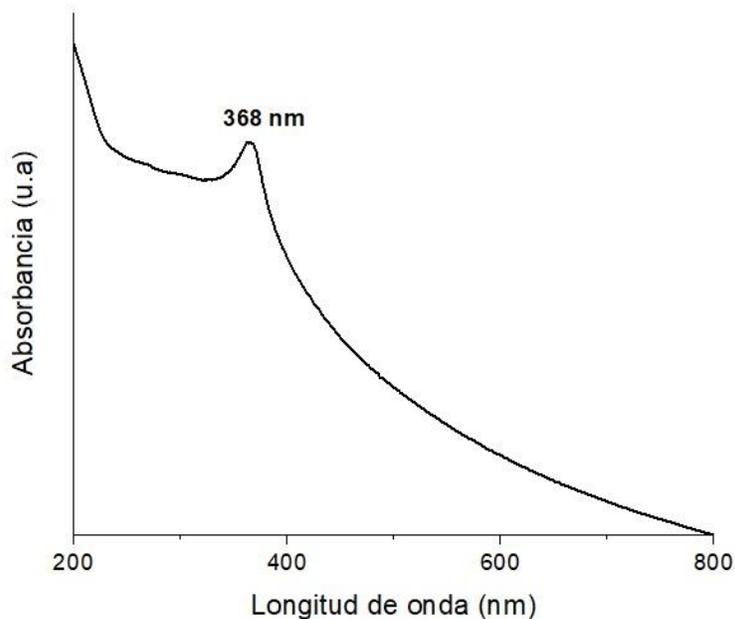
- Semilla de frijol variedad Vaquita negro.
- Lombricomposta.
- Libreta de campo.
- Cámara fotográfica.
- Regla.

- Báscula granataria.
- Báscula peso hectolítrico.
- Balanza analítica.
- Bolsas.
- Nitrato de zinc hexahidratado ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), nitrato de cobre ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ), hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ), etanol y agua desionizada.
- Plancha de agitación magnética con calentamiento.
- Estufa.
- Mortero de ágata.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Caracterización de nanopartículas de ZnO-Cu

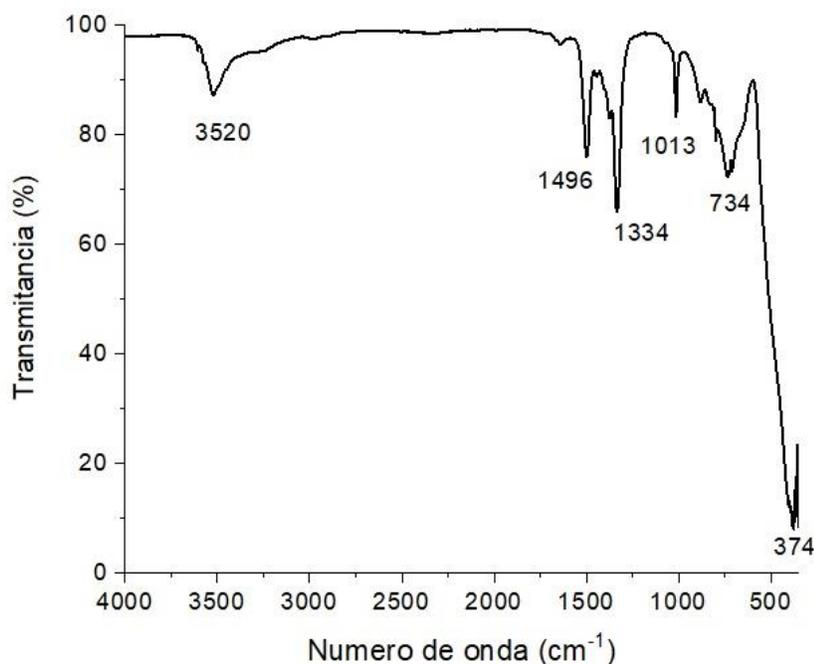
a) *Espectroscopia de absorción UV-Vis.* La espectroscopia de absorción de UV-visible es usada ampliamente como una técnica para examinar las propiedades ópticas de óxidos metálicos a nanoescala. En la Figura 5 se presenta el espectro de absorción UV-Vis de las nanopartículas sintetizadas. Como se observa, la máxima absorción se presentó a los 368 nm, pico característico en NPs ZnO-Cu, además el espectro presenta un desplazamiento hacia el azul originado por el tamaño de partícula menor. Este resultado es similar a lo encontrado por Mittal *et al.* (2014), quienes reportaron un máximo de absorción a los 364 nm en NPs de ZnO-Cu.



**Figura 5. Espectro de absorción UV-Vis de las nanopartículas de ZnO-Cu sintetizadas.**

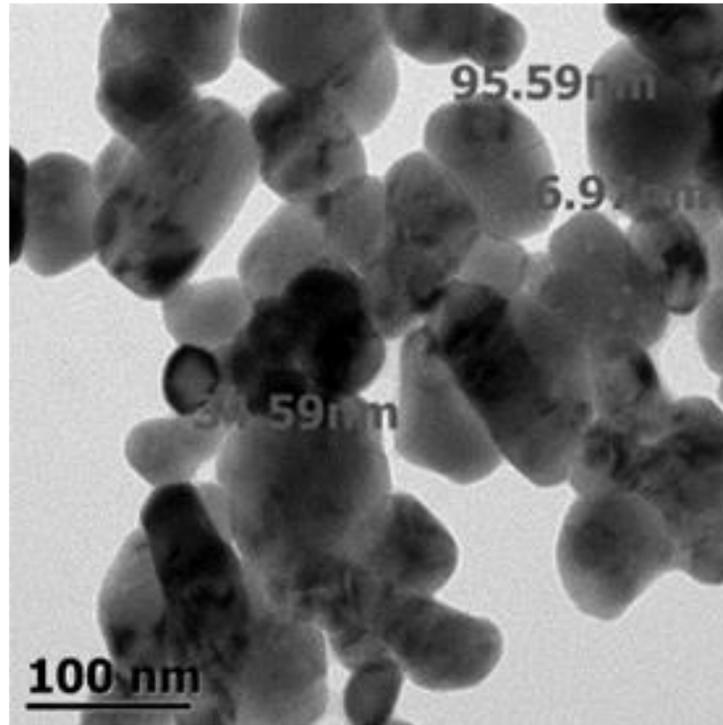
b) *Espectroscopia de infrarrojo con transformación de Fourier (FTIR).* FTIR es una técnica que se utiliza para identificar los constituyentes elementales de un material. Las bandas exhibidas por los espectros FTIR de las NPs ZnO dopadas con Cu se muestran en la Figura 6. Se observa

una banda a los  $3,520\text{ cm}^{-1}$ , esta banda se atribuye al estiramiento asimétrico/simétrico del O-H (Muthukumanan y Gopalakrishnan, 2012). De acuerdo con Ahmed *et al.* (2022) la banda de  $1,496\text{ cm}^{-1}$  corresponde al estiramiento asimétrico del enlace N-O en las NPs dopadas con Cu, la banda  $1,334\text{ cm}^{-1}$  y la banda  $1,013\text{ cm}^{-1}$  al estiramiento del enlace C=O y O-H respectivamente y la banda a  $734\text{ cm}^{-1}$  se le atribuye al estiramiento del enlace Zn-O. La banda  $374\text{ cm}^{-1}$  Kanwal *et al.*, (2022) la asignan al enlace Zn-O (tetraédrico).



**Figura 6. Espectro de infrarrojo de las nanopartículas de ZnO-Cu sintetizadas.**

C). *Microscopia electrónica de transmisión*. Es una técnica que se utiliza para conocer características de las NPs: forma, morfología y tamaño. En la Figura 7 se presenta la imagen de microscopia electrónica de transmisión de las nanopartículas sintetizadas. En la imagen se observa una morfología cuasi-esférica de las nanopartículas y con tamaños menores a los 100 nm. Aunque su diámetro es similar en todas las direcciones, presentan alguna simetría o deformidad que las diferencia ligeramente de una esfera perfecta. El rango de diámetros oscila entre 34 a 95 nm que se debe a varios factores que influyen en su síntesis.

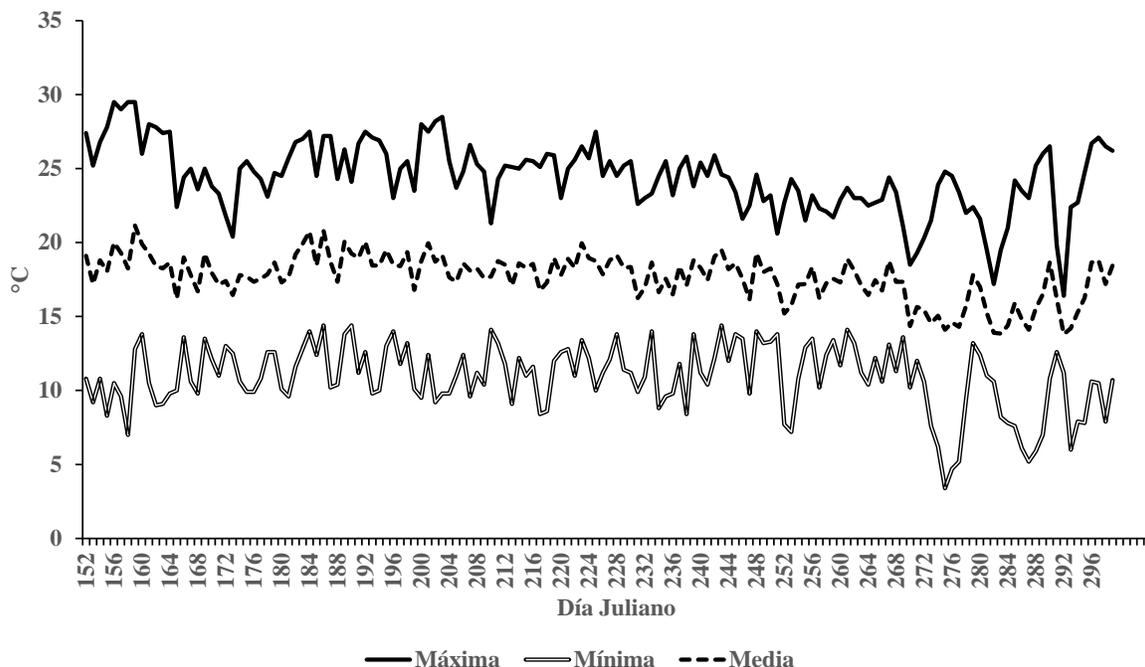


**Figura 7. Imagen de microscopía electrónica de transmisión de las nanopartículas de ZnO-Cu sintetizadas.**

#### 4.2. Condiciones climáticas

a) Temperatura. En la Figura 8 se presentan las tendencias de las temperaturas máxima, mínima y media, registradas diariamente durante el ciclo del cultivo en campo.

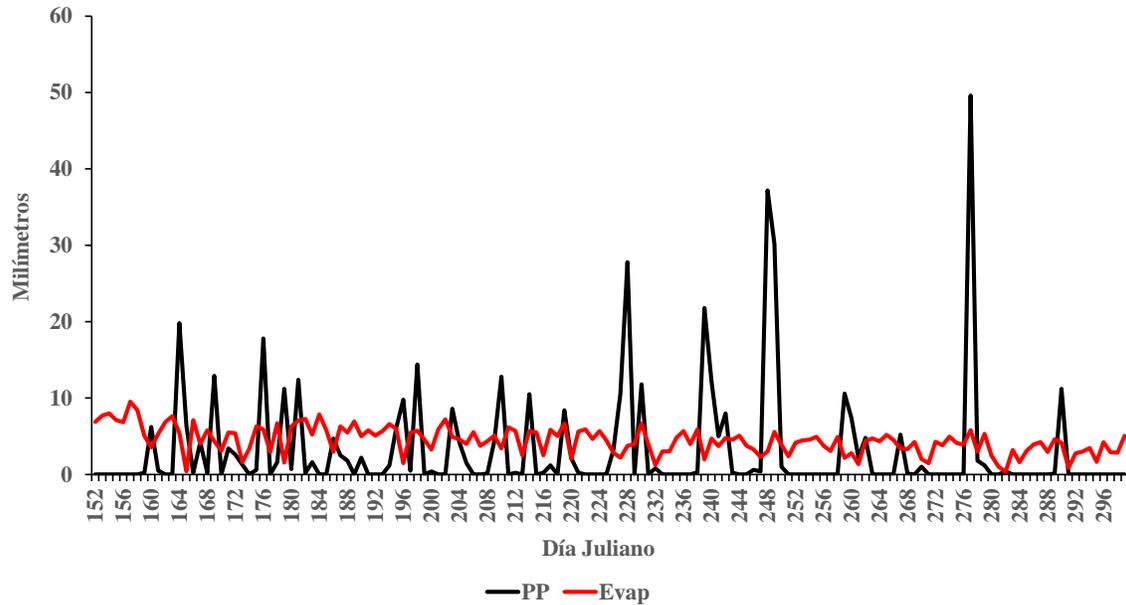
Esta variable climática no fue limitante para el crecimiento y desarrollo del cultivo ya que las tendencias se encontraron dentro de los parámetros óptimos para el cultivo de frijol, que oscilan entre los 10 y 27 °C (SIAP, 2019).



**Figura 8. Temperatura ambiental diaria (°C). Ciclo P-V 2022. Estación meteorológica Almaraz.**

b) Precipitación - evaporación. El cultivo de frijol se manejó bajo condiciones de temporal; la precipitación acumulada durante el ciclo del cultivo fue de 457.4 mm, mientras que la evaporación acumulada en este mismo periodo fue de 607.9 mm lo que evidencia la falta de agua para el cultivo.

De acuerdo con el INIFAP (2012) los rangos de precipitación para la producción de mediano rendimiento son de 400 mm (escasez de agua), de 900 a 1200 mm (exceso de agua) y de 450 a 900 mm para un rendimiento óptimo del cultivo. En este sentido y con lo observado en campo, el cultivo sufrió estrés hídrico principalmente en la etapa vegetativa, puesto que la distribución diaria de la precipitación fue muy irregular y la evaporación fue mayor en varios periodos del cultivo (Figura 9). Por tal razón fue necesario aplicar agua a las plantas para evitar que se dañaran de forma irreversible, lo cual tuvo lugar dos veces, una en el mes de junio y otra en julio, en plena etapa vegetativa.



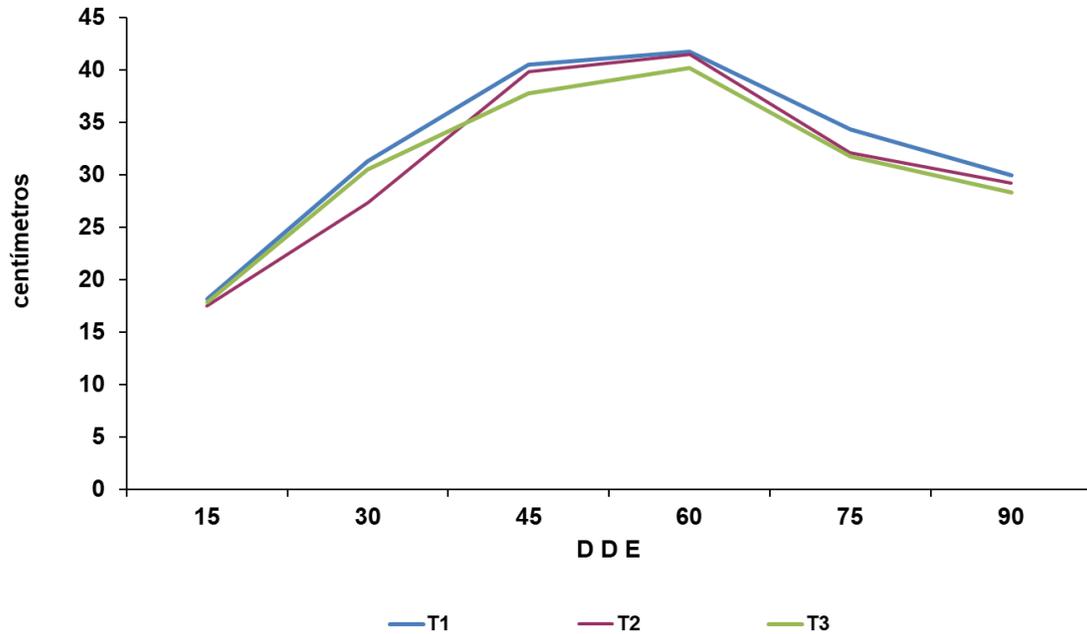
**Figura 9. Precipitación y evaporación diaria (mm). Ciclo P-V 2022. Estación meteorológica Almaraz.**

#### 4.3. Fenología del cultivo

Durante el ciclo del cultivo de frijol, se llevaron a cabo observaciones del crecimiento y desarrollo, a continuación, se reporta lo obtenido.

a) Altura de planta. Como se mencionó anteriormente, los datos se tomaron cada 15 días después de la emergencia (dde), se tomó la altura de 10 plantas por unidad experimental de cada tratamiento. La tendencia de la altura de las plantas evaluadas se representa en la Figura 10.

La altura máxima se presentó a los 60 dde, y las plantas del tratamiento 1 (T1) (la altura promedio fue de 41.8 cm) seguido de las plantas del tratamiento 2 (T2) las cuales tuvieron una altura en promedio de 41.5 cm y por último el tratamiento 3 (T3) con 40.1 cm en promedio. Con el tiempo la altura de las plantas disminuyó en todos los tratamientos debido a que las plantas empezaron con el llenado de las vainas y el peso de estas provocaron que la altura fuera menor.



**Figura 10. Altura promedio de las plantas de frijol (cm) de los tratamientos evaluados, ciclo P-V 2022. Cuautitlán Izcalli, México.**

Se observa que la altura de la planta no está influenciada por los tratamientos aplicados, sin embargo, Hernández (2019), reportó una altura máxima en frijol vaquita negro de 71.8 cm, esto se puede atribuir a que el temporal durante el ciclo P-V 2018 se comportó de una mejor manera, con un menor déficit hídrico para la planta, en comparación con el ciclo P-V 2022.

Durante el ciclo del cultivo se tomaron imágenes del desarrollo fenológico del frijol (Anexo 3), en la Tabla 3 se presentan los datos fenológicos registrados del cultivo de frijol, variedad Vaquita negro, durante el ciclo P-V 2022, en condiciones de temporal, en Cuautitlán Izcalli, Méx.

**Tabla 3. Datos fenológicos del cultivo de frijol, ciclo P-V 2022. Cuautitlán Izcalli, Méx.**

<b>Fase</b>	<b>Porcentaje de avance</b>	<b>Fecha</b>
Siembra		10 de junio
Emergencia	inicio (15 %)	16 de junio
	fin (100%)	21 de junio
Floración		
	inicio 15 %	24 de julio
	plenitud 80 %	11 de agosto
Fructificación		
	inicio 25 %	28 de julio
	plenitud 80 %	15 de agosto
Madurez fisiológica		26 de agosto
Madurez comercial (cosecha)		11 de octubre

La emergencia inició a los seis días después de la siembra (dds) y alcanzaron el 100% a los 11 días dds, en los tres tratamientos.

El inicio de la floración fue a los 44 dds y la plenitud a los 62 dds. El frijol Vaquita negro bajo las condiciones de la FES-Cuautitlán se caracteriza por ser una variedad precoz en comparación a otras variedades como serían el Ojo de cabra y Flor de durazno.

La fructificación se registró al 80% a los 67 dds, datos que coinciden con lo reportado por Hernández (2019).

La madurez fisiológica se presentó a los 78 dds. La cosecha fue manual y se realizó a los 124 dds.

El comportamiento fenológico del frijol mostró una buena adaptación a las condiciones climáticas del temporal P-V 2022, sin embargo, la duración del ciclo biológico del cultivo se alargó 15 días con respecto a lo reportado por Hernández (2019), debido en gran medida a la falta de lluvia (Figura 9).

#### 4.4. Componentes del rendimiento

En el Anexo 5 se concentran los análisis de varianza correspondientes a las variables evaluadas. Los datos de los componentes de rendimiento obtenidos en función del tratamiento aplicado a la semilla de frijol se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4. Componentes del rendimiento del cultivo de frijol, en función del tratamiento aplicado. Ciclo P-V 2022, Cuautitlán Izcalli, Méx.**

Tratamiento	Número de vainas por planta (#)	Número de Semilla por vaina (#)	Peso de 100 semillas (g)	Peso hectolítrico (kg hl <sup>-1</sup> )	Rendimiento (t ha <sup>-1</sup> )
T1: Agua desionizada	53.2 <sup>a</sup>	5.2 <sup>a</sup>	39.6 <sup>a</sup>	79.0 <sup>a</sup>	2.1 <sup>a</sup>
T2: 100 mg L <sup>-1</sup> ZnO-Cu	46.1 <sup>a</sup>	5.2 <sup>a</sup>	40.2 <sup>a</sup>	78.5 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>
T3: 200 mg L <sup>-1</sup> ZnO-Cu	42.8 <sup>a</sup>	5.3 <sup>a</sup>	40.8 <sup>a</sup>	78.7 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>

Medias con la misma letra tienen igualdad estadística al  $\alpha$  0.05.

Los resultados mostraron que no existió diferencia significativa entre los tratamientos. El T1 fue en el que se obtuvo un mayor número de vainas por plantas; en el T3 se tuvieron las semillas más pesadas, seguido del T2; esto puede estar relacionado a un mayor crecimiento radicular, como señaló Estrada (2018), quien reportó longitudes mayores en las raíces de semillas de maíz tratadas con NPs de ZnO en comparación con las semillas que no fueron tratadas; al tener un sistema radicular más grande, las plantas tienen un mejor anclaje además de que pueden aprovechar mejor los nutrientes presentes en el suelo; a pesar de eso, el T1 fue el que tuvo un mayor rendimiento, lo cual pudo ser causado por el estrés hídrico que las plantas tuvieron en las primeras etapas de crecimiento. En los tres tratamientos hubo semillas que no germinaron por la falta de lluvia en los primeros cuatro días después de la siembra, no obstante, el T1 mostró una respuesta favorable a las condiciones ambientales presentes durante el ciclo P-V 2022.

El rendimiento no tuvo significancia estadística entre los tratamientos, sin embargo, el T1 fue el que reportó mayor rendimiento. En términos generales, el rendimiento promedio (1.8 ton ha<sup>-1</sup>) obtenido en este ciclo 2022 fue ligeramente menor al reportado para esta variedad (1.9 ton ha<sup>-1</sup>) por Hernández (2019).

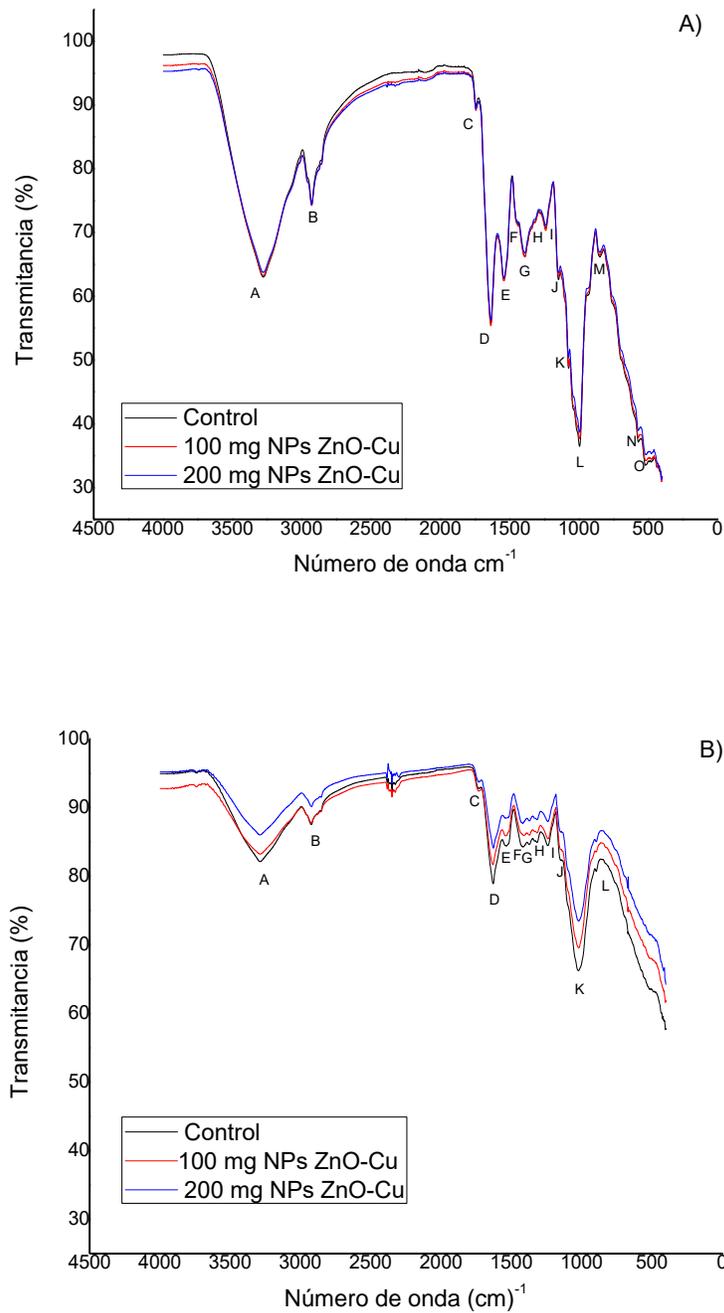
#### 4.5. Grupos funcionales

Las bandas de la espectroscopia FTIR realizada en las semillas se muestran en la Tabla 5 y sus espectros correspondientes en la Figura 11. De acuerdo con Estrada *et al.* (2018) la vibración encontrada en un rango de  $3,260-3,180\text{ cm}^{-1}$  es asignada al estiramiento simétrico/asimétrico de las amidas primarias, los aminoácidos y las proteínas. Los espectros principales de los lípidos se encuentran en el rango de  $3,000$  a  $2,800\text{ cm}^{-1}$  (banda B), adicionalmente existe una región entre los  $1,750$  y  $1,720\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo éster presente en los lípidos (banda C) (Barraza *et al.*, 2013).

Los rangos de  $1,635-1,627\text{ cm}^{-1}$  (banda D),  $1,539-1,534\text{ cm}^{-1}$  (banda E) y de  $1,239-1,238\text{ cm}^{-1}$  (banda I) se asocian a los enlaces C=O de la amida I, N-H de la amida II y C-N de la amida III, estos resultados concuerdan con los obtenidos por López *et al.* (2012) al realizar una prueba FTIR en semillas de plantas de frijol sometidas a un estrés hídrico. En la banda F se identifican señales atribuidas a los polifenoles, lípidos y algunas proteínas, las bandas G y H se encuentran en el rango característico de la celulosa y hemicelulosa ( $1,370-1,317\text{ cm}^{-1}$ ) (Szymanska y Zdunek, 2013). La región de la banda J ( $1,149-1,147\text{ cm}^{-1}$ ) se caracteriza por las vibraciones del estiramiento del enlace C-O, en la banda K ( $1,074-1,019\text{ cm}^{-1}$ ) se encuentra el estiramiento simétrico del enlace P=O característico de los grupos fosfatos (fosfolípidos y proteínas fosforiladas) (Miller y Dumas, 2010; Zavala *et al.*, 2018). Con respecto a la banda L se encontró la flexión del enlace C-O-H relacionado con el almidón (Borries, 2014; De Dios *et al.*, 2022), así como el enlace  $\beta$ -glucosídico presente en la celulosa (Canteri *et al.*, 2019; Zhongqi *et al.*, 2022), en la banda M se encuentra en el enlace  $\beta$ -glucano (1, 4). Por último, en la banda N y O aparecen deformaciones de anillos en el plano y fuera del plano (Zavala *et al.*, 2018).

Los resultados obtenidos en el FTIR de los cotiledones indican que las NPs de ZnO-Cu no influyeron en la formación de grupos funcionales, ya que las bandas de los tratamientos con NPs y el tratamiento control presentan el mismo comportamiento, los espectros casi se empalman uno con otro pareciendo ser uno mismo, asimismo, en los resultados del FTIR realizados a la testa, sin embargo, existió diferencia en el tratamiento control quien presentó un porcentaje menor de transmitancia en comparación con los tratamientos con NPs. Estos resultados se pueden atribuir al estrés hídrico que sufrió el cultivo en la etapa vegetativa, ocasionado por la falta de lluvias. López *et al.* (2012) reportaron un decremento en la composición de las semillas cuando las plantas se

someten a un estrés hídrico, siendo las bandas de los azúcares ( $900$  y  $1,250\text{ cm}^{-1}$ ) y la de la proteínas ( $1,500$  y  $1,600\text{ cm}^{-1}$ ) donde observaron los mayores cambios.



**Figura 11. Espectro FTIR de la semilla de frijol. A) Cotiledones B) Testa.**

**Tabla 5. Asignaciones de las principales vibraciones presentes en los espectros FTIR-ATR de las semillas de frijol.**

Banda	Número de onda						Grupo funcional y compuesto comúnmente asignado
	Semilla			Testa			
	T1- agua desionizada	T2- NPs 100 mg L <sup>-1</sup>	T3-NPs 200 mg L <sup>-1</sup>	T1- agua desionizada	T2- NPs 100 mg L <sup>-1</sup>	T3-NPs 200 mg L <sup>-1</sup>	
A	3277	3277	3277	3287	3287	3285	Enlace O-H Estiramiento enlace N-H (péptidos y proteínas).
B	2927	2927	2927	2921	2921	2920	Estiramiento simétrico/ antisimétrico enlace C-H (lípidos).
C	1743	1743	1743	1733	1733	1733	Estiramiento enlace C=O (Esteres y/o amidas).
D	1635	1635	1635	1628	1630	1627	Estiramiento Enlace C=O (amida I).
E	1539	1539	1538	1537	1539	1534	Estiramiento enlace N-H (amida II).
F	1438	1438	1438	1415	1411	1417	Flexión antisimétrica enlace C-H (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> , polifenoles, lípidos y proteínas).
G	1388	1388	1389	1371	1370	1371	Flexión simétrica C-H, C=O y O-H (CH <sub>3</sub> , grupos aromáticos, celulosa).
H	1317	1317	1317	1316	1316	1316	Estiramiento simétrico C-O, COH, HCC (Celulosa).
I	1239	1239	1239	1239	1238	1238	Enlace C-N (amida III). Enlace C-O (Celulosa, Hemicelulosa y lignina).
J	1147	1147	1147	1148	1148	1149	Estiramiento enlace C-O.
K	1074	1074	1074	1021	1019	1019	Estiramiento simétrico P=O (ADN, ARN, fosfolípido, proteína fosforilada).
L	995	995	995	895	986	895	Flexión del enlace C-O-H (almidón). Enlace β-glucosídico en la celulosa.
M	847	847	847	-	-	-	Enlace β-glucano (1,4).
N	570	570	570	-	-	-	Deformaciones de anillos en el plano y fuera del plano.
O	519	519	519	-	-	-	Deformaciones de anillos en el plano y fuera del plano.

#### 4.6. Prueba de germinación y parámetros de vigor

En el porcentaje de germinación no existió diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos (Tabla 6). Las semillas tratadas con nanopartículas en una concentración de 100 mg ZnO-Cu L<sup>-1</sup> y 200 mg ZnO-Cu L<sup>-1</sup> obtuvieron un porcentaje de germinación del 92% y 100% respectivamente, sin embargo, el tratamiento control también mostró un 100% de germinación. Al ZnO y al Cu se le atribuyen propiedades que mejoran la germinación de algunas semillas, sin embargo, en el presente estudio la aplicación de las NPs no favoreció la germinación de las semillas en comparación a las semillas del control. Resultados similares fueron obtenidos por Savassa *et al.* (2018) quienes aplicaron NPs de ZnO y ZnO a granel en semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y encontraron que no afectaron la germinación de las semillas, es decir el tamaño de la partícula no desempeñó ningún papel sobre la tasa de germinación en comparación con el tratamiento control.

**Tabla 6. Parámetros de la germinación y vigor en semillas de frijol vaquita negro (F2).**

Parámetro	Tratamiento		
	Agua desionizada	100 mg L <sup>-1</sup> ZnO-Cu	200 mg L <sup>-1</sup> ZnO-Cu
Porcentaje de germinación (%)	100 <sup>a</sup>	92±1.2 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Longitud de raíz (cm)	15.2±1.9 <sup>a</sup>	11.9±2.2 <sup>b</sup>	14.86±1.0 <sup>ab</sup>
Diámetro de raíz (mm)	7.5±0.1 <sup>b</sup>	11.9±0.4 <sup>a</sup>	9.8±0.3 <sup>ab</sup>
Longitud de tallo (cm)	10.4±2.3 <sup>ab</sup>	8.2±2.0 <sup>b</sup>	12.4±1.2 <sup>a</sup>
Diámetro del tallo (mm)	3.1±0.15 <sup>a</sup>	3.0±0.26 <sup>a</sup>	3.2±0.11 <sup>a</sup>
Numero de raíces (#)	13.4±2.8 <sup>a</sup>	11.1±1.0 <sup>a</sup>	14.6±2.3 <sup>a</sup>

Nota: Valores con letras distintas dentro de una misma fila, indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). Los valores son el promedio de cinco repeticiones. Promedios± desviación estándar.

Con respecto a la longitud de raíz el tratamiento que obtuvo un mejor resultado fue el T1 con un promedio de 15.2 cm, sin embargo, no existió diferencia estadística significativa con el T3, pero si con el T2 donde existió diferencia de 3.3 cm. Para el diámetro de la raíz se encontró diferencia estadística significativa entre el T2 y el T1, si bien el T2 obtuvo la longitud radicular más pequeña, el diámetro radicular fue el mayor entre los tres tratamientos. En el número de raíces no existió diferencia estadística significativa entre los tratamientos, el T3 tuvo el mayor número de raíces con un promedio de 14.6 raíces, este resultado está relacionado con un aumento en la producción de auxinas, las cuales tienen participación en la división y elongación celular, así como en la producción de raíces adventicias y la formación y elongación de tallos (Alcántara *et al.*, 2019). En la longitud del tallo existió diferencia estadística significativa entre T3 y T2, la mayor longitud (12.4 cm) fue del T3. Shyla y Natarajan (2014), reportaron que las NPs de ZnO incrementan el nivel de ácido indol acético (IAA) en las raíces, que a su vez se ve reflejado en un aumento en la tasa de crecimiento de las plántulas. El diámetro de la planta está relacionado directamente con el parámetro anterior, aunque no existió diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

## V. CONCLUSIONES

1. Se cumplieron los objetivos de la investigación y la hipótesis planteada es aceptada, aunque no existió diferencia estadística significativa en el rendimiento.
2. Las condiciones meteorológicas adversas presentes durante el ciclo P-V 2022, influyeron en el crecimiento y desarrollo del cultivo de frijol, lo que limitó observar claramente el efecto de la aplicación de las NPs.
3. Por lo tanto, la hidratación de la semilla previa a la siembra en un suelo seco, en condiciones de temporal, afectó la emergencia del cultivo, y con ello una disminución de la población del cultivo evaluado.
4. La aplicación no NPs no influyó en la formación de grupos funcionales, pero el tratamiento de 200 mg L<sup>-1</sup> de ZnO-Cu mejoró la germinación de las semillas F2 y los parámetros de vigor, especialmente la longitud del tallo y de la raíz en las semillas de la F2, que fue estadísticamente significativo con el tratamiento de 100 mg L<sup>-1</sup> ZnO-Cu.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Se sugiere continuar con el estudio del efecto de las NPs en el cultivo de frijol, y si es de temporal, convendría utilizar otro método de aplicación en donde la semilla no tenga que estar hidratada al momento de la siembra.
2. Sí se utiliza el “*priming*”, asegurarse de que el cultivo tenga buena disponibilidad de humedad en la etapa de germinación, para asegurar un buen establecimiento del cultivo en el campo.
3. Asimismo, sería conveniente realizar un análisis costo/beneficio de esta técnica de acondicionamiento de semillas con NPs.

## VII. LITERATURA CITADA

1. Adhikari, T., Kundu S., Subba, R.A. 2016. Zinc delivery to plants through seed coating with nano-zinc oxide particles. *Journal of Plant Nutrition*, 38(1): 136-146.
2. Aguirrezábal, L., Orioli G.A., Hernández, L.F., Pereyra, V.R., Miravé J.P. 2001. Girasol. Aspectos fisiológicos que determinan el rendimiento. Primera reedición. INTA, Buenos Aires Argentina. 111 pp.
3. Ahmed, K., Mehboob N., Zaman, A., Ali, A., Mushtaq, M., Ahmed, D., Ahmed, N., Sultana, F., Bashir, K., Amami, M., Althubeiti, K., y Tirth, V. 2022. Enhanced the Cu<sup>2+</sup> doping on the structural, optical and electrical properties of zinc oxide (ZnO) nanoparticles for electronic device applications. *Journal of Luminescence*, 250: 1-9.
4. Alcántara, C.J.S., Acero, G.J., Alcántara, C.J.D., Sánchez, M.M.R. 2019. Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32): 109-129.
5. Aleksandrowicz, T.M., Bederska, B.M., Szaniawski, A., Olchowik, J., Studnicki, M. 2019. The effects of copper and silver nanoparticles on container-crown scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) and Penculate Oak (*Quercus robur* L.) seedlings. *Forest*, 10 (3): 269 <https://doi.org/10.3390/f10030269>
6. Amaya, J., Quiroga, W. 2020. Nanomateriales: una clasificación desde sus dimensiones. *Revista Química e Industria*: 7-12.
7. Ángeles, F.S.B. 2022. Determinación de la normal climática de 1987 a 2022 de la Estación Meteorológica Almaraz. Tesis de Licenciatura de Ingeniería Agrícola. FES Cuautitlán, UNAM. México. 117 pp.
8. Arredondo, Q.J. 2016. nanopartículas de cobre como promotoras de germinación de semillas y crecimiento de plantas de *Capsicum annuum* y *Lycopersicon esculentum*. Tesis de licenciatura, Ingeniero Agrícola y Ambiental. Universidad Autónoma Antonio Narro. Buenavista, Coah. México. 69 pp.
9. Arunthirumeni, M., Veerammal, V., Subramanian, M. 2022. Biocontrol efficacy of mycosynthesized selenium nanoparticle using *Trichoderma* sp. on insect pest *Spodoptera litura*. *Journal of Cluster Science*, 33: 1645-1653.
10. Ávila, M.J.A., Ávila, S.J.M., Rivas, S.F.J., Martínez, H.D. 2014. El cultivo del frijol. Sistemas de producción del noreste de México. Universidad de Sonora. 87 pp.
11. Awasthi, A., Bansal, S., Kumar, J.L., Awasthi, G., Kant, A.K., Awasthi K. 2017. Effect of ZnO nanoparticles on germination of *Triticum aestivum* seeds. *Macromolecular Symposia*, 376(1): 5.
12. Barraza, G.G., de la Rosa, L.A., Martínez, M.A., Castillo, M.H., Cotte, M., Álvarez, P.E. 2013. La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Rev. Latinoamericana de Química*, 41(3): 125-148.

13. Benelmekki, M. 2019. Nanomaterials. The original product of nanotechnology. Morgan y Claypool Publishers. San Rafael, California, Estados Unidos. 95 pp.
14. Borries, M.E. 2014. Caracterización y estudios de digestión *in vitro* de extrudidos de almidón-goma guar. Tesis de maestría en Tecnología Avanzada. Instituto Politécnico Nacional. México. 87 pp.
15. Boudet, A.A. Boiche, F.T., Castillo, R.O. 2015. Rendimiento y sus componentes en variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo condiciones de sequía en Rio Cauto, Granma. Centro Agrícola, 42(3): 59-66.
16. Canteri, M., Renard, C., Bourvellec, C., Bureau, S. 2019. ATR-FTIR spectroscopy to determine cell wall composition: Application on a large diversity of fruits and vegetables. Carbohydrate Polymers, 212: 186-196.
17. CEDRSSA (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria). 2019. Producción de granos básicos y suficiencia alimentaria 2019-2024. Palacio Legislativo de San Lázaro. Ciudad de México
18. Chinnamuthu, C.R., Boopathi, M. 2009. Nanotechnology and Agroecosystem. Tamil Madras Agric. J., 96(6): 17-31.
19. Cruz, R.I. 2017. Aplicación de nanopartículas y micropartículas de óxido de zinc y sulfato de hierro, y su efecto en la germinación y crecimiento de plántulas de calabaza (*Curcubita pepo*). Tesis de licenciatura Ingeniero Agrónomo en Producción. Universidad Autónoma Antonio Narro. Buenavista, Coah. México. 54 pp.
20. Das, B., Debnath, K., Sarkar, K.K., Priya, B., Mukherjee, S. 2015. Effect of different nanoparticles on germination and seedling growth in tomato. Res. On Crops, 16 (3): 542-550.
21. De Dios, A.N., Tirado, G.J., Estrada, V.M., Ríos, V.C., Luna, E.G., Zamudio, F.P., Isiordia, A. N., Cambrero, C.O. 2022. Caracterización estructural y fisicoquímica de almidones de semilla de aguacate modificados mediante hidrólisis ácida a alta temperatura. Revista Bio Ciencias, 9: 1-21.
22. De Mello, C. 2014. Nanoparticles. Workhorses of nanoscience. Springer. 303 pp.
23. Estrada, U.J. 2018. Influencia de las nanopartículas de óxido de zinc sobre la calidad fisiográfica y sanitaria de la semilla de maíz nativo (*Zea mays* L.). Tesis de licenciatura de Ingeniero Agrónomo. FCAA, Iguala de la independencia, Universidad Autónoma de Guerrero, Guerrero. 62p.
24. Estrada, U.J., Cruz, A.A., Santander, G.M., Méndez, A.A., Vázquez, D.A. 2018. Nanoscale Zinc oxide particles for improving the physiological and sanitary quality of a mexican landrace of red maize. Nanomaterials. 8(4): 247.

25. FAO (Organización de las Naciones Unidad para la Agricultura y la Alimentación). 2020. FAOSTAT Base de datos estadísticos. En: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>. Fecha de consulta el 18 de julio de 2022.
26. Fernández, de C.F., Gepts, P., López, M. 1986. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia, 34 pp.
27. FIRA (Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura). 2017. Panorama agroalimentario. Frijol 2011-2012. En: <https://es.scribd.com/document/331207388/Panorama-Agroalimentario-Frijol-2011-12-pdf>. Fecha de consulta el 18 de agosto de 2022.
28. FIRA. 2022. Perspectivas 2022. En: <https://www.fira.gob.mx/Nd/NEstEcon.jsp>. Fecha de consulta el 18 de julio de 2022.
29. García, G.A. 2018. Respuesta de vigor y germinación a la aplicación de nanopartículas de óxido de zinc en semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.). Tesis de licenciatura, Ingeniero Agrónomo en Producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Coah. México. 47 pp.
30. Hao, Y., Yuan, W., Ma, C., White, J., Zhang, Z., Adeel, M., Zhou, T., Rui, Y., Xing, B. 2018. Engineered nanomaterials suppress Turnip mosaic virus infection in tobacco (*Nicotiana benthamiana*). *Environmental Science: Nano*, 5: 1685-1693.
31. Hernández, S.E. 2019. Manejo orgánico de la fertilización del cultivo de frijol. Tesis de licenciatura Ingeniería Agrícola. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. 79 pp.
32. INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias). 2012. Potencial productivo de especies agrícolas de importancia socioeconómica en México. Publicación especial No.8. En: <https://www.cmdrs.gob.mx/sites/default/files/cmdrs/sesion/2018/09/17/1474/materiales/inifap-estudio.pdf>. Fecha de consulta: 5 de diciembre 2022.
33. Kanwal, S., Khan, T.M., Mehboob, N., Amami, M., Zaman, A. 2022. Room-temperature ferromagnetism in Cu/Co Co-Doped ZnO nanoparticles prepared by the Co-precipitation method: for spintronics applications. *ACS OMEGA*, 7: 32184-32193.
34. Kaya, C., Higgs, D. 2002. Response of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) cultivars to application of zinc when grown in sand culture at low zinc. *Scientia Horticulturae*, 93: 53-64.
35. Kohashi, S.J. 1996. Aspectos de la morfología y fisiología del frijol *Phaseolus vulgaris* L. y su relación con el rendimiento. Instituto de Recursos Naturales, Programa de Botánica. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.
36. Konappa, N., Krishnamurthy, S., Arakere, C., Chowdappa, S., Akbarbasha, R., Ramachandrappa, N. 2021. Nanofertilizers and nanopesticides: recent trends, future prospects in agriculture. 281-230.

37. Krishna, K., Natarajan, N. 2014. Customizing Zinc Oxide, Silver and Titanium dioxide nanoparticles for enhancing groundnut seed quality. *Indian Journal of Science and Technology*, 7(9): 1376-1381.
38. Lara, F.M. 2015. El cultivo del frijol en México. *Revista Digital Universitaria*, 16(2): 1-11.
39. Lira, S.R. 2016. *Agronano Tecnología: Nueva frontera de la revolución verde*. Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA). 273 pp.
40. Lira, S.R., Méndez, A.B., Santos, V.G., Vera, R.I. 2018. Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta univ*, 28(2): 9-24.
41. López, C.J.C., Martínez, V.B., Delgado, M.R., López, G.V., Villalobos, L.M.A., Arroyo, B.A. 2012. Análisis mediante espectroscopia de infrarrojo, sobre el efecto del estrés hídrico en frijol negro Jamapa (*Phaseolus vulgaris* L.). XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.
42. Mahakham, W., Sarmah, A., Maensiri, S., Theerakulpisut, P. 2017. Nanoprimering technology for enhancing germination and starch metabolism of aged rice seeds using phytosynthesized silver nanoparticles. *Scientific Reports*, 7: 8263.
43. Mannino, S., Scampicchio, M. 2007. Nanotechnology and food quality control. *Veterinary Research Communications*, 31(1): 149-151.
44. Marchiol, L. 2012. Synthesis of metal nanoparticles in living plants. *Italian Journal Agronomy*, 7(e37): 274-282.
45. Mendoza, U.G., Rodríguez, L.J.L. 2007. La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Perfiles Latinoamericanos*, 29; 161-186.
46. Mercado, M.G., Granados, M.A.K., Reyes, L.D., López, A.H., Canales, T.L, Severiano, L.J.H., Valencia, I.C.E. 2015. Variabilidad espacial de parámetros químicos de un suelo vertisol, con manejo convencional y orgánico. *Memorias del XL Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. San Luis Potosí, S.L.P. México.
47. Miller, M.M., Dumas, P. 2010. From structure to cellular mechanism with infrared microspectroscopy. *Current Opinion in Structural Biology*, 20 (5): 649-656.
48. Mittal, M., Sharma, M., Pandey, O.P. 2014. UV–Visible light induced photocatalytic studies of Cu doped ZnO nanoparticles prepared by co-precipitation method. *Solar Energy*, 10: 386-397.
49. Muthukumar, S., Gopalakrishnan, R. 2012. Structural, FTIR and photoluminescence studies of Cu doped ZnO nanopowders by co-precipitation method. *Optical Materials*, 34(11): 1946-1953.
50. Nagarajan, R., Hatton, A. 2008. *Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Passivation, and functionalization*. ACS Symposium series: American Chemical Society, 996: 2-14.

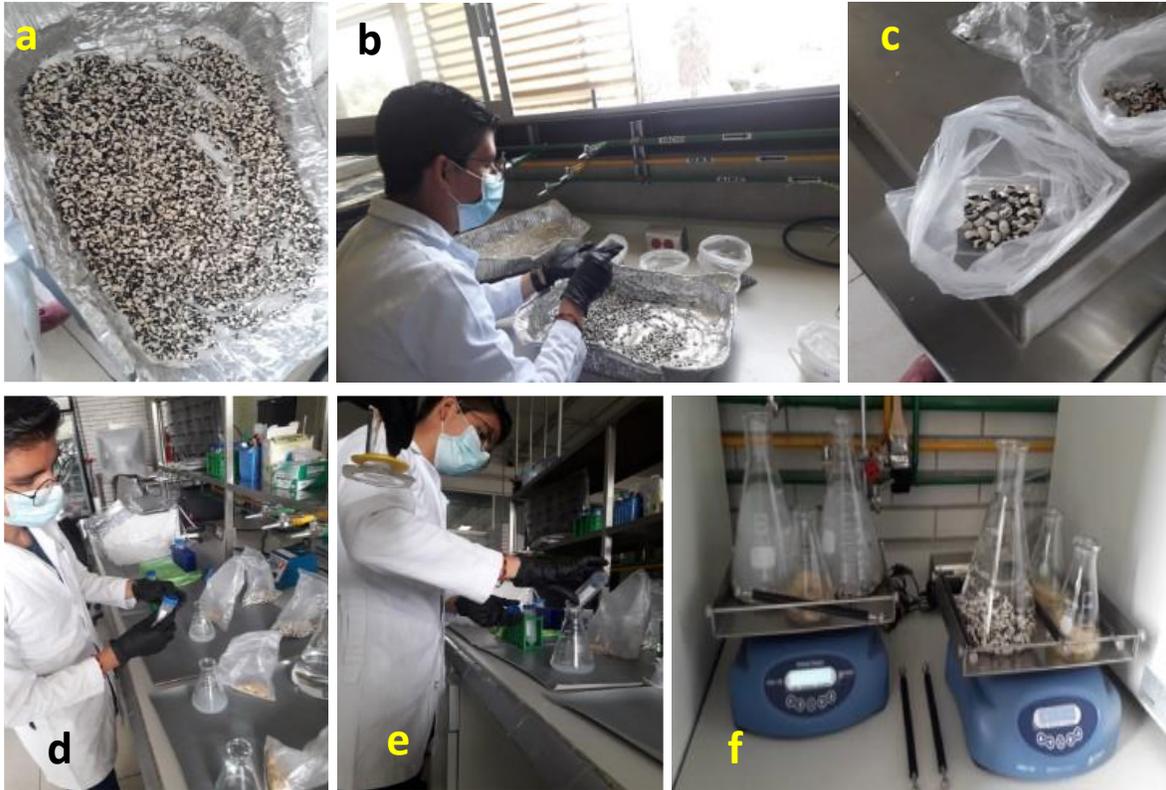
51. Ortega, O.H., Gaucin, D.J., Fortis, H.M., Hernández, M.L., Lara, C.L. 2022. Copper oxide nanoparticles biosynthesized improve germination and bioactive compounds in wheat sprouts. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50(1): 12657.
52. Prasad, V.K., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munuswamy, V., Raja, R.K., Sreeprasad, T.S., Sajanlal, P.R., Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 35(6); 905-927.
53. Ramesh, K. 2009. *Nanomaterials. Mechanics and Mechanisms*. Springer. 343 pp.
54. Ramírez, R.R., Palacios, R.N., Nutti, M., Pérez, S. 2020. Estados potenciales en México para la producción y consumo de frijol biofortificado con hierro y zinc. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(1): 11-23.
55. Rehman, H., Majeed, B., Aslam, M., Rasul, A., Sagheer, M., Ali, Q., Raen, Z. 2021. Green Synthesis of Silver Nitrate Nanoparticles from *Camelina Sativa* (L.) and Its Effect to Control Insect Pests of Stored Grains. *International Journal of Tropical Insect Science*, 41: 3031-3039.
56. Rekha, K., Nirmala, M., Nair, M., Anukaliani, A. 2010. Structure, optical, photocatalytic and antibacterial activity of zinc oxide and manganese doped zinc oxide nanoparticles. *Physica B: Condensed Matter*, 405(15): 3180-3185.
57. Rivera, G.R., Preciado, R.P., Fortis, H.M., Betancourt, G.R., Yescas, C.P., Orozco, V.J. 2021. Nanopartículas de óxido de zinc y su efecto en el rendimiento y calidad del melón. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(5): 791-803.
58. Salama, M.H.H. 2012. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *International Research Journal of Biotechnology*, 3(10): 190-197.
59. Sangerman, J.D.M., Acosta, G.J.A., Shwenstesi, de R.R., Damian, H.M.A., Larqué, S.B.S. 2010. Consideraciones e importancia social en torno al cultivo del frijol en el centro de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1(3): 358-375.
60. Savassa, M.S., Durán, M.N., Rodríguez, S.E., De Almeida, E., Van Gestel, M.A.C., Bompadre, V. F.T., De Carvalho P.W.H. 2018. Effects of ZnO nanoparticles on *Phaseolus vulgaris* germination and seedling development determined by X-ray spectroscopy. *ACS applied Nano Materials*, 1(11): 6414-6426.
61. SE (Secretaría de Economía). 2012. Análisis de la cadena de calor del frijol. En: [https://www.economia.gob.mx/files/comunidad\\_negocios/industria\\_comercio/analisis\\_cadena\\_valor\\_frijol.pdf](https://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/analisis_cadena_valor_frijol.pdf). Fecha de consulta el 28 de septiembre de 2022.
62. SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2017. Frijol mexicano. En: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256428/B\\_sico-Frijol.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256428/B_sico-Frijol.pdf). Fecha de consulta el 28 de septiembre de 2022.

63. SIAP. 2019. Aptitud agroclimática del frijol en México ciclo agrícola primavera verano. En: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/448930/Reporte\\_de\\_Aptitud\\_agroclim\\_tica\\_de\\_M\\_xico\\_del\\_frijol\\_PV\\_2019.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/448930/Reporte_de_Aptitud_agroclim_tica_de_M_xico_del_frijol_PV_2019.pdf). Fecha de consulta: 01 de noviembre de 2022.
64. SIAP. 2021. Panorama agroalimentario 2021. En: [https://nube.siap.gob.mx/panorama\\_siap/pag/2021/Panorama-Agroalimentario-2021](https://nube.siap.gob.mx/panorama_siap/pag/2021/Panorama-Agroalimentario-2021). Fecha de consulta el 18 de julio de 2022.
65. SIAP. 2022. Anuario Estadístico de la producción Agrícola. En: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Fecha de consulta el 19 de julio de 2022.
66. Shyla, K.K., Natarajan, N. 2014. Customizing Zinc Oxide, Silver and Titanium Dioxide Nanoparticles for enhancing Groundnut Seed Qualit. Indian Journal of Science and Technology, 7(9): 1376-1381.
67. Srivastava, G., Kumar, C., Das, A., Kumar, S., Roy, M., Kim, H., Sethy, N., Kumar, A., Sharma, R., Kumar, S., Philip, D., Das, M. 2014. Seed treatment with iron pyrite (FeS<sub>2</sub>) nanoparticles increases the production of spinach. RSC Advances, 4: 58495-58504.
68. Stadler, T., Buteler, M., Weaver, D. 2010. Novel use of nanostructured alumina as an insecticide. Pest Management Science, 66(6): 577-579.
69. Szymanska, C.M., Zdunek, A. 2013. Use of FT-IR Spectra and PCA to the bulk characterization of cell wall residues of fruits and vegetables along a fraction process. Food Biophysics 8: 29-42.
70. Thangadurai, D., Sangeetha, J., Prasad, R. 2020. Nanotechnology for Food, Agriculture, and Environment, Springer Cham. 405 pp.
71. Tiwari, N.J., Tiwari, N.R., Kim, S.K. 2012. Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional nanostructured materials for advanced electrochemical energy devices. Progress in Materials Science, 57 (4): 724-803.
72. Tryfon, P., Kamou, N., Ntalli, N., Mourdikoudis, S., Karamanoli, K., Karfaridis, D., Menkissoglu, U., Dendrinou, C. 2022. Coated Cu-doped ZnO and Cu nanoparticles as control agents against plant pathogenic fungi and nematodes. NanoImpact, 28: 100430.
73. Ulloa, J.A., Rosas, U.P., Ramírez, R.J.C., Ulloa, R.B.E. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. Revista fuente, 3(8): 5-9.
74. Ventura, E.R. 1991. Fenología y fenometría de una variedad y una línea de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en la Zona Occidental de El Salvador. Agronomía Mesoamericana, 2: 56-60
75. Yruela, I. 2005. Copper in plants. Braz. J. Plant Physiol., 17(1): 145-156.
76. Zavala, F.A., Hernández, P.D., Solis, C.B., López, A.R., Téllez, I.G., Vázquez, D.A., Méndez, A.A. 2018. Assessing the aflatoxin B1 adsorption capacity between biosorbents using In Vitro multicompartamental model simulating the dynamic conditions in the gastrointestinal tract of poultry. Toxins (Basel), 10(11): 489.

77. Zhang, X., Song, H., Yu, L., Wang, T., Ren, X., Kong, X., Xie, Y., Wang, X. 2006. Surface states and its influence on luminescence in ZnS nanocrystallite. *Journal of Luminescence*, 118(2): 251-256.
78. Zhongqi, H., Yongliang, L., Hee, J.K., Haile, T., Hailin, Z. 2022. Fourier transform infrared spectral features of plant biomass components during cotton organ development and their biological implications. *Journal of Cotton Research*, 5(11): 1-13.

# **ANEXOS**

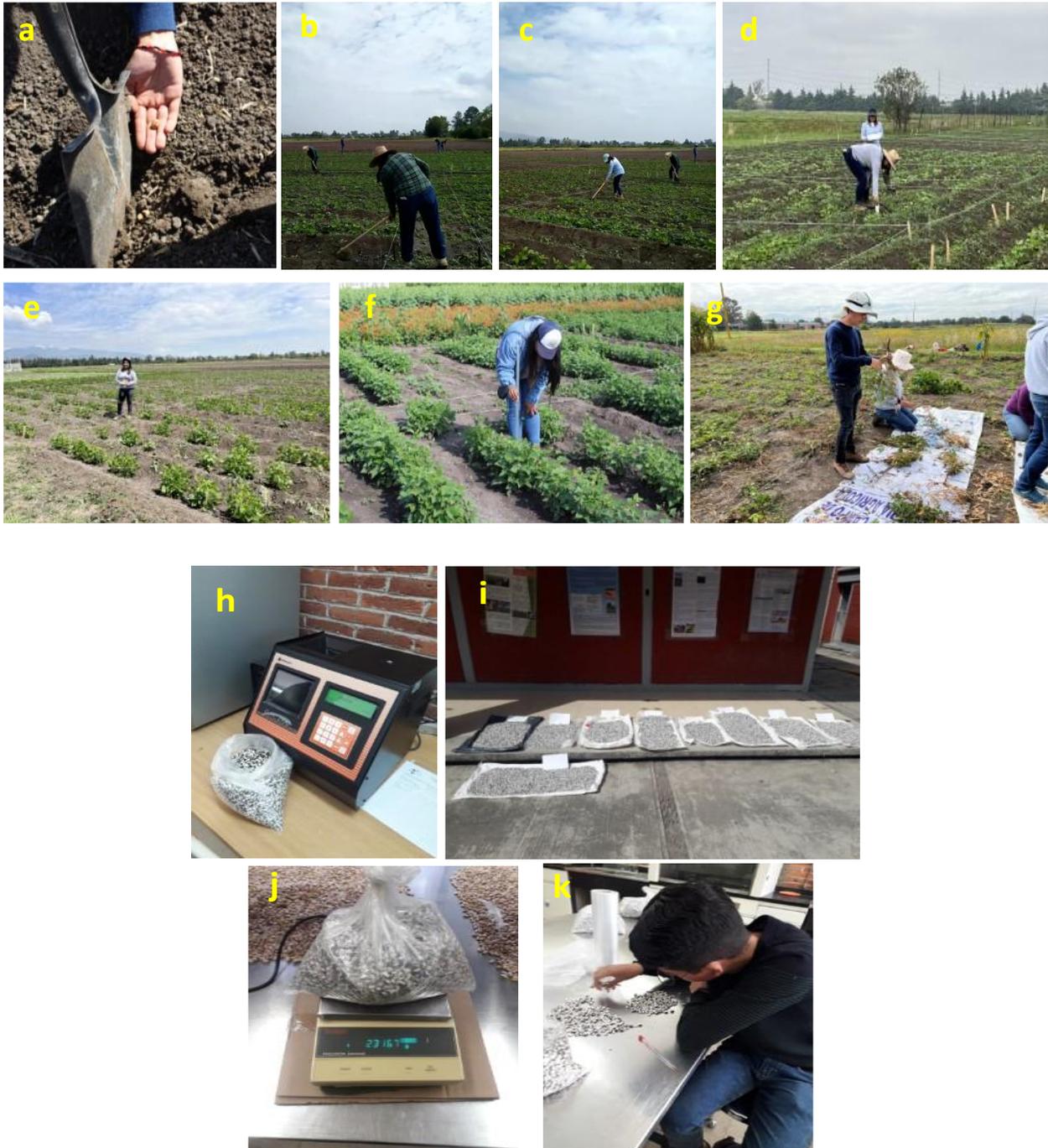
**Anexo 1. Actividades de laboratorio para la preparación de suspensiones con las NPs de ZnO+Cu y acondicionamiento de las semillas.**



Donde:

a: Selección de semilla. b: Conteo de 500 semillas. c: Semillas separadas por tratamiento.  
d y e: Preparación de la solución con NPs. f: Agitación de las semillas en cada solución por 24 horas.

**Anexo 2. Actividades de campo en el cultivo de frijol, ciclo P-V 2022. Cuautitlán Izcalli, Méx.**



Donde:

a: Siembra. b, c: Labores de cultivo. d: Medición de altura de planta. e: Etapa vegetativa del cultivo. f: Medición de altura de planta. g: Cosecha de grano. h: Determinación del porcentaje de humedad. i: Secado del grano. j: Peso de muestras. k: Conteo de semillas.

### Anexo 3. Fenología del cultivo de frijol, ciclo P-V 2022. Cuautitlán Izcalli, Méx.



Donde:

a, b: Siembra. c: Emergencia. d: Primer par de hojas. e: Etapa vegetativa del cultivo.  
f: Floración. g: Inicio de fructificación. h: Etapa de fructificación. i: Madurez. j: Cosecha de vainas.  
k: Semilla seleccionada.

**Anexo 4. Actividades de laboratorio posteriores a la cosecha para realizar pruebas de grupos funcionales.**



Donde:

a: Partida de los cotiledones de las semillas. b: Cotiledones sin testa. c: Trituración de los cotiledones. d, e: Homogenización de partículas. f, g, h: Análisis de los grupos funcionales.

**Anexo 5. Análisis de varianza (ANDEVA) de los parámetros evaluados.**

**ANDEVA de la Altura de planta**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamiento	9.207	2	4.604	0.0647 <sup>NS</sup>	3.6823
Error	1068.105	15	71.207		
Total	1077.312	17			

Nota: no existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos

**ANDEVA Número de vainas por planta**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	176.2	2	88.11	0.3181 <sup>NS</sup>	5.1433
Error	1662	6	277		
Total	1838.2	8			

Nota: no existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos

**ANDEVA Número de semilla por vaina**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	0.0156	2	0.0078	0.0136 <sup>NS</sup>	5.1433
Error	3.4333	6	0.5728		
Total	3.4489	8			

Nota: no existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos

**ANDEVA Peso de 100 semillas**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	2.0422	2	1.0212	0.2385 <sup>NS</sup>	5.1433
Error	25.6933	6	4.2822		
Total	27.7356	8			

Nota: no existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos

**Continuación Anexo 5.**

**ANDEVA Peso hectolítrico**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	0.3889	2	0.194	0.0795 <sup>NS</sup>	5.1433
Error	14.6667	6	2.444		
Total	15.0556	8			

Nota: no existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos.

**ANDEVA Rendimiento**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	0.4822222	2	0.2411111	1.9375 <sup>NS</sup>	5.14325285
Error	0.7466667	6	0.1244444		
Total	1.2288889	8			

Nota: no existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos

**ANDEVA Porcentaje de germinación**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	2.133	2	1.0667	1.8824 <sup>NS</sup>	3.8853
Error	6.8	12	0.5667		
Total	8.933	14			

Nota: no existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos

**ANDEVA Longitud de tallo**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	42.9019	2	21.4509	6.1419*	3.8853
Error	41.9107	12	3.4926		
Total	84.8126	14			

Nota: existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) al menos en alguno de los tratamientos.

**Continuación Anexo 5.**

**ANDEVA Ancho de tallo**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	0.0693	2	0.0347	0.9905 <sup>NS</sup>	3.8853
Grupos	0.42	12	0.035		
Total	0.4893	14			

Nota: No existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos

**ANDEVA Longitud de raíz**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	32.772	2	16.386	5.2397*	3.8853
Grupos	37.528	12	3.1273		
Total	70.3	14			

Nota: existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) al menos en alguno de los tratamientos.

**ANDEVA Ancho de raíz**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	1.9373	2	0.9687	12.3656*	3.8853
Grupos	0.94	12	0.0783		
Total	2.8773	14			

Nota: existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) al menos en alguno de los tratamientos.

**ANDEVA Número de raíces**

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>Fc</b>	<b>Ft (0.05)</b>
Tratamientos	30.7053	2	15.3527	3.37842 <sup>NS</sup>	3.8853
Grupos	54.532	12	4.5443		
Total	85.2373	14			

Nota: No existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos