

NANOFERTILIZANTES EN EL SUELO Y EMISIONES DE ÓXIDO NITROSO

Producto 4: Documento de investigación que demuestre la respuesta fisiológica de organismos bioindicadores terrestres frente a la exposición aguda a los nanofertilizantes.

Glenda Leonela Loor Aragundi, Willian Stalyn Guamán Marquines, Ezequiel Zamora Ledezma, Henry Antonio Pacheco Gil, Mónica Andrea Botero Londoño y Julián Mauricio Botero Londoño

2024



Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un mecanismo único de cooperación técnica entre países de América Latina, el Caribe y España, que promueve la competitividad y la seguridad alimentaria. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), FONTAGRO, de sus directorios ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido revisado y ajustado por el equipo técnico del proyecto: Ezequiel Zamora Ledezma, Henry Antonio Pacheco Gil, Mónica Andrea Botero Londoño y Julián Mauricio Botero Londoño. El documento original es el resultado de una tesis de pregrado de la carrera de Ingeniería Agrícola de la Universidad Técnica de Manabí (Ecuador), titulada “Respuesta fitotóxica de nanofertilizantes formulados con clinoptilolita, óxido de zinc y dióxido de titanio, empleando semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) en condiciones de laboratorio: Implicaciones agrícolas”, cuyos autores son los estudiantes Glenda Leonela Loor Aragundi y Willian Stalyn Guamán Marquines.

Copyright © 2025 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

FONTAGRO

Correo electrónico: fontagro@fontagro.org

www.fontagro.org



Tabla de Contenido

RESUMEN	7
ABSTRACT	8
Resumen EJECUTIVO	9
Introducción	10
Objetivo	12
Metodología	12
Preparación de nanomateriales y desarrollo de bioensayos	12
Diseño experimental	13
Bioindicador terrestre empleado	13
Preparación de las dosis de los tratamientos	13
Cálculos volumétricos para las preparaciones de los nanofertilizantes	14
Cálculos volumétricos para las preparaciones de nanomateriales	14
Bioensayos y calibración del efecto dosis-respuesta	15
Tóxico de referencia	16
Parámetros Evaluados	16
Análisis estadísticos	17
Resultados	18
Tasa de germinación de NM y NF	18
Elongación Radicular NM y NF	21
Elongación del hipocótilo de NM y NF	23
Biomasa seca de NM y NF	25
Índice de Germinación (%IG) de NM y NF	28
Concentración efecto medio (EC ₅₀) en NM y NF	34
Compuesto tóxico de referencia y verificación de la inocuidad del agente solubilizante	35
Discusión	36
Conclusiones	37



Referencias Bibliográficas	38
Instituciones participantes.....	41



ÍNDICE CUADROS

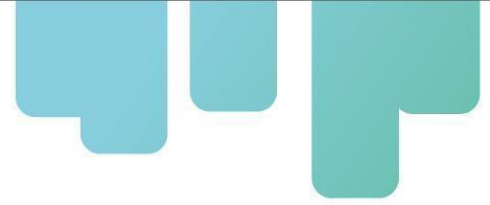
Cuadro 1. Descripción de los 6 tratamientos evaluados.....	13
Cuadro 2. Cálculos y relación peso-volumen para preparar las diferentes dosis de nanofertilizantes utilizados en el estudio.	14
Cuadro 3. Cálculos y relación peso-volumen para preparar las diferentes dosis de nanofertilizantes (NF) utilizados en el estudio.....	15
Cuadro 4. Número de individuos germinados en las diferentes dosis y tratamientos	18
Cuadro 5. Número de individuos germinados en las diferentes dosis y tratamientos de nanomateriales	20
Cuadro 6. Clasificación del Índice de germinación (IG%) según Zucconi	30
Cuadro 7. Clasificación del Índice de germinación (IG%) según Zucconi	33
Cuadro 8. Valores de EC ₅₀ (Concentración Efecto medio) obtenidos para los diferentes nanomateriales y nanofertilizantes en condiciones de laboratorio.	34

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Ubicación del Laboratorio de AgroEcosistemas y Cambio Climático (FAGROCLIM)....	12
Gráfico 2. Esquema conceptual del proceso metodológico aplicado en el presente estudio	16
Gráfico 3. Evolución de la tasa de germinación en semillas de lechuga (Lactuca sativa).	18
Gráfico 4. Evolución de la tasa de germinación en semillas de lechuga (Lactuca sativa)..	20
Gráfico 5. Elongación radical (mm) por dosis..	21
Gráfico 6. Elongación de radícula (mm) por dosis, en cada uno de los tratamientos de nanomateriales..	22
Gráfico 7. Promedio de elongación del hipocótilo (mm) por dosis, en cada uno de los tratamientos de nanofertilizantes..	23
Gráfico 8. Promedio de elongación del hipocótilo (mm) por dosis, en cada uno de los tratamientos de nanomateriales.	24
Gráfico 9. Biomasa seca (mg) de las plántulas de Lactuca sativa, en casa una de las dosis de nanofertilizantes.	25
Gráfico 10. Biomasa seca (mg) de las plántulas de Lactuca sativa, en cada una de las dosis de nanomateriales.	27
Gráfico 11. Porcentaje de germinación relativo (PGR) de semillas de lechuga en respuesta a los	

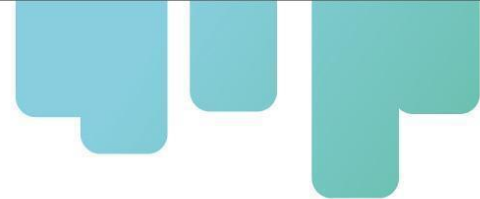


tratamientos con nanofertilizantes..	28
Gráfico 12. Crecimiento de radícula relativa (CRR) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanofertilizantes..	29
Gráfico 13. Índice de germinación (IG) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanofertilizantes (NF).	29
Gráfico 14. Porcentaje de germinación relativo (PGR) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanomateriales.	31
Gráfico 15. Crecimiento relativo de la radícula (CRR) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanomateriales..	32
Gráfico 16. Índice de germinación (IG) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanomateriales.	33
Gráfico 17. Sensibilidad de las semillas de Lechuga (<i>Lactuca sativa</i>) expuestas a las diferentes concentraciones de dicromato de potasio	35



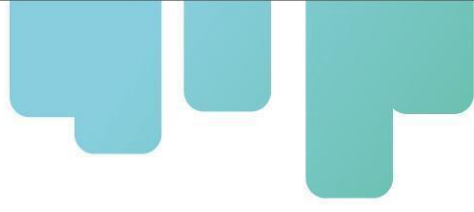
RESUMEN

La aplicación excesiva de fertilizantes nitrogenados en la agricultura genera efectos negativos, contribuyendo a la degradación del suelo, lixiviación de compuestos químicos y generación de gases de efecto invernadero. En este contexto, los nanofertilizantes emergen como una alternativa viable para mejorar el uso de nutrientes, reduciendo los impactos ambientales y mejorando la eficiencia en la fertilización. El objetivo de este estudio fue evaluar la fitotoxicidad de nanofertilizantes en condiciones controladas y verificar la factibilidad de su aplicación en parcelas productivas experimentales con maíz (*Zea mays*). La evaluación fitotoxicológica, enmarcada en un proyecto binacional FONTAGRO (Colombia -Ecuador), se llevó a cabo empleando 3 nanomateriales (NM): óxido de zinc, dióxido de titanio y zeolita, y 3 nanofertilizantes (NF), y 1 tóxico de referencia ($K_2Cr_2O_7$). Se realizaron pruebas de fitotoxicidad aguda con semillas comerciales de *Lactuca sativa* (método OECD-208), considerando 6 dosis y 50 semillas por concentración. Se determinó: supervivencia (%), longitud radicular y del hipocótilo, biomasa seca, índice de germinación y concentración efecto media (EC_{50}). Se observaron patrones de dosis-respuesta similares para la supervivencia, biomasa seca y el índice de germinación en los nanomateriales y nanofertilizantes, aunque las dosis seleccionadas para éstos últimos fueron mucho menores (0,5 – 3 %) que para los nanomateriales (10 – 50 %). La supervivencia en los controles siempre resultó cercana a 100 % en los nanofertilizantes y alrededor de 80 % en los nanomateriales. Las elongaciones de raíz e hipocótilo fueron globalmente mayores en los nanofertilizantes comparado con los nanomateriales. No obstante, no se encontraron diferencias importantes entre dosis. Los cálculos de las EC_{50} indican que el nivel de toxicidad de los nanomateriales es mucho mayor al observado en los nanofertilizantes. Proponiendo el siguiente ranking de mayor a menor peligrosidad ambiental potencial: nanomaterial 3 > nanomaterial 1 > nanomaterial 2 > nanofertilizante 2 > nanofertilizante 3 > nanofertilizante 1, siendo el nanomaterial 3 el compuesto xenobiótico más tóxico y el nanofertilizante 1 en el extremo opuesto, la mezcla menos tóxica. Queda demostrado que es posible alterar la toxicidad potencial de un compuesto o mezcla por efecto de aditividad. Por ello, se recomienda tener cuidado al aplicar nanofertilizantes en sistemas productivos abiertos.



ABSTRACT

The excessive application of nitrogen fertilizers in agriculture generates negative effects, contributing to soil degradation, leaching of chemical compounds and generation of greenhouse gases. In this context, nanofertilizers emerge as a viable alternative to improve nutrient use, reducing environmental impacts and improving fertilization efficiency. The objective of this study was to evaluate the phytotoxicity of nanofertilizers under controlled conditions and to verify the feasibility of their application in experimental production plots with maize (*Zea mays*). The phytotoxicological evaluation, framed in a binational FONTAGRO project (Colombia-Ecuador), was carried out using 3 nanomaterials (NM): zinc oxide, titanium dioxide and zeolite, and 3 nanofertilizers (NF), and 1 reference toxicant ($K_2Cr_2O_7$). Acute phytotoxicity tests were performed with commercial seeds of *Lactuca sativa* (OECD-208 method), considering 6 doses and 50 seeds per concentration. Survival (%), root and hypocotyl length, dry biomass, germination index and mean effect concentration (EC50) were determined. Similar dose-response patterns were observed for survival, dry biomass and germination index for nanomaterials and nanofertilizers, although the doses selected for the latter were much lower (0.5 - 3 %) than for nanomaterials (10 - 50 %). Survival in controls was always close to 100 % for nanofertilizers and around 80 % for nanomaterials. Root and hypocotyl elongations were globally higher in the nanofertilizers compared to the nanomaterials. However, no significant differences were found between doses. EC50 calculations indicate that the toxicity level of nanomaterials is much higher than that observed for nanofertilizers. Proposing the following ranking from highest to lowest potential environmental hazard: nanomaterial 3 > nanomaterial 1 > nanomaterial 2 > nanofertilizer 2 > nanofertilizer 3 > nanofertilizer 1, with nanomaterial 3 being the most toxic xenobiotic compound and nanofertilizer 1 at the opposite extreme, the least toxic mixture. It is demonstrated that it is possible to alter the potential toxicity of a compound or mixture by additivity effect. Therefore, it is recommended to be careful when applying nanofertilizers in open production systems.



RESUMEN EJECUTIVO

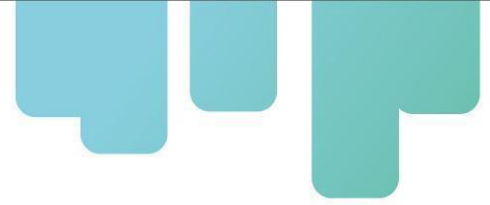
El presente estudio evaluó la fitotoxicidad de nanofertilizantes y su viabilidad para la aplicación en la agricultura sostenible, con énfasis en la producción de maíz en Ecuador y Colombia, lo que corresponde al cuarto producto del proyecto “nanofertilizantes en el suelo y emisiones de óxido nitroso”. Se analizaron tres formulaciones de nanofertilizantes a base de óxido de zinc (ZnO), dióxido de titanio (TiO₂) y zeolita, mediante ensayos fitotoxicológicos bajo condiciones controladas. La investigación permitió determinar su impacto sobre la germinación, el crecimiento radicular y la biomasa seca en semillas de *Lactuca sativa*, un bioindicador ampliamente reconocido para estudios de toxicidad ambiental.

Los resultados mostraron diferencias significativas en la respuesta fisiológica de las plántulas según la formulación y la concentración del nanofertilizante aplicado. Mientras que dosis bajas de los nanofertilizantes no afectaron negativamente la germinación ni el desarrollo inicial, concentraciones superiores a ciertos umbrales generaron reducciones en la elongación radicular e hipocotilar, así como disminuciones en el índice de germinación. La determinación de la concentración efecto medio (EC₅₀) permitió establecer un ranking de toxicidad, evidenciando que los nanomateriales en su forma pura presentan una toxicidad mayor en comparación con las formulaciones combinadas con fertilizantes convencionales.

Estos hallazgos tienen implicaciones clave para la adopción de nanofertilizantes en la producción de maíz. La aplicación controlada de estas formulaciones podría mejorar la eficiencia del uso de nutrientes y reducir la lixiviación de compuestos químicos, disminuyendo así el impacto ambiental de la fertilización convencional. Sin embargo, la investigación resalta la importancia de definir dosis óptimas para evitar efectos adversos en el crecimiento vegetal y garantizar la seguridad de los cultivos en sistemas productivos abiertos.

La evaluación de la fitotoxicidad es un paso fundamental antes de la implementación masiva de nanofertilizantes en la agricultura. Este estudio proporciona información crítica para la regulación y el diseño de estrategias de manejo que maximicen los beneficios de esta tecnología emergente, asegurando su sostenibilidad en la producción agrícola de Ecuador y Colombia.

PALABRAS CLAVE: nanofertilizantes, agricultura sostenible, maíz, cambio climático, innovación agrícola.



INTRODUCCIÓN

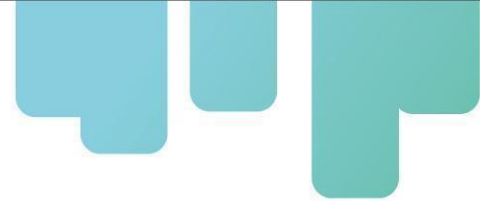
En los últimos años, el aumento demográfico mundial ha impulsado la búsqueda de enfoques alternativos para fomentar la producción agrícola sostenible (Alkhader, 2023), ya que se estima que la población humana podría alcanzar 11 mil millones de personas al 2030 (FAO, 2024). Esta situación supone un gigantesco incremento de la demanda de proteínas, vitaminas y en general de alimentos, por parte de los seres humanos, pero también un gran reto para lograr que la oferta de alimentos se produzca generando el menor impacto ambiental posible, en especial, en cuanto a la reducción de la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) y el uso indiscriminado de fertilizantes sintetizados químicamente (Saraiva et al., 2023).

La agricultura es responsable del 30% de las emisiones totales de gases de efecto invernadero (GEI) (Xu et al., 2023), emitiendo moléculas de dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) y óxido nitroso (N_2O) en diferentes actividades agrícolas. El dióxido de carbono CO_2 es el gas más leve que puede perdurar en la atmósfera durante un periodo de 100 a 150 años, es la molécula más emitida y ocupa un volumen total del 75%, se produce de forma natural por los animales durante la respiración y a través de la descomposición de la biomasa (Trespalcios et al., 2018). El metano es el gas de efecto invernadero más peligroso, representa una medida del 18% en la atmósfera, se degrada a partir de los 12 años y es emitido por la digestión del ganado, los residuos y la producción de energía. Una tonelada de metano puede calentar la tierra 23 veces más que una tonelada de dióxido de carbono (Paspuezan & Mozo Pillajo, 2023). El óxido nitroso es generado por la utilización de abonos en la agricultura, la producción de ácido nítrico y de ácido adípico. A diferencia del CO_2 este se encuentra en la menor medida, ocupando el 6% de volumen en la atmósfera. Es capaz de disiparse en 100 años y es unas 300 veces más letal que el dióxido de carbono (Ritchie et al., 2020).

Datos recientes proporcionados por la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2023) revelan que a nivel mundial el uso de fertilizantes nitrogenados anualmente es 109 millones de toneladas. En el caso de Ecuador, se registró que en los últimos años el uso de fertilizantes nitrogenados ha sido de 208 mil toneladas utilizadas anualmente (Ritchie et al., 2020). Los fertilizantes nitrogenados, junto con el tratamiento de los desechos animales, son los que aumentan particularmente la producción de óxido nitroso (Pasricha et al., 2023).

Ecuador no escapa a este desafío climático, siendo muy vulnerable a los cambios en las condiciones climáticas, ya que gran parte de su economía y productividad dependen de actividades sensibles al clima como la agricultura, la pesca y el uso de recursos naturales (Paspuezan & Mozo Pillajo, 2023). A nivel mundial se vienen generando muchas iniciativas y buenas prácticas agrícolas para incentivar la agricultura sostenible, rentable y eficiente, aplicando un sin número de tecnologías, metodologías y estrategias de manejo integral de sistemas agroproductivos. Algunos autores sostienen que dentro de esta gama de variantes o prácticas, ha emergido la aplicación de la nanotecnología (Choez, 2021) (Garg et al., 2024) (Nguyen et al., 2024).

La nanotecnología se refiere a toda tecnología y ciencia que opera a escala molecular, atómica y subatómica (Bala et al., 2023). Con precisión anatómica, tiene la capacidad de construir



materiales, producir y utilizar estructuras, dispositivos y sistemas mediante la manipulación de átomos y moléculas a nano escala (Acharya & Pal, 2020). En general la nanotecnología hace referencia a materiales y procesos que tienen una dimensión del orden 100 nanómetros que equivale en escala a la billonésima parte de un metro (García Ortiz, 2018).

La aplicación de la nanotecnología en la agricultura busca mejorar significativamente la eficiencia de los insumos agrícolas y, por tanto, ofrece una alternativa importante para mantener la productividad y al mismo tiempo promover la sostenibilidad de los agroecosistemas (Magnabosco et al., 2023), aumentando la producción agrícola, la inhibición de patógenos vegetales y la reducción de sustancias químicas liberadas al ambiente. Entre las tendencias recientes del uso de nanotecnología en el sector de la agricultura, ha venido ganando interés la creación de nuevos materiales, formulaciones y metodologías como nanosensores, nano pesticidas y nanofertilizantes (Budama-Kilinc et al., 2023), siendo este último grupo de compuestos el principal interés para este estudio.

El uso de la nanotecnología en los fertilizantes permite controlar la liberación eficiente de los nutrientes contenidos en el fertilizante (Hernández, 2022), mediante dosificación precisa en cantidad y tiempo. Las plantas o cultivos pueden entonces recibir la cantidad exacta de nutrientes necesarios para crecer y desarrollarse de forma adecuada, y así evitar el exceso de fertilizante que no es aprovechado, y que puede llegar a impactar el suelo y agua de manera negativa (Hernández, 2022; Magdaleno-García & Méndez-López, 2023). Los nanofertilizantes son formulaciones basadas en productos compuestos por nanopartículas (de origen biológico o químico), y macro o micronutrientes demandados por la mayoría de las especies vegetales y cultivos (Yadav et al., 2023).

A pesar del gran desarrollo de la agricultura y de la nanotecnología aplicada a la agricultura, existe muy poca información sobre la inocuidad de nanoformulaciones con fines de nutrición vegetal (Jiang et al., 2021). Por ello, además de verificar la eficiencia de los nanofertilizantes en el desarrollo de especies vegetales o cultivos, es sumamente importante constatar la potencial peligrosidad ambiental de estos compuestos, una vez liberados o puestos en contacto en ecosistemas naturales abiertos. Para ello, existen diferentes pruebas o ensayos internacionalmente reconocidos (OECD, USEPA, ISO, etc.), que permiten inferir el potencial efecto nocivo crónico o agudo, de cualquier compuesto xenobiótico, sobre organismos terrestres o acuáticos, comúnmente denominados bioindicadores. Estas pruebas se suelen realizar bajo condiciones controladas o semicontroladas para garantizar la reproducibilidad y la estabilidad de los resultados, mismos que se basan en procesos bioquímicos y mecánicos de tipo “dosis-respuesta” (Murphy et al., 2023).

En este contexto, el presente estudio pretende evaluar la toxicidad potencial de formulaciones de nanofertilizantes, empleando semillas de lechuga como bioindicador, bajo condiciones controladas.

OBJETIVO

El objetivo del proyecto es cuantificar el efecto del uso de nanofertilizantes en la eficiencia de fertilización y en la mitigación de emisiones de óxido nitroso. Se sintetizaron y caracterizaron tres formulaciones de nanofertilizantes a base de dióxido de titanio, óxido de zinc y zeolita, como propuesta alternativa y más eficiente, en comparación con la fertilización convencional.

Los objetivos específicos del presente producto nota técnica son:

- Determinar la toxicidad potencial de los nanofertilizantes a escala de laboratorio y evaluar el efecto de la adición de nanofertilizantes sobre la eficiencia en el uso de nutrientes.
- Presentar evidencias que demuestren la respuesta fisiológica de organismos bioindicadores terrestres frente a la exposición aguda a los nanofertilizantes.

METODOLOGÍA

Preparación de nanomateriales y desarrollo de bioensayos

Los nanomateriales se sintetizaron en el Parque Tecnológico de Guatiguará de la Universidad Industrial de Santander (UIS, Colombia). Los bioensayos de fitotoxicidad se realizaron en el Laboratorio de AgroEcosistemas y Cambio Climático (FAGROCLIM) de la Facultad de Ingeniería Agrícola, de la Universidad Técnica de Manabí (UTM) localizado en el Cantón Santa Ana, Ecuador (ver Gráfico 1).

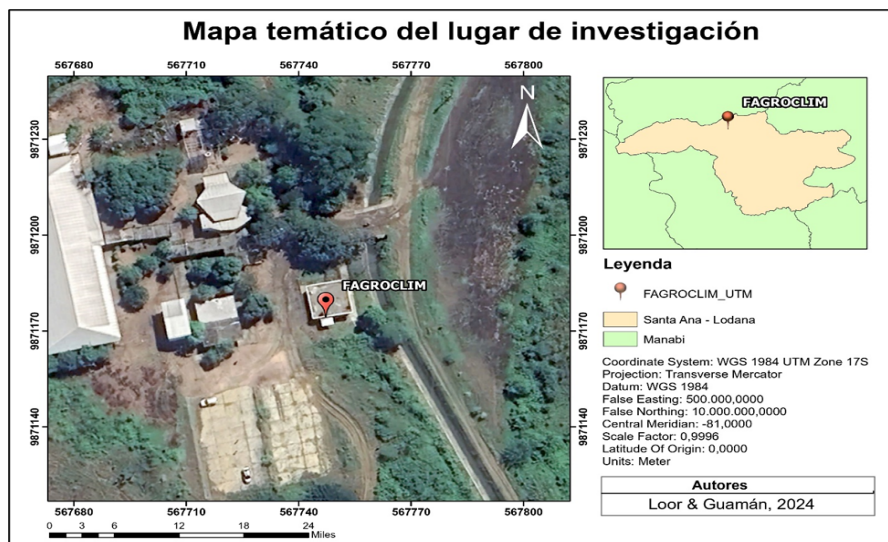


Gráfico 1. Ubicación del Laboratorio de AgroEcosistemas y Cambio Climático (FAGROCLIM).

Nota: El laboratorio se ubica en la Facultad de Ingeniería Agrícola, de la Universidad Técnica de Manabí (UTM). Gráfico elaborado con el software ArcMap y Google Earth Pro.

Diseño experimental

Se evaluaron 6 tratamientos en 2 grupos: 3 de nanomateriales y 3 de nanofertilizantes. Como nanomateriales (NM) se establecieron los siguientes: a) óxido de zinc (ZnO); b) dióxido de titanio (TiO₂); y c) zeolita, y como nanofertilizantes (NF): d) abono completo + óxido de zinc (ZnO); e) abono completo + dióxido de titanio (TiO₂); f) abono completo + zeolita (ver Cuadro 1).

Cuadro 1. Descripción de los 6 tratamientos evaluados

	Abreviatura moléculas	Descripción	Código
a)	n-ZnO	Nanopartícula de óxido de zinc	NM1
b)	n-TiO ₂	Nanopartícula de dióxido de titanio	NM2
c)	n-Zeolita	Nanopartícula de Zeolita	NM3
d)	AB -nZnO	Abono completo* + nano-Óxido de zinc	NF1
e)	AB -nTiO ₂	Abono completo* + nano-Dióxido de titanio	NF2
f)	AB - nCLIP	Abono completo* + nano-zeolita	NF3

*El abono completo es un fertilizante balanceado que contiene una: mezcla de Nitrógeno (N) (13.30%), Fósforo (P₂O₅) (16%), Potasio (K₂O) (20%), Calcio (CaO) (4%), Magnesio (MgO) (2.5%) y Azufre (S) (1.7%).

Se prepararon 5 dosis de nanomateriales (10; 20; 30; 40; 50%) y de nanofertilizantes (0; 0,5; 0,9; 1,2; 3%) más un control (agua destilada). Para la evaluación de cada tratamiento y dosis se emplearon 2 placas de Petri desechables (15 cm de diámetro) con 25 semillas de lechuga cada una, para un total de 50 individuos por dosis/sistema. El diseño factorial definitivo fue de 6 tratamientos x 6 dosis x 2 réplicas x 25 semillas = 6 x 6 x 2 x 25 (n = 1800).

Bioindicador terrestre empleado

Se utilizó la especie *Lactuca sativa* (lechuga) como bioindicador, debido a que su sistema radicular es significativamente más reducido en comparación con la parte aérea, lo que facilita la medición de los efectos fisiológicos de toxicidad. Además, esta especie es altamente sensible a los compuestos xenobióticos (Freitas et al., 2023), adaptándose de manera adecuada a las condiciones de laboratorio, con factores de crecimiento fácilmente controlables, y su germinación ocurre de manera óptima entre los 18 y 25 °C. Otro componente clave para su elección es que tiene un proceso de germinación rápido, permitiendo observar efectos tóxicos en pocas horas de incubación.

Preparación de las dosis de los tratamientos

Para asegurar una adecuada homogeneización de los nanomateriales con los fertilizantes al momento de preparar las mezclas, fue necesario someter a un proceso de molienda el abono

completo (MixPac NPK:12/16/20) empleado como fertilizante. Dado que el fertilizante se encontraba en formato de pellet con un tamaño de partícula mayor a 3 mm (diámetro). Para la molienda se utilizó un mortero y pistilo de cerámica hasta alcanzar un tamaño (<1 mm de diámetro) acorde para formular las dosis. En el caso de los nanomateriales (NM1, NM2 y NM3), estos no requirieron este proceso de molienda, ya que fueron nanoestructurados previamente de acuerdo con las condiciones presentadas en el producto 1 (<https://www.fontagro.org/new/uploads/productos/18959 - Producto 1.pdf>) de este proyecto.

Cálculos volumétricos para las preparaciones de los nanofertilizantes.

Una vez ejecutada la molienda y preparadas las diferentes mezclas de nanofertilizantes (ver Cuadro 2), se establecieron seis dosis (0; 0,5; 0,9; 1; 2; 3%), para cada nanofertilizante, incluyendo un control con 0% del compuesto xenobiótico.

Cuadro 2. Cálculos y relación peso-volumen para preparar las diferentes dosis de nanofertilizantes utilizados en el estudio.

Dosis de tratamiento	Agua destilada (%)	Nanofertilizante (%)	Volumen de agua (ml)	Volumen de nanofertilizante (g)
Control (H ₂ O)	100	0	5	0
D1	90	10	4,5	0,5
D2	80	20	4,0	1,0
D3	70	30	3,5	1,5
D4	60	40	3,0	2,0
D5	50	50	2,5	2,5

De acuerdo con el Cuadro 2, se puede apreciar que durante el montaje de los bioensayos se utilizó un volumen total de 5 ml de cada nanofertilizantes suspendido en agua destilada, para cada tratamiento y placas de Petri correspondientes.

Cálculos volumétricos para las preparaciones de nanomateriales

Similar a los cálculos realizados para los nanofertilizantes, se definieron las proporciones de las suspensiones con agua destilada (ver Cuadro 3), estableciéndose 6 dosis (0; 10; 20; 30; 40; 50%) para los nanomateriales 1 y 2 (NM1 y NM2) mientras que para el nanomaterial 3 (NM3) se definieron las siguientes dosis 0; 10; 20; 40; 50 y 60% respectivamente. La razón por la cual no se utilizaron las mismas dosis para los 3 nanomateriales fue porque el bioindicador utilizado (lechuga) respondió de manera diferente a estos materiales, necesitándose en el caso de NM3 una última dosis con 60% del xenobiótico para asegurar el 100% de mortalidad necesario para el bioensayo.

Cuadro 3. Cálculos y relación peso-volumen para preparar las diferentes dosis de nanofertilizantes (NF) utilizados en el estudio.

Dosis de tratamiento	Agua destilada (%)	Nanomaterial (%)	Volumen de agua (ml)	Volumen de nanomaterial (g)
Control (H ₂ O)	100	0	5	0
D1	90	10	4,5	0,5
D2	80	20	4,0	1,0
D3	70	30	3,5	1,5
D4	60	40	3,0	2,0
D5	50	50	2,5	2,5
D6	40	60	2,0	3,0

Bioensayos y calibración del efecto dosis-respuesta

Se realizaron bioensayos preliminares con cada uno de los 6 tratamientos evaluados, 3 nanomateriales y 3 nanofertilizantes, determinando solamente el porcentaje de supervivencia para calcular el rango de la respuesta fisiológica del bioindicador (lechuga) y así poder definir las dosis para el bioensayo definitivo. Una vez establecidas las dosis para los NM y NF, se procedió a aplicar la metodología 208 de la OECD para determinar la fitotoxicidad aguda (OECD, 2003; (Zamora-Ledezma & García, 2013), siguiendo el diseño establecido de 6 dosis con los 3 nanomateriales (dosis: 0; 10; 20; 30; 40; 50%) y con los 3 nanofertilizantes (dosis: 0; 0,5; 0,9; 1,0; 3%). En cada placa de Petri se colocó papel filtro Whatman N° 2 como soporte o sustrato, y 1,5 mL de cada dosis. La suspensión con la respectiva dosis se esparció homogéneamente por toda la superficie del sustrato (papel filtro). Seguidamente, se colocaron 25 semillas de lechuga en las placas de Petri (por duplicado), se cerraron herméticamente con ayuda de papel Parafilm y se mantuvieron en condiciones de oscuridad a 25 °C durante 120 horas (ver Gráfico 2).

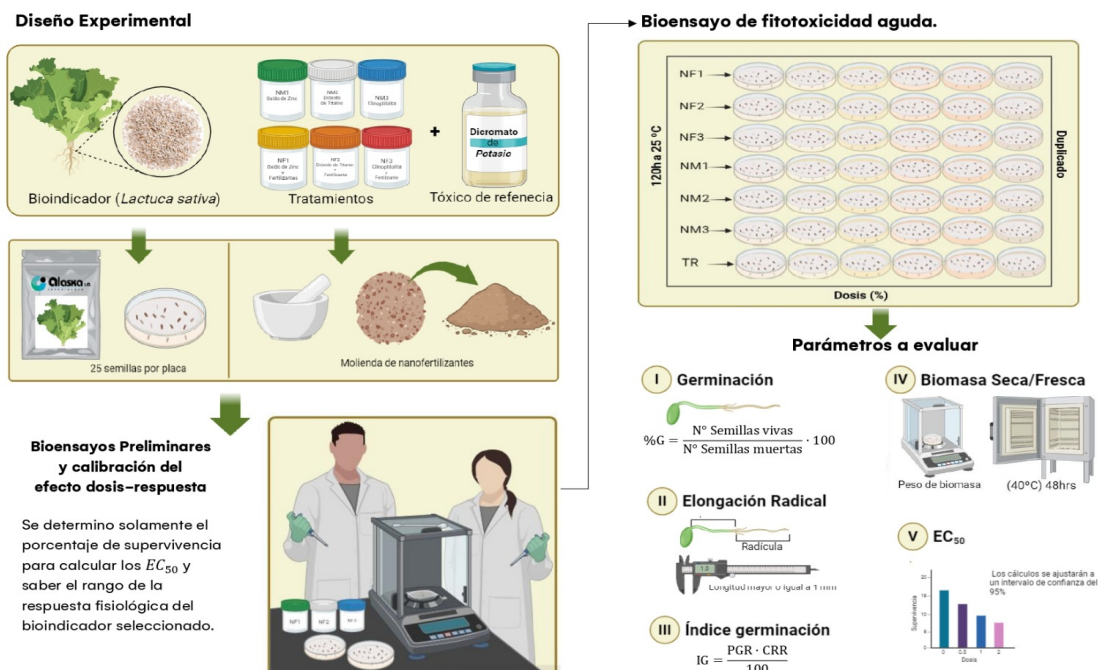


Gráfico 2. Esquema conceptual del proceso metodológico aplicado en el presente estudio

Tóxico de referencia

Se ejecutó un bioensayo adicional bajo las mismas condiciones previamente indicadas (OECD 208, 2003), utilizando dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) como compuesto tóxico de referencia, tal como ha sido descrito en García et al. (2014). Esta prueba se realizó para determinar la calidad del bioensayo y la sensibilidad de las semillas. Se prepararon 7 dosis de 0, 1, 100, 200, 500 y 1000 ppm, con el tóxico de referencia, siguiendo las mismas condiciones descritas para el resto de bioensayos.

Parámetros Evaluados

Una vez concluidos los diferentes bioensayos, se determinó la tasa de germinación (%), la longitud de la radícula (mm) y del hipocótilo (mm), la biomasa seca (mg), el índice de germinación (%) y la concentración efecto medio (EC_{50}).

- **Germinación:** se obtuvo cuantificando el número de semillas con una elongación de radícula mayor o igual a 1 mm, expresada en porcentaje (%). La germinación se determinó de la siguiente manera (Ecuación 1):

$$\%G = \frac{N^{\circ} \text{ semillas vivas}}{N^{\circ} \text{ semillas expuestas}} \cdot 100 \quad [1]$$

- **Elongación del radical e hipocótilo:** Utilizando un calibrador digital, se procedió a medir la longitud de la radícula en cada una de las plántulas, correspondientes a cada

concentración de los tratamientos y controles. La medida de elongación de la radícula se considerará desde el nudo (región más engrosada de transición entre la radícula y el hipocótilo) hasta el ápice radicular. La medida de elongación radicular se considerará a toda la parte de la plántula que se desarrolla por debajo de los cotiledones y que exhiba una longitud mayor o igual a 1 mm. De la misma manera, se midió la longitud del hipocótilo desde el nudo (la región de transición más gruesa entre la radícula y el hipocótilo) hasta el inicio de la inserción de los dos cotiledones.

- **Biomasa seca:** Se colocaron todos los individuos (germinados y no germinados) de la especie empleada (lechuga) por cada dosis-tratamiento, para obtener un valor acumulado único por tratamiento. Una vez terminado los bioensayos las plántulas fueron colocadas en recipientes separados en la estufa (40 °C) durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, se determinó la biomasa seca con ayuda de una micro balanza.
- **Índice de germinación:** Se determinó el porcentaje de germinación relativa (PGR) y el crecimiento de radícula relativa (CRR) para calcular el índice de germinación (GR), conforme a la metodología de Tiquia (2000) y Varnero et al., (2007)(Ecuación 2). El PGR se calculó como la proporción de semillas germinadas en el extracto respecto al total de semillas en el testigo, expresada en porcentaje. El CRR se obtuvo midiendo la elongación de las radículas en el extracto en comparación con el testigo.

$$PGR = \frac{N^{\circ} \text{ semillas germinadas en el extracto}}{N^{\circ} \text{ semillas germinadas en el testigo}} * 100$$

$$CCR = \frac{\text{Elongación de radícula en el extracto}}{\text{Elongación de radícula en el testigo}} * 100$$

$$\%IG = \frac{PGR * CCR}{100} \quad [2]$$

- **Concentración efecto medio (EC_{50}):** Se determinó a partir de los resultados obtenidos de la supervivencia de cada bioindicador en los respectivos tratamientos, empleando el método trimmed spearman-karber (ajuste y modelo Probit) (García et al., 2014). Los cálculos se ajustaron a un intervalo de confianza del 95% y para verificar el rango de toxicidad se calcularon los límites inferiores y superiores asociados a cada EC_{50} .

Análisis estadísticos

Se realizó análisis de estadística descriptiva como promedios, desviaciones estándar y error típico, para todos los parámetros evaluados. Se efectuaron también pruebas paramétricas de análisis de varianza de una vía (ANOVA) para identificar diferencias estadísticas entre promedios de cada parámetro en las diferentes dosis aplicadas.

RESULTADOS

Tasa de germinación de NM y NF

En el Gráfico 3 se observa la influencia de diferentes dosis de NF sobre la germinación de *Lactuca sativa*. A concentraciones bajas (0,5%), el porcentaje de germinación se mantiene elevado, con valores cercanos al 100% de germinación. Sin embargo, a partir de la concentración del 0,9%, se registra una disminución notable en el tratamiento NF1 (abono completo + nano-óxido de zinc), mientras que en los tratamientos NF2 (abono completo + nano-dióxido de titanio) y NF3 (abono completo + zeolita) la germinación también empieza a reducirse, aunque de una manera más leve. A dosis superiores, como en la concentración del 2%, se manifiesta una notable reducción en el porcentaje de germinación para todos los tratamientos, lo que indica un claro efecto fitotóxico en estas dosis más elevadas. Finalmente, la dosis del 3%, representa una total inhibición de la germinación, indicando que esta concentración resulta letal para las semillas en todos los tratamientos evaluados.

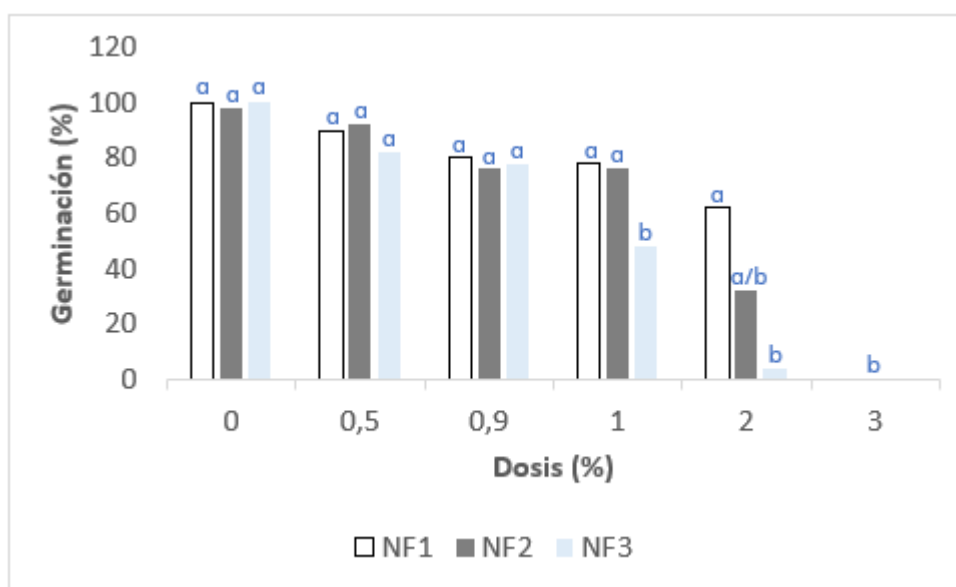
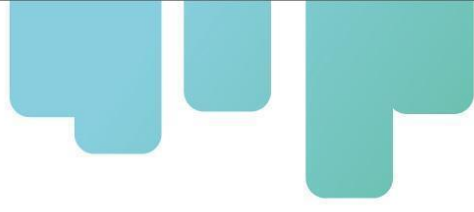


Gráfico 3. Evolución de la tasa de germinación en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*). Nota: Evolución de la tasa de germinación en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) expuestas a diferentes concentraciones de nanofertilizantes (NF1, NF2 y NF3) durante un periodo de 120 horas a 25°C. Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ANOVA ($P \leq 0.05$).

Como referencia, se incluye el Cuadro 4 que detalla el número de individuos germinados en cada dosis y tratamientos evaluados.

Cuadro 4. Número de individuos germinados en las diferentes dosis y tratamientos

Dosis (%)	NF1	NF2	NF3
0	50	49	50



0,5	45	46	41
0,9	40	39	38
1	39	38	24
2	31	16	2
3	0	0	0

En el Gráfico 4, se observa el efecto de las concentraciones de nanomateriales NM1 (nano-óxido de zinc), NM2 (nano-dióxido de titanio) y NM3 (nano-zeolita) en la germinación de *Lactuca sativa*. A diferencia de los nanofertilizantes, en los cuales las dosis letales para la germinación se encontraron en un rango de 0 a 3%, los nanomateriales en esta evaluación se aplicaron en dosis más altas, que alcanzan hasta el 60%. Esto se debe a que los nanomateriales, en este caso, no se mezclan directamente con abono completo, sino que se evalúan en concentraciones más elevadas para estudiar sus efectos aislados.

Los nanofertilizantes se emplean en una mezcla con abono completo para proporcionar un balance de nutrientes que favorezca el crecimiento y desarrollo de las plántulas, mientras que los nanomateriales en altas dosis permiten evaluar de forma específica su impacto en la germinación sin la influencia de otros nutrientes.

El Gráfico 4(A), presenta los tratamientos NM1 y NM2, los cuales muestran una tendencia descendente en la germinación a medida que la dosis se incrementa desde el 0% hasta el 50%. En ambos casos, la germinación comienza cerca del 90% y disminuye de forma abrupta: NM1 alcanza el 0% de germinación al 50%, mientras que NM2 llega a niveles muy bajos, cercanos a 10% en esa misma concentración. Esto indica que dosis mayores de estos nanomateriales tienen un efecto letal sobre las semillas, interrumpiendo su capacidad de germinar en dosis superiores a aproximadamente el 40%. Por otro lado, en el Gráfico 4(B) se muestra el tratamiento NM3, que fue aplicado en un rango de dosis más amplio, hasta el 60%. A diferencia de NM1 y NM2, el NM3 presenta una reducción más gradual en la germinación; empieza alrededor del 90% en dosis bajas y mantiene la germinación por encima del 50% hasta cerca del 30% de dosis. Sin embargo, a partir de ahí, el porcentaje de germinación comienza a descender rápidamente, alcanzando el 0% en una concentración de 60%.

Este comportamiento sugiere que NM3 es menos tóxico para las semillas en dosis bajas a medias, lo cual se debe a su formulación con una zeolita o al hecho de que se aplica como un nanomaterial puro, sin mezclarse con un abono completo.

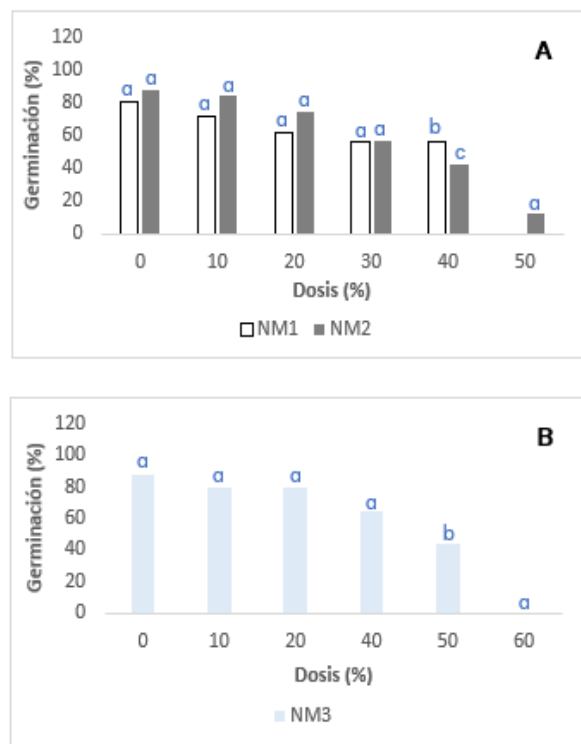


Gráfico 4. Evolución de la tasa de germinación en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*). Nota: Evolución de la tasa de germinación en semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) expuestas a diferentes concentraciones de nanomateriales NM1, NM2(A), y NM3(B) durante un periodo de 120 horas a 25°C. Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ANOVA ($P \leq 0.05$).

Como referencia, se incluye el Cuadro 5 que detalla el número de individuos germinados en cada dosis y tratamientos de nanomateriales (NM) evaluados. Se observa como la germinación se inhibe a partir de dosis de 50 y 60%, tal como se ha descrito previamente.

Cuadro 5. Número de individuos germinados en las diferentes dosis y tratamientos de nanomateriales

Dosis (%)	NM1	NM2	NM3
0	40	44	44
10	36	42	40
20	31	37	-
30	28	28	40
40	28	21	32
50	0	6	22
60	-	-	0

Elongación Radicular NM y NF

La evaluación de la longitud radicular en plántulas de lechuga expuestas a diferentes dosis de nanofertilizantes, así como al control sin tratamiento, revelan diferencias en el crecimiento de las radículas. Los valores promedio de longitud radicular obtenidos en el control (0%) fueron de 7,01 mm en NF1, 8,84 mm en NF2 y 8,51 mm para el NF3. Estos resultados demuestran que a medida que se incrementa la dosis de los 3 NF se evidencia una mayor inhibición del desarrollo radicular de las plántulas de lechuga.

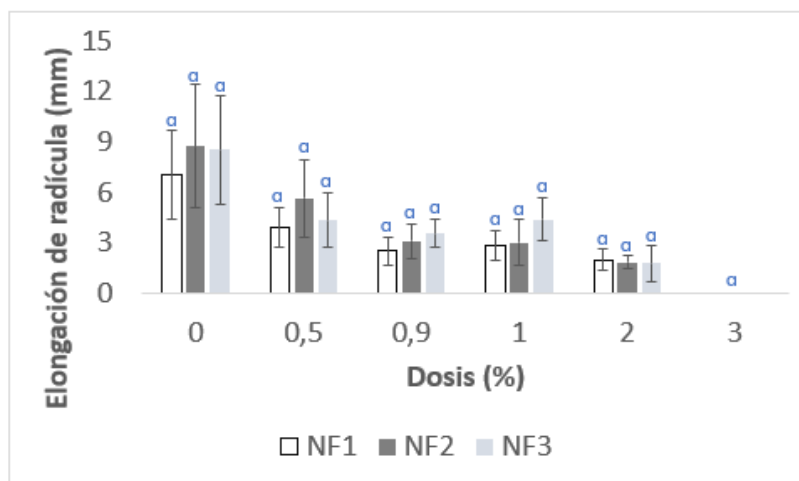


Gráfico 5. Elongación radical (mm) por dosis. Nota: Elongación radical (mm) por dosis, en cada uno de los tratamientos de nanofertilizantes; NF1 (abono completo + nano-óxido de zinc); NF2 (abono completo + nano-dióxido de titanio); y NF3 (abono completo + nano-zeolita). Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ANOVA ($P \leq 0.05$).

El Gráfico 5 demuestra como los resultados en las elongaciones radicales de las plántulas de lechuga varían en las diferentes dosis dependiendo de cada tratamiento de nanofertilizante. De esta manera se evidencia que, a medida que se aplica una dosificación superior de cada NF en las placas se genera una reducción en la longitud promedio de las radículas de las plántulas de lechuga. Sin embargo, en la reducción de elongación radical se observó un incremento inesperado en la dosis del 1% para los 3 tratamientos de nanofertilizantes (NF1, NF2 y NF3) lo cual sugiere que, para esa concentración los nanofertilizantes pueden ser promotores del desarrollo radical.

La elongación radicular promedio en las dosis del 2% disminuyó significativamente en los tratamientos con nanofertilizantes en comparación con el control, mostrando una reducción del 72,03% en NF1, 79,06% en NF2, y 79,4% en el tratamiento de NF3. Los promedios generales en las longitudes fueron para NF1 $\bar{x} = 3,01 \text{ mm}$, para NF2 $\bar{x} = 3,71 \text{ mm}$ y para NF3 $\bar{x} = 3,75 \text{ mm}$. A pesar de las diferencias entre los tratamientos, se observa un patrón consistente en la respuesta fisiológica de *Lactuca sativa* ante la aplicación de nanofertilizantes, lo que indica que los efectos de estos compuestos siguen un comportamiento estable y predecible en cuanto a la elongación de la radícula.

Los tratamientos con NM1 (nano-óxido de zinc) y NM2 (nano-dióxido de titanio) mostraron una disminución significativa en la elongación radicular a medida que se incrementa la dosis de nanomaterial. Sin embargo, el tratamiento de NM3 (nano-zeolita) presentó un patrón de respuesta diferente, con una menor afectación sobre la elongación de la radícula. Estos resultados sugieren que la toxicidad de las nanopartículas evaluadas varía según su composición química y concentración.

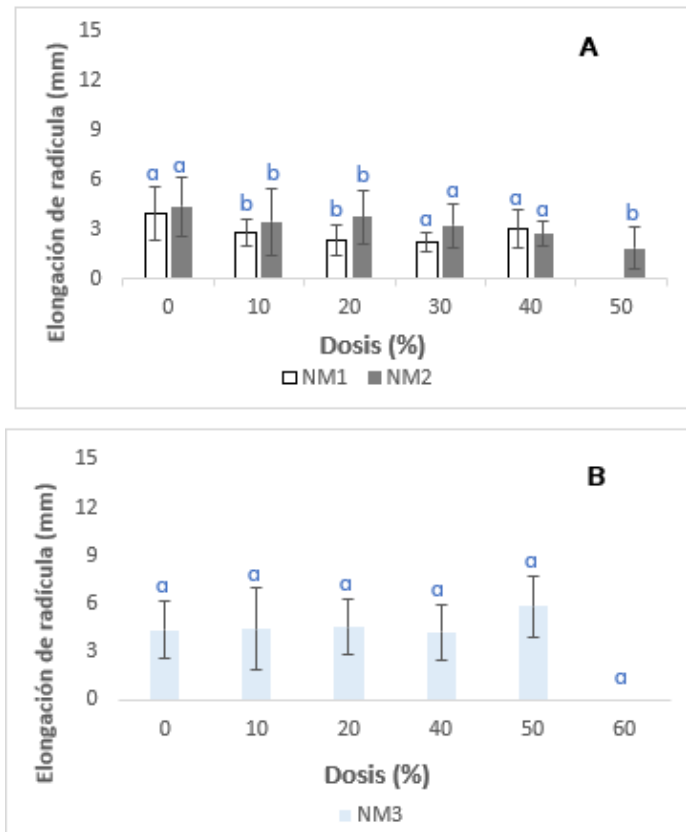


Gráfico 6. Elongación de radícula (mm) por dosis, en cada uno de los tratamientos de nanomateriales. Nota: NM1 (nano-óxido de zinc); NM2 (nano-dióxido de titanio); y NM3 (nano-zeolita). Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ANOVA ($P \leq 0.05$).

En el Gráfico 6(A) se observa que los nanomateriales NM1 (nano-óxido de Zinc) y NM2 (nano-dióxido de titanio) presentan una elongación radicular relativamente constante en dosis intermedias (10%, 20%, 30%), donde los valores de NM1 se mantienen entre un 2 mm, mientras que para NM2 se sitúan en un 3 mm. Al comparar con el control (0%) NM1 presenta una reducción significativa en la elongación radicular a una dosis alta de 40%, con una disminución del 23% en su tamaño. No obstante, la dosis del 30% de NM1 provoca la mayor reducción, alcanzando un promedio de 44%. Por el contrario, NM2 muestra su mayor disminución en la elongación de radícula a dosis del 40%, con una reducción del 37% respectivamente.

Por otro lado, el nanofertilizante NM3 exhibe un comportamiento diferente a la del NM1 y NM2, tal como se presenta en el Gráfico 6(B). Las longitudes radiculares de NM3 se mantienen estables, con un promedio de longitud cercano a 4 mm, desde el control (0%) hasta la dosis de 40%. En dosis de 50%, se registra un ligero incremento en la elongación de radícula aumentando un valor del 39% y la mayor reducción de elongación radicular ocurre en dosis de 40% con un valor de 3 mm en relación con el control (0%).

En promedios generales de elongación radicular en dosis de 0 a 50 % fueron de $\bar{x} = 2$ mm para NM1, $\bar{x} = 3$ mm para NM2 y en dosis de 0 a 60 % fue de $\bar{x} = 4$ mm para NM3. Estos resultados nos indican que los nanomateriales evaluados ejercen efectos diferenciados sobre el crecimiento radicular. Mientras que NM1 Y NM2 inhibe significativamente el crecimiento a ciertas dosis, NM3 lo estimula.

Elongación del hipocótilo de NM y NF.

Los valores promedio de longitud del hipocótilo en el control 0% no variaron significativamente para los tratamientos, teniendo medidas de 9,38 mm en NF1, 9,40 mm en NF2 y 8,33 mm en NF3 respectivamente, confirmando su similitud en su efecto sobre el crecimiento de las plántulas.

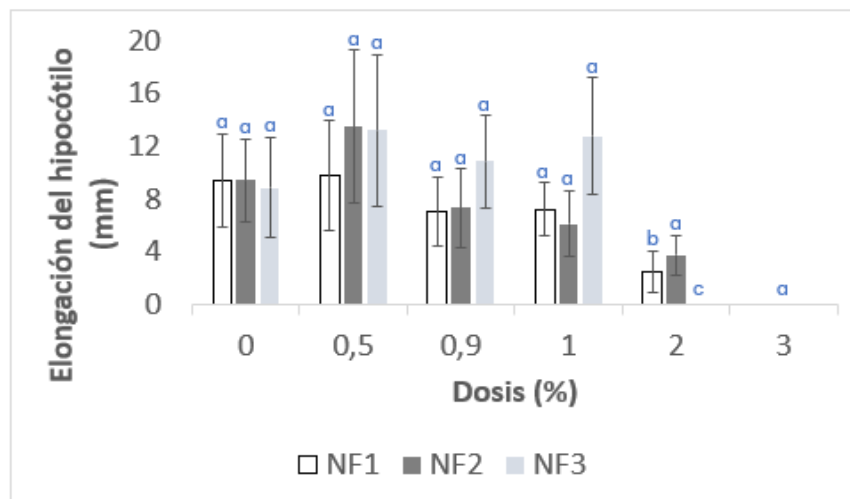


Gráfico 7. Promedio de elongación del hipocótilo (mm) por dosis, en cada uno de los tratamientos de nanofertilizantes. Nota: NF1 (abono completo + nano-óxido de zinc); NF2 (abono completo + nano-dióxido de titanio); y NF3 (abono completo + nano-zeolita). Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ANOVA ($P \leq 0.05$).

El Gráfico 7 ilustra el comportamiento de la longitud del hipocótilo para todos los tratamientos, revelando que con una dosis de 0,5% las plántulas tratadas con NF2 y NF3 mostraron un mayor desarrollo, alcanzado un crecimiento de 13,48 mm y 13,17 mm, superando a NF1 el cual alcanzó 9,74 mm. En concentraciones mayores como el 2%, se observó una disminución pronunciada en la elongación del hipocótilo, donde los tratamientos NF1 y NF2 redujeron un > 80% su tamaño, mientras que para NF3 no se mostró crecimiento alguno. Finalmente, a una concentración de 3%

no se observó desarrollo del hipocótilo en ninguno de los tratamientos, indicando así la inhibición de la semilla de lechuga provocada por el efecto tóxico de nanofertilizantes.

El análisis en el crecimiento del hipocótilo también mostró los promedios en sus longitudes, siendo de $\bar{x} = 6$ mm para NF1, $\bar{x} = 7$ mm para NF2 y $\bar{x} = 8$ mm para NF3. De manera similar a lo observado en el desarrollo radicular, se identificó una reducción de la longitud del hipocótilo conforme aumenta la concentración de NF, sin embargo, en este caso, los tres tratamientos presentaron un patrón de crecimiento diferente, aumentando su longitud con dosis bajas de nanofertilizantes y disminuyendo progresivamente a medida que las concentraciones aumentaban. Esto señala que existe una concentración óptima por debajo de la cual los nanofertilizantes mejoran la elongación del hipocótilo, pero al excederlo, se vuelve tóxico para las plántulas.

Los resultados obtenidos para las elongaciones de hipocótilo expuestas a diferentes nanomateriales NM1 (nano-óxido de zinc), NM2 (nano-dióxido de titanio) y NM3 (nano-zeolita) demuestra que existe una leve variabilidad de las diferentes dosis con respecto al control (0%) sin nanomaterial. De manera general los promedios encontrados para los tres tratamientos evaluados fueron; $\bar{x}=2$ mm en NM1, $\bar{x}=3$ mm para NM2 y $\bar{x}=4$ mm para NM3. En lo que respecta a los controles (0%) los promedios encontrados para NM2 y NM3 permaneció constante con un 4% en ambos, mientras que para NM1 el promedio fue de 3%. Estos resultados nos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de control, a pesar de la variabilidad observada.

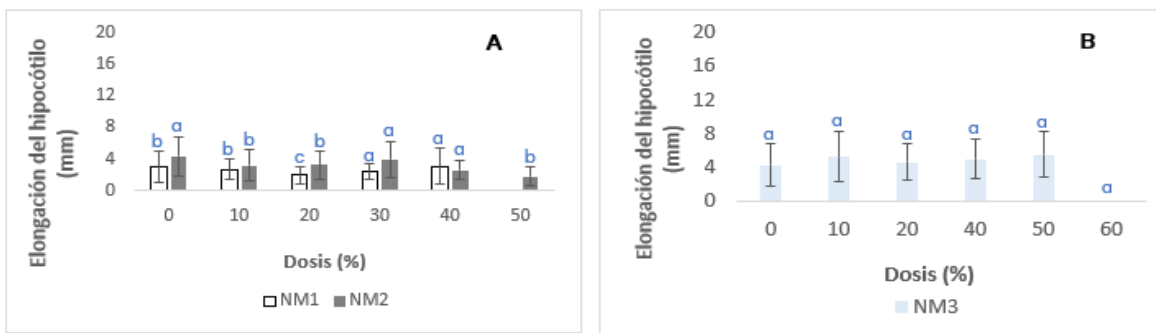


Gráfico 8. Promedio de elongación del hipocótilo (mm) por dosis, en cada uno de los tratamientos de nanomateriales. Nota: NM1 (nano-óxido de zinc); NM2 (nano-dióxido de titanio); y NM3 (nano-zeolita). Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ANOVA ($P \leq 0.05$).

En el Gráfico 8(A) se observa el comportamiento de la elongación del hipocótilo en respuesta a diferentes concentraciones de nanomateriales NM1 (óxido de zinc) y NM2 (dióxido de titanio). Los resultados muestran que, para el caso de NM1 la dosis del 40% alcanza la mayor elongación del hipocótilo, con un promedio de 3,1 mm, superando al control (0%). Para NM2, la mayor elongación se registró en la dosis del 30% con un promedio de 4 mm, siendo comparable con el control.

Así mismo el Gráfico 8(B) correspondiente a NM3 (nano-zeolita), la mayor elongación del hipocótilo se observa en dosis altas del 50% con un promedio de 5 mm, mientras que a dosis de 60% se presenta una disminución significativa. La menor elongación para NM3 se evidencia en dosis de 20% con un promedio de 5 mm inferior a las obtenida en el control (0%) y en las demás concentraciones evaluadas (10%, 40% y 50%). Estos resultados sugieren que la respuesta de elongación del hipocótilo varía según el tipo de nanomaterial y la dosis aplicada, destacando la necesidad de ajustar las concentraciones según el material para optimizar los efectos en el crecimiento de las plántulas.

Biomasa seca de NM y NF

El Gráfico 9 muestra el patrón general de la respuesta de biomasa seca en las tres formulaciones de nanofertilizantes (NF1, NF2 y NF3), donde refleja un aumento de la biomasa a medida que se incrementa la dosis.

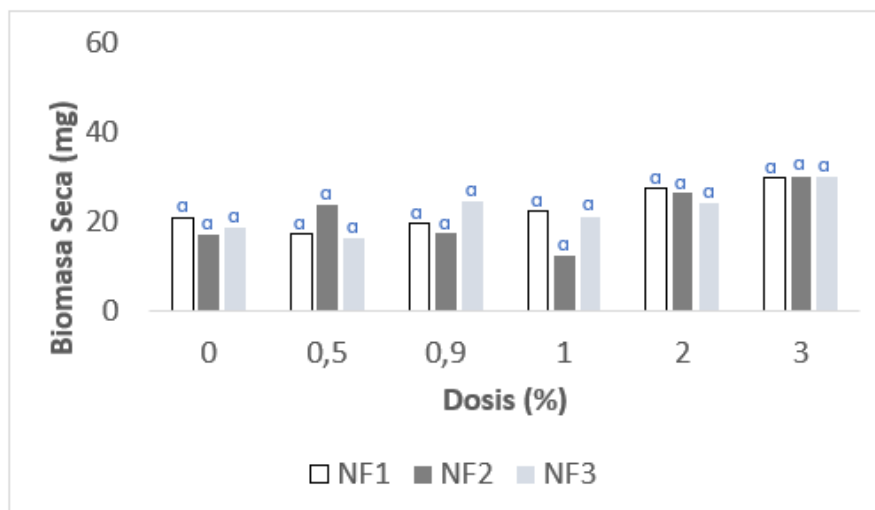
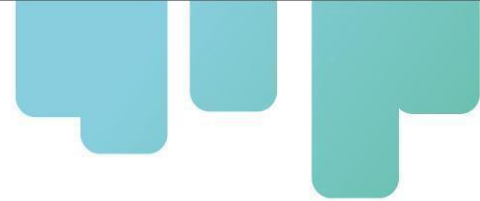


Gráfico 9. Biomasa seca (mg) de las plántulas de *Lactuca sativa*, en casa una de las dosis de nanofertilizantes Nota: NF1 (abono completo + nano-óxido de zinc); NF2 (abono completo + nano-dióxido de titanio); y NF3 (abono completo + nano-zeolita). Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ANOVA ($P \leq 0.05$).

La biomasa seca evidenció un ligero crecimiento conforme aumentaron las concentraciones de nanofertilizantes, con ciertos tratamientos destacando uno más que otros. No obstante, a nivel estadístico no se observaron diferencias entre dosis, lo que significa que este parámetro no resultó ser un buen descriptor del proceso de toxicidad de los NF sobre las semillas de lechuga. Los valores de biomasa seca variaron desde 17,1mg hasta 29,85 mg en las dosis evaluadas (0 % a 3%).

La biomasa seca en presencia del NF1 incrementó muy ligeramente a medida que aumentó la concentración. En las dosis de 0,5 y 0,9%, los valores se mantuvieron cercanos a los 17,35 mg y



19,6 mg, respectivamente, alcanzando un máximo de 29,6 mg en la dosis más alta de 3%. En el caso del NF2, se observó un aumento paulatino y leve de la biomasa a bajas concentraciones, alcanzando 23,6 mg en la dosis del 0,5%. Sin embargo, a partir de 0,9% los valores disminuyeron, llegando a 12 mg en 1%. A pesar de este declive, a partir del 2% se observó un aumento de la biomasa seca llegando así a 29,7 mg en dosis de 3%, que es la segunda biomasa más alta entre todas las dosis y nanofertilizantes evaluados. Esto sugiere que el NF2 tiene un efecto no lineal, con una reducción a dosis intermedias pero una recuperación significativa en concentraciones más altas. Por otro lado, NF3 mostró un comportamiento diferente ya que la dosis más baja 0,5% presentó un valor menor y al 0,9% un valor mayor de biomasa seca en comparación con NF1 y NF2. Sin embargo, el valor máximo de biomasa seca registrado en todas las formulaciones es: NF3 al 3% con un valor de 29,85 mg.

Los cambios globales de la biomasa seca en relación con el control de cada tratamiento fue la siguiente: Disminución de -16,14% en la dosis de 0,5%. Aumento progresivo hasta un 42,99% en la dosis de 3% en NF1, y NF2 aumentó de 38,42% en la dosis de 0,5%. La mayor disminución ocurre en la dosis de 1% con -29,09% y el aumento máximo es del 74,27% en la dosis de 3%. Para NF3 ocurre disminución de -12,14% en la dosis de 0,5%, el aumento más alto es del 60,95% en la dosis de 3%. En resumen, NF2 muestra el mayor aumento en la dosis más alta (74,27%), mientras que NF1 tiene un aumento más moderado. NF3 presenta una disminución en la dosis más baja, pero también tiene un aumento significativo en las dosis más altas.

De forma similar a los resultados obtenidos con nanofertilizantes, el Gráfico 10 describe el patrón general de biomasa seca de los tres tratamientos evaluados de nanomateriales NM1 (nano-óxido de zinc), NM2 (nano-Dióxido de titanio) y NM3 (nano-zeolita), donde se puede observar incremento de biomasa a medida que se incrementa las concentraciones de nanomateriales.

El Gráfico 10(A) muestra la respuesta con respecto a NM1 y NM2, donde los valores de biomasa seca variaron desde 27 mg hasta 50 mg en dosis evaluadas de 0% a 50%, mientras que para NM3 los valores variaron desde 27 mg hasta 57 en el rango de dosis 0% a 60%. Para NM1 la biomasa seca se incrementó a ligeramente desde el control 0% con 27 mg hasta llegar a dosis intermedia de 30% con un peso promedio de 39 mg, para luego disminuir 38 mg en la dosis de 40% y 50% con 34 mg, pero estas siendo mayor al control (0%). En NM2 sucede algo similar, el mayor peso recae en dosis altas de 40% con un peso promedio de 50 mg y decae ligeramente en 50% con 45 mg siendo estos al control inicial (0%) cuyo peso es de 28 mg y el cual se mantiene en dosis de 10%. Por otro lado, el Gráfico 10(B) muestra los resultados para NM3 si bien las dosis evaluadas son distintas que NM1 y NM2, el patrón de respuesta es similar a concentraciones altas (50%) la biomasa aumenta 57 mg y a concentraciones bajas (0%) disminuye 28 mg, con la diferencia que en dosis de 60% esta biomasa vuelve a disminuir 27 mg siendo poco inferior al control (0%).

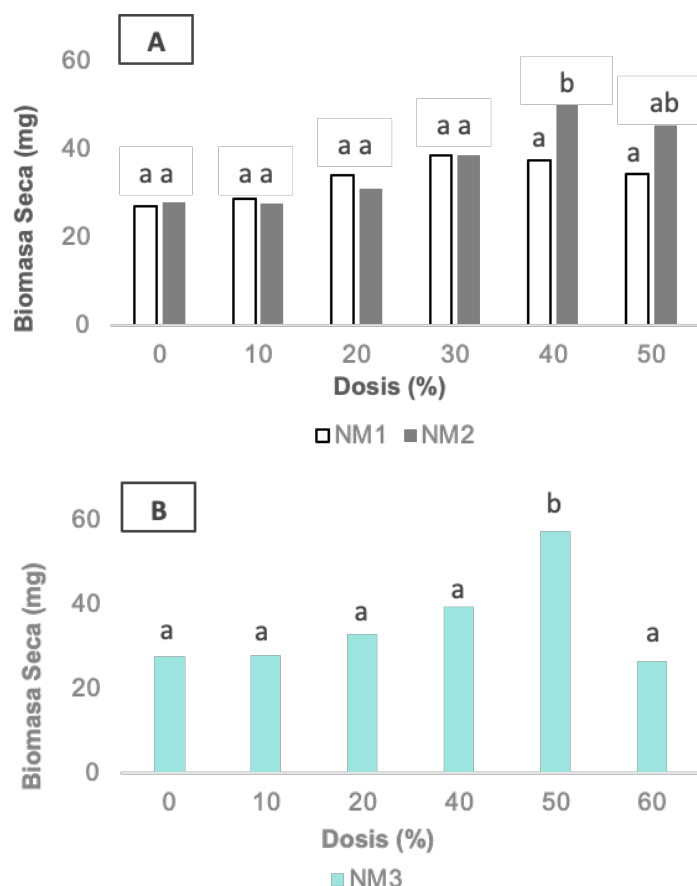


Gráfico 10. Biomasa seca (mg) de las plántulas de *Lactuca sativa*, en cada una de las dosis de nanomateriales. Nota: NM1 (nao-óxido de zinc); NM2 (nano-dióxido de titanio); y NM3 (nano-zeolita). Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ANOVA ($P \leq 0.05$).

El Gráfico 10A muestra la biomasa seca de *Lactuca sativa* expuesta a diferentes concentraciones de NM1 y NM2. Se observa que los valores de biomasa seca se mantienen relativamente estables en las dosis más bajas (0-30 %), sin diferencias significativas según la prueba ANOVA. Sin embargo, en NM2 al 40 %, se registra un aumento significativo de la biomasa, alcanzando un valor máximo cercano a los 50 mg, diferencia que es estadísticamente significativa en comparación con las dosis más bajas. A pesar de este incremento, en la dosis del 50 % la biomasa disminuye levemente, aunque sin mostrar una reducción drástica en comparación con el grupo control.

Por otro lado, el Gráfico 10B, correspondiente a NM3, presenta un comportamiento similar en la mayoría de las dosis evaluadas, con valores de biomasa relativamente constantes entre 20 mg y 40 mg. No obstante, a la dosis del 50 %, se observa un aumento significativo en la biomasa seca, alcanzando el valor máximo de aproximadamente 60 mg, seguido de una disminución en la dosis del 60 %. Estos resultados sugieren que, en general, la biomasa seca no es un buen indicador del efecto fitotóxico de los nanomateriales, ya que no muestra una tendencia clara de inhibición del

crecimiento ni una relación dosis-respuesta evidente. La variabilidad observada en algunas dosis específicas podría deberse a factores fisiológicos de las plántulas o a efectos específicos de los nanomateriales en ciertos umbrales de concentración, pero en términos generales, la biomasa seca no refleja de manera concluyente la toxicidad de los NM evaluados.

Índice de Germinación (%IG) de NM y NF.

Los porcentajes de germinación relativo (PGR) y crecimiento de radícula relativo (CRR) fueron calculados para obtener el %IG: En ambos casos (ver Gráficos 11 y 12), se demuestra como el incremento de las concentraciones de nanofertilizantes es inversamente proporcional al desarrollo de las semillas de *Lactuca sativa*. Los datos indican que el control presentó el mayor número de semillas germinadas en comparación con las que fueron tratadas con la mezcla, como se muestra en el Cuadro 2. Esta tendencia generó una disminución en el PGR a medida que se aumentaba la dosis del tratamiento (ver Gráfico 11).

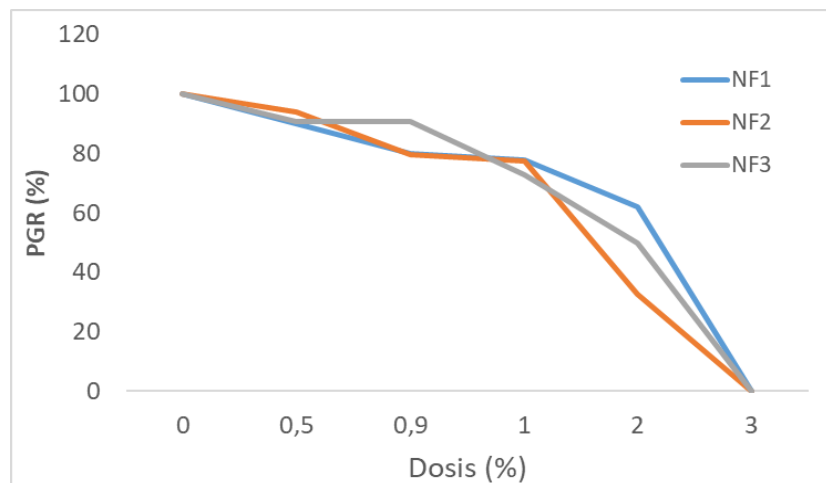


Gráfico 11. Porcentaje de germinación relativo (PGR) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanofertilizantes. Nota: NF1 (abono completo + nano-óxido de zinc); NF2 (abono completo + nano-dióxido de titanio); y NF3 (abono completo + nano-zeolita).

En relación con el CRR, los valores de crecimiento radicular correspondientes al control fueron los más altos (ver Gráfico 12), lo que confirma que, en ausencia de nanofertilizantes, las semillas logran un desarrollo radicular óptimo. La relación entre las dosis de la mezcla y el CRR vuelve a indicar que, aunque la germinación no se ve afectada completamente, el crecimiento de la radícula se limitó proporcionalmente a la concentración aplicada. El Gráfico 12 lo demuestra, en dosis elevadas, se registró una reducción significativa del CRR en comparación del control.

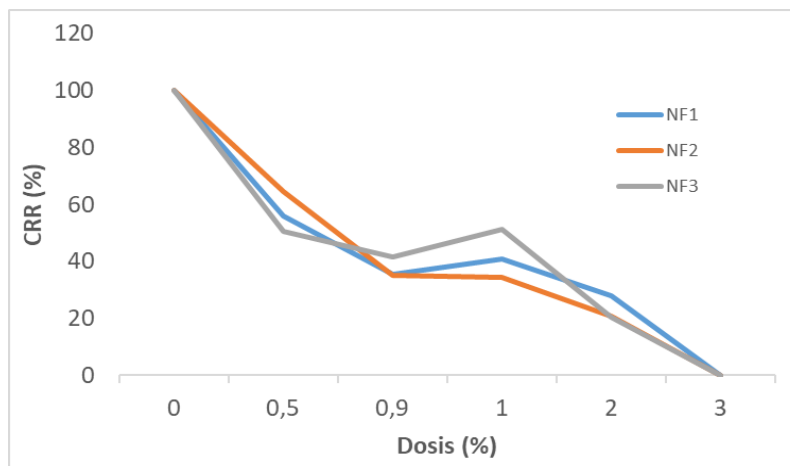


Gráfico 12. Crecimiento de radícula relativa (CRR) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanofertilizantes. Nota: NF1 (abono completo + nano-óxido de zinc); NF2 (abono completo + nano-dióxido de titanio); y NF3 (abono completo + nano-zeolita).

A partir del PGR y CRR se obtuvo una clara tendencia de reducción sistemática del porcentaje de germinación (%IG) a medida que aumenta la dosis de nanofertilizante, tal como se muestra en el Gráfico 13, el cual describe el patrón del IG obtenido a partir de la exposición de 120 h a las diferentes formulaciones de nanofertilizantes (NF).

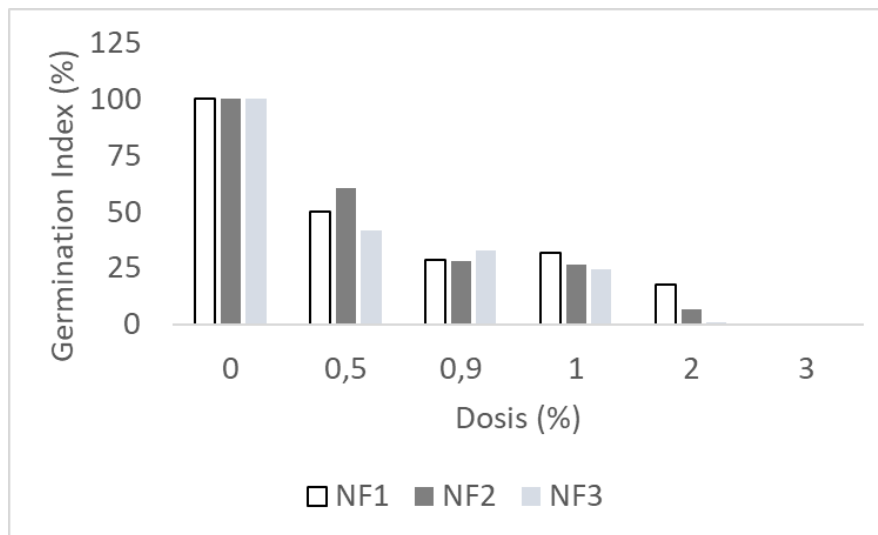
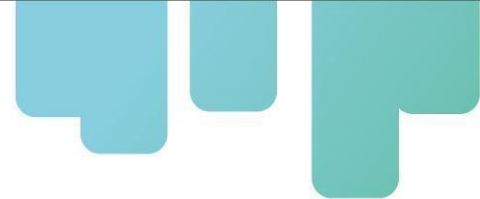


Gráfico 13. Índice de germinación (IG) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanofertilizantes (NF). Nota: NF1 (abono completo + nano-óxido de zinc); NF2 (abono completo + nano-dióxido de titanio); y NF3 (abono completo + nano-zeolita).

Los índices de germinación (IG) en los tratamientos logran identificar como cada solución de nanofertilizante (NF1, NF2 y NF3) afecta negativamente a la capacidad de las semillas para germinar. Siguiendo el criterio establecido por Zucconi (1981), un IG indica la ausencia o baja



concentración de sustancias fitotóxicas, mientras que un IG señala una alta presencia de sustancias fitotóxicas. Los valores intermedios entre 50% y 80%, se interpretan como una presencia moderada de fitotoxinas. Cuando se integran los valores de PGR y CRR para obtener el IG y de acuerdo con el criterio propuesto, se observa que los 3 tratamientos (NF1, NF2 y NF3) presentan un alto nivel de toxicidad en todas las dosis evaluadas.

Como referencia, se incluye el Cuadro 6, el cual detalla el porcentaje del índice de germinación (IG) para cada tratamiento (NF), clasificado según criterios pre-establecidos de peligrosidad ambiental potencial. Para ello, se establecieron 3 niveles de bajo, moderado y alto, en función del valor de IG correspondiente.

Cuadro 6. Clasificación del Índice de germinación (IG%) según Zucconi

Tratamiento	Dosis (%)	IG (%)	Efecto tóxico potencial
NF1	0	100	NA
	0,5	50	Moderado
	0,9	28	Alto
	1	32	
	2	17	
	3	0	
NF2	0	100	NA
	0,5	61	Alto
	0,9	28	
	1	27	
	2	7	
	3	0	
NF3	0	100	NA
	0,5	42	Alto
	0,9	33	
	1	25	
	2	1	
	3	0	

El Cuadro 6 representa la clasificación del índice de Germinación (IG%) para los tres tratamientos de nanofertilizante (NF1, NF2 y NF3), en diferentes dosis, siguiendo los criterios de Zucconi (1981). A medida que aumenta la dosis de cada tratamiento, el (IG%) disminuye, indicando un mayor efecto tóxico potencial sobre la germinación. Para el tratamiento NF1, a una dosis de 0,5%, el efecto tóxico es moderado con un IG% de 50, mientras que, en dosis superiores, el efecto es alto, con (IG%) que van disminuyendo hasta alcanzar el 0% en dosis de 3%. Resultados similares se observan en los tratamientos NF2 y NF3, donde el IG% también disminuye al incrementar la dosis, alcanzando toxicidad alta en concentraciones mayores. Estos datos evidencian la relación inversa entre dosis de nanofertilizantes y (IG%) en semillas de *Lactuca sativa*.

En los Gráficos 14 y 15 se presentan los efectos de diferentes concentraciones de nanomateriales sobre el porcentaje de germinación relativa (PGR) y el crecimiento de radícula relativa (CRR) en las semillas de lechuga (*Lactuca sativa*).

En el Gráfico 14(A), se observa la variación del PGR con respecto a las dosis aplicadas de NM1 (nano-óxido de zinc) y NM2 (nano-dióxido de titanio). Ambas curvas muestran una tendencia decreciente en la germinación a medida que aumenta la dosis, alcanzando niveles cercanos a cero en concentraciones superiores al 50%. La línea correspondiente a NM1 es ligeramente superior a la de NM2 en dosis bajas, indicando una menor inhibición del PGR en las concentraciones iniciales. El mismo Gráfico 14(B), ilustra el comportamiento del PGR bajo el tratamiento con NM3 (nano-zeolita), donde se genera una disminución progresiva en el PGR conforme incrementa la dosis, alcanzando también el valor mínimo de germinación alrededor del 60%. Estos resultados a su vez indican que todos los nanomateriales evaluados tienen un efecto inhibitorio en la germinación de las semillas, siendo más pronunciado a mayores concentraciones.

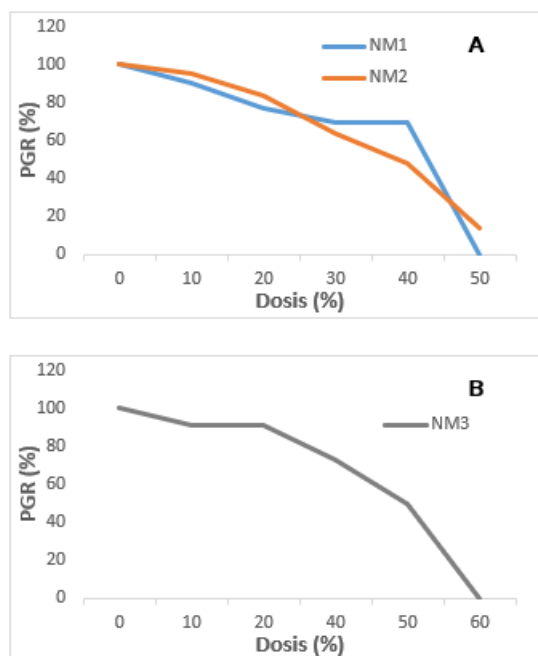


Gráfico 14. Porcentaje de germinación relativa (PGR) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanomateriales. Nota: NM1 (nano-óxido de zinc); NM2 (nano-dióxido de titanio); y NM3 (nano-zeolita).

Así mismo el Gráfico 15 muestra el comportamiento del crecimiento de radícula relativa (CRR) en las semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) bajo los mismos tratamientos NM1, NM2 y NM3. En relación CRR, los resultados describen que los tratamientos con nanomateriales (NM1, NM2 y NM3) no provocaron una inhibición significativa en el desarrollo de las radículas de *Lactuca sativa*. Los valores se mantienen dentro de rangos similares a través de las concentraciones evaluadas, lo que indica una menor toxicidad en comparación con los tratamientos con nanofertilizantes.

Esto apunta que, a estas concentraciones, los nanomateriales permiten un desarrollo radicular relativamente estable sin afectar de manera drástica el CRR.

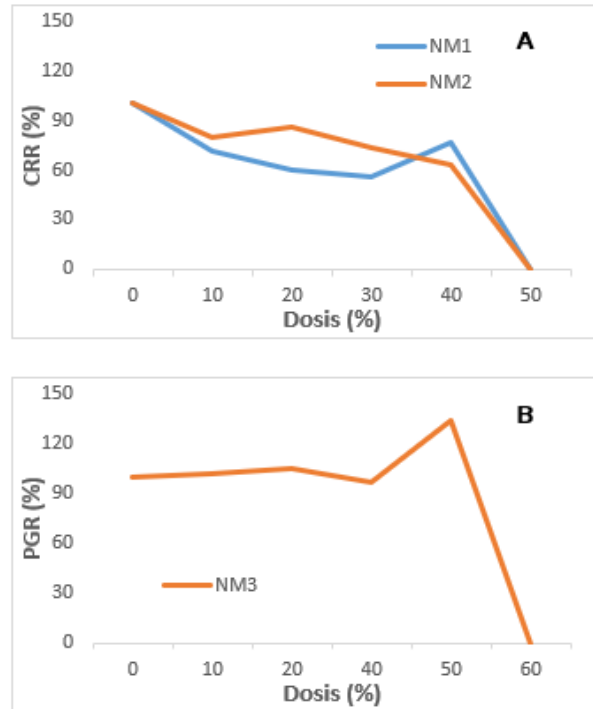


Gráfico 15. Crecimiento relativo de la radícula (CRR) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanomateriales. Nota: NM1 (nano-óxido de zinc); NM2 (nano-dióxido de titanio); y NM3 (nano-zeolita).

En ambos Gráficos 14 y 15 se observa una tendencia general en la que el incremento de la dosis de los nanomateriales está inversamente relacionado con el desarrollo de las semillas.

De acuerdo con el criterio de Zucconi (1981), un IG $\geq 80\%$ sugiere que no hay sustancias fitotóxicas o están en muy baja concentración, mientras que un IG $\leq 50\%$ indica una elevada presencia de sustancias tóxicas. Los valores entre 50% y 80% representan presencia moderada de toxicidad. Al analizar los resultados del IG% del Gráfico 16 en los tres tratamientos (NM1, NM2 y NM3), se observa que, en general, estos nanomateriales presentan niveles de toxicidad que afectan la germinación de las semillas, especialmente en las dosis más elevadas.

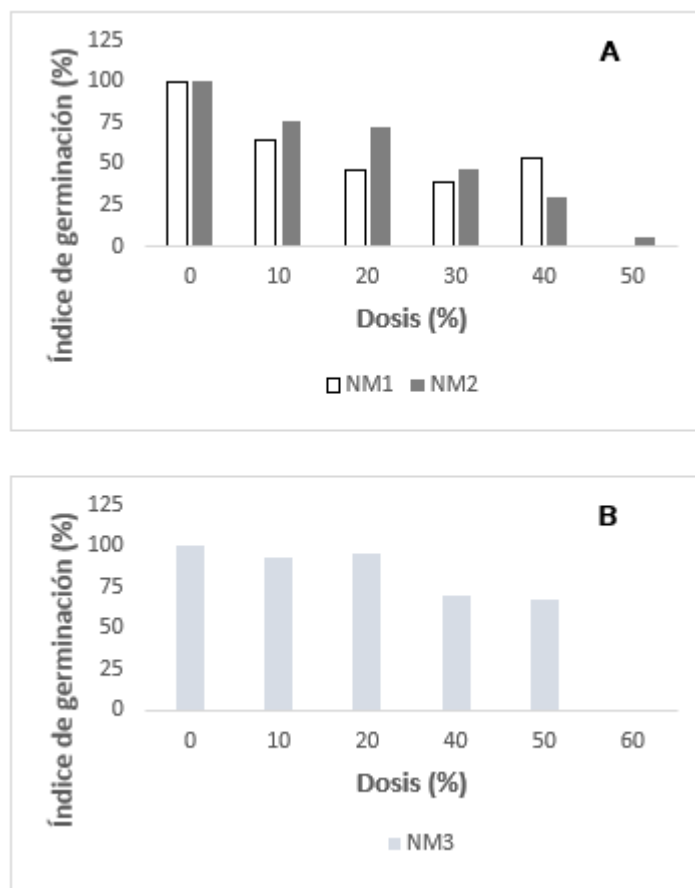


Gráfico 16. Índice de germinación (IG) de semillas de lechuga en respuesta a los tratamientos con nanomateriales. Nota: NM1 (nano-óxido de zinc); NM2 (nano-dióxido de titanio); y NM3 (nano-zeolita).

Al integrar los valores de PGR y CRR para calcular el IG, y según el criterio mencionado previamente para los NF, se observa que los tres tratamientos de nanomateriales (NM1, NM2 y NM3) presentan un nivel mucho menor de peligrosidad ambiental potencial. Para ello, se establecieron 3 niveles de bajo, moderado y alto, en función del valor de IG correspondiente.

Cuadro 7. Clasificación del Índice de germinación (IG%) según Zucconi

Tratamiento	Dosis (%)	IG (%)	Efecto tóxico potencial
NM1	0	100	NA
	10	64	Moderado
	20	46	Alto
	30	39	
	40	54	
	50	0	
NM2	0	100	NA

NM3	10	76	Moderado
	20	72	
	30	47	
	40	30	Alto
	50	0	
	0	100	NA
	10	92	Bajo
	20	95	
	40	70	Moderado
	50	67	
	60	0	Alto

El Cuadro 7 muestra los efectos tóxicos potenciales de diferentes concentraciones de nanomateriales (NM1, NM2 y NM3) sobre la germinación de *Lactuca sativa* partiendo del criterio según Zucconi (1981). En el tratamiento NM1, se observó que dosis de 20% a 50% produjeron efectos tóxicos altos, reduciendo significativamente el índice de germinación (IG), siendo el 50% la dosis con el valor más bajo de IG. En el caso de NM2, las dosis superiores al 30% también provocaron efectos tóxicos altos, mientras que dosis menores (10% y 20%) mostraron un efecto tóxico moderado. Por su parte, NM3 presentó efectos menos tóxicos en bajas concentraciones, con un efecto bajo en 10 a 20% y moderado en 40 y 50%, pero alcanzando un efecto tóxico alto en 60%, donde la germinación fue completamente inhibida. Los resultados muestran que, altas concentraciones de nanomateriales tienden a ser más tóxicos para la germinación de las plántulas de *Lactuca sativa*. Por lo tanto, es fundamental controlar y limitar la cantidad de nanofertilizantes en los tratamientos, para reducir o evitar efectos perjudiciales en el crecimiento de las plántulas.

Concentración efecto medio (EC₅₀) en NM y NF

El Cuadro 8 muestra los valores de EC₅₀ (concentración efecto) para 3 nanofertilizantes (NF) y 3 nanomateriales (NM). El EC₅₀ es la concentración que produce un efecto del 50% en la respuesta de las plantas.

Cuadro 8. Valores de EC₅₀ (Concentración Efecto medio) obtenidos para los diferentes nanomateriales y nanofertilizantes en condiciones de laboratorio.

Tratamientos	EC ₅₀ (ppm)	(Lim (Sup - Inf)
NF1	2,13	(1,06 - 3,44)
NF2	22,8	(17,12 - 30,52)
NF3	18,07	(15,12 - 22,26)
NM1	32,28	(30,23 - 34,56) *
	*	
NM2	30,03	(26,09 - 35,01)
NM3	33,57*	(29,47 - 38,39) *

Nota: *Se muestra un estimado del valor de EC_{50} como referencia. El valor estimado se obtuvo con un ajuste de Moving Average. En estos casos el valor que se obtiene en el ajuste Probit no es reportable debido a que la mortalidad espontánea en los controles excede el valor que el ajuste soporta.

Los valores de EC_{50} para los nanofertilizantes NF1, NF2 y NF3 son 2,13 ppm, 22,8 ppm y 18,07 ppm, respectivamente. Esto sugiere que NF1 es el más tóxico para las plantas, mientras que NF2 es el menos tóxico. Los valores de EC_{50} para los nanomateriales NM1, NM2 y NM3 son 32,28 ppm, 30,03 ppm y 33,57 ppm, respectivamente. Estos valores son relativamente similares, lo que sugiere que estos nanomateriales tienen una toxicidad similar para las plantas. Es importante destacar que los valores de EC_{50} para NM1 y NM3 se obtuvieron mediante un ajuste de Moving Average, lo que indica que la mortalidad espontánea en los controles excedió el valor que el ajuste Probit soporta. Esto puede ser un indicador de que estos nanofertilizantes pueden ser más tóxicos de lo que se estima.

A partir de los resultados obtenidos se puede proponer el siguiente ranking de mayor a menor peligrosidad ambiental potencial: NF1 > NF3 > NF2 > NM2 > NM1 > NM3, siendo el NM3 el compuesto xenobiótico más tóxico y el NF1 en el extremo opuesto, la mezcla menos peligrosa o tóxica.

Compuesto tóxico de referencia y verificación de la inocuidad del agente solubilizante

Se realizaron bioensayos preliminares con dicromato de potasio como compuesto tóxico de referencia para identificar el porcentaje de germinación y evaluar la sensibilidad y tolerancia de las semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) ante los nanomateriales y nanofertilizantes. Estos efectos (ver Gráfico 17) sirvieron para evaluar posteriormente la fitotoxicidad en los bioensayos definitivos, asegurando la fiabilidad y precisión de los resultados obtenidos. Se buscó algún valor previo de toxicidad de cromo en lechuga para comparar con el valor obtenido por nosotros y así validar que las semillas responden correctamente al tóxico de referencia.

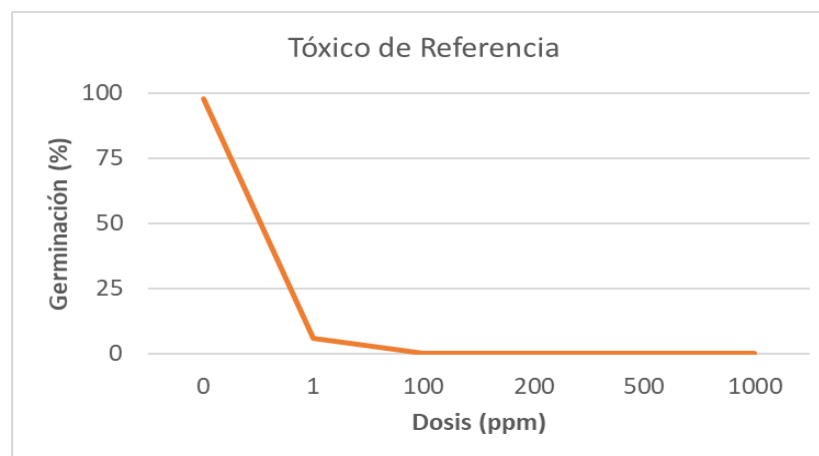
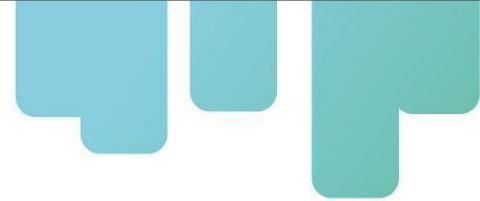


Gráfico 17. Sensibilidad de las semillas de Lechuga (*Lactuca sativa*) expuestas a las diferentes concentraciones de dicromato de potasio



DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio están en línea con investigaciones previas que han demostrado la capacidad de las nanopartículas para influir en la germinación y crecimiento de plantas. Estudios recientes (Kadri et al., 2024), encontraron que nanopartículas de óxido de zinc pueden mitigar la toxicidad del plomo en semillas de guisantes, mientras que otros autores (Muraro et al., 2024), reportaron efectos estimulantes e inhibidores de nanopartículas ecológicas de dióxido de titanio y plata en cultivos celulares. Estos hallazgos sugieren que la respuesta de las plantas a las nanopartículas puede variar dependiendo de la concentración, tipo de nanopartícula y especie vegetal.

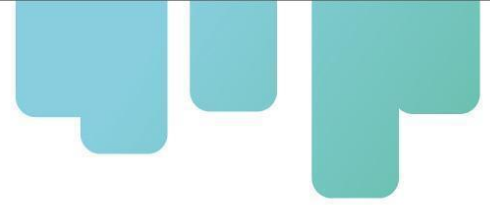
De acuerdo con los análisis de varianza (ANOVA) realizados, para los parámetros de germinación, elongación radicular, elongación del hipocótilo y biomasa seca, se demostró que a pesar de la tendencia general de disminución en la respuesta fisiológica a medida que aumenta las concentraciones (dosis) de nanofertilizante (NF) y nanomaterial (NM) hubo diferencias significativas en Germinación de NF y NM entre las medidas para las diferentes dosis y tratamientos con valores de ($P \leq 0,05$). Por otro lado, para elongación, hipocótilo y biomasa en NF no se encontraron diferencias significativas en tratamientos y dosis ya que se obtuvo valores ($P \geq 0,05$). Mientras que para NM (elongación radicular, hipocótilo y biomasa seca) la diferencia fue notoria tanto en tratamiento como en dosis (prueba de LSD Fisher, ($P \leq 0,01$)). Estos resultados indican que el efecto de cada dosis y tratamientos fue estadísticamente distinto en NM, resaltando la influencia de la concentración en respuesta fisiológica de las semillas de lechuga, y confirmando la sensibilidad de los parámetros de crecimiento ante dosis crecientes de nanofertilizantes y nanomateriales.

La combinación de nanopartículas con otros componentes de fertilizantes puede modificar su toxicidad, como se menciona en el libro Sustainable Plant Nutrition (Hussain et al., 2023). La presencia de agentes quelantes puede reducir la toxicidad de metales pesados, mejorando la absorción de nutrientes en las plantas. Esto sugiere que la formulación de nanofertilizantes y nanomateriales puede ser crítica para minimizar su impacto ambiental.

Los resultados de este estudio destacan la importancia de evaluar la fitotoxicidad de nanofertilizantes y nanomateriales en diferentes especies de plantas y condiciones ambientales. La variabilidad en la respuesta de las plantas a las nanopartículas puede ser influenciada por factores como la edad de la planta, tipo de suelo, temperatura y humedad. Por lo tanto, es fundamental realizar estudios adicionales para comprender completamente los efectos de los nanofertilizantes y nanomateriales en la agricultura sostenible.

Por otra parte, los resultados obtenidos en este estudio destacan la importancia y necesidad de realizar estudios de fitotoxicidad para evaluar la respuesta fisiológica de las plantas expuestas a agentes xenobióticos como nanomateriales y nanofertilizantes. Estos estudios son cruciales para asegurar la inocuidad y minimizar el impacto ambiental en la agricultura, especialmente en la producción de cultivos como el maíz.

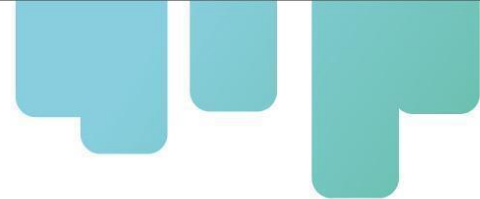
La agricultura sostenible es un desafío global, y la implementación de nanotecnologías puede ser



una herramienta valiosa para mejorar la eficiencia y reducir el impacto ambiental. Sin embargo, es fundamental evaluar la seguridad y eficacia de estos materiales antes de su aplicación en campo. Este estudio forma parte de un proyecto FONTAGRO binacional entre Ecuador y Colombia para desarrollar formulaciones de nanofertilizantes para la producción de maíz, tratando de asegurar que estas producciones sean eficientes, rentables y minimicen la emisión de gases de efecto invernadero.

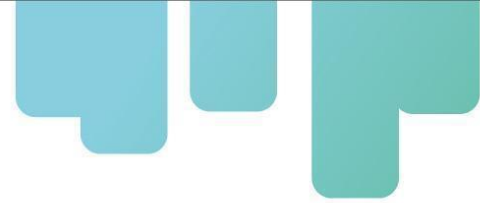
CONCLUSIONES

- Mediante los bioensayos de fitotoxicidad aguda se demostró que es una metodología rápida y eficiente para evaluar los efectos tóxicos potenciales de los nanofertilizantes.
- Los resultados demuestran que a medida que se incrementan las concentraciones (dosis) de nanofertilizantes, la supervivencia de las semillas disminuye, afectando negativamente en el desarrollo de las plántulas (Elongación Raíz/Hipocótilo, Biomasa, Índice de Germinación).
- Los resultados preliminares indican que la dosis de nanofertilizantes (NF) con mayor peligrosidad ambiental fue 3%, por tanto, para su potencial uso en campo o en sistemas de producción de maíz reales, se recomienda emplear dosis del nanofertilizante menores de 3%.
- Estas pruebas ofrecen una herramienta valiosa para la identificación temprana de riesgos asociados con la aplicación de estos compuestos en sistemas agrícolas.
- Se resalta la importancia de optimizar los procesos de nutrición vegetal en la producción agrícola con ayuda de la nanotecnología, especialmente generando nanofertilizantes alternativos de última generación.
- Este estudio centra las bases para la evaluación de la fitotoxicidad de nanomateriales y nanofertilizantes usando especies internacionalmente aceptadas, lo que es fundamental para asegurar la inocuidad y minimizar el impacto ambiental en la agricultura. Los resultados obtenidos contribuirán a la creación de formulaciones de nanofertilizantes eficientes, rentables y sostenibles para la producción de maíz en Ecuador y Colombia.
- Es necesario realizar estudios de fitotoxicidad en diferentes otras especies de plantas incluyendo semillas de maíz y condiciones ambientales de campo, evaluar la eficacia y seguridad de nanofertilizantes en sistemas productivos reales, desarrollar protocolos de seguridad y manejo para la aplicación de nanomateriales y nanofertilizantes en la agricultura, y fomentar la colaboración entre instituciones y países para compartir conocimientos y experiencias en la evaluación de la fitotoxicidad de nanomateriales y nanofertilizantes.

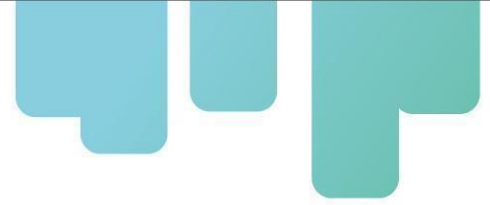


REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acharya, A., & Pal, P. K. (2020). Agriculture nanotechnology: Translating research outcome to field applications by influencing environmental sustainability. *NanoImpact*, 19, 100232. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2020.100232>
- Alkhader, A. M. F. (2023). Nanofertilizers as an alternative to inorganic fertilizer: A review. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 23(7), 23956–23974. <https://doi.org/10.18697/ajfand.122.23145>
- Bala, M., Kumar Bansal, S., & Fatima, F. (2023). Nanotechnology: A boon for agriculture. *Materials Today: Proceedings*, 73, 267–270. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2022.09.498>
- Budama-Kilinc, Y., Gok, B., Kurtur, O. B., Okur, T., & Aygul, F. C. (2023). Nanofertilizer and nanopesticides: a new frontier in agricultural development. In *Nanoparticles and Plant-Microbe Interactions: An Environmental Perspective* (pp. 187–205). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90619-7.00015-1>
- Choez, I. (2021). *Fitotoxicidad de nanomateriales con potencialidad agrícola utilizando semillas de Lactuca Sativa en condiciones controladas*. Univercidad Técnica de Manabí.
- De Frias Freitas, K. (2020). *Preparación y caracterización de quitosano incorporado al fertilizante kh2po4 como posible aplicación en la liberación modificada de nutrientes*. Estadual Paulista.
- FAO. (2023). Fertilizers by Nutrient. In FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/RFB>
- FAO OMS, PMA, UNICEF, F. (2024). *El estado de seguridad Alimentaria y la nutricion en el mundo*.
- García, D. (2017). Evaluación del impacto ambiental de nanopartículas. *Facultad de Farmacia, Universidad Complutense*. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/DIEGO ANTONIO GARCIA ORTIZ.pdf>
- Garcia, J. V, Zamora Ledezma, E., & Aguilar, K. (2014). Environmental performance of drilling fluids selected for offshore operations in venezuela. *World Applied Sciences Journal*, 29(10), 1310–1314. <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2014.29.10.83172>
- Garg, S., Rumjit, N. P., & Roy, S. (2024). Smart agriculture and nanotechnology: Technology, challenges, and new perspective. *Advanced Agrochem*, 3(2), 115–125. <https://doi.org/10.1016/J.AAC.2023.11.001>
- Hernandez, D. (2022). Utilización de la nanotecnología En el Desarrollo de Fertilizantes Orgánicos y Pesticidas. *International Journal of Science and Society*, 4(1), 26–35. <https://doi.org/10.54783/ijssoc.v4i1.413>
- Hussain, B., Riaz, L., Javeed, K., Umer, M. J., Abbas, Y., Ur Rahman, S., Khan, S., Ali, H., Abbas, Q., Zafar, M., & Ashraf, M. N. (2023). *Use of nanoparticles and fertilizers in alleviating heavy metals and improving nutrients uptake in plants* (pp. 153–178). <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18675-2.00008-0>

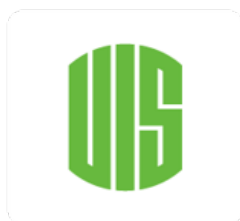


- Jiang, M., Song, Y., Kanwar, M. K., Ahammed, G. J., Shao, S., & Zhou, J. (2021). Phytonanotechnology applications in modern agriculture. *Journal of Nanobiotechnology*, 19(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01176-w>
- Kadri, O., Dimkpa, C. O., Chaoui, A., Kouki, A., Amara, A. B. H., & Karmous, I. (2024). Zinc oxide nanoparticles at low dose mitigate lead toxicity in pea (*Pisum sativum* L.) seeds during germination by modulating metabolic and cellular defense systems. *Journal of Agriculture and Food Research*, 18, 101482. <https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2024.101482>
- Magdaleno, G., & Méndez, A. (2023). *Nanotecnología en la agricultura: pequeñas soluciones para grandes desafíos*. January 2024. <https://doi.org/10.19136/era.a10nIII.3679>
- Magnabosco, P., Masi, A., Shukla, R., Bansal, V., & Carletti, P. (2023). Advancing the impact of plant biostimulants to sustainable agriculture through nanotechnologies Chemical and Biological Technologies in Agriculture. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10, 117. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00491-8>
- Muraro, P. C. L., Wouters, R. D., Druzian, D. M., Viana, A. R., Schuch, A. P., Rech, V. C., & da Silva, W. L. (2024). Ecotoxicity and in vitro safety profile of the eco-friendly silver and titanium dioxide nanoparticles. *Process Safety and Environmental Protection*, 188, 584–594. <https://doi.org/10.1016/J.PSEP.2024.05.151>
- Murphy, S. M., Hathcock, C. D., Espinoza, T. N., Fresquez, P. R., Berryhill, J. T., Stanek, J. E., Sutter, B. J., & Gaukler, S. M. (2023). Comparative spatially explicit approach for testing effects of soil chemicals on terrestrial wildlife bioindicator demographics. *Environmental Pollution*, 316, 11. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120541>
- Nguyen, N. N., Nguyen, N. T., Nguyen, P. T., Phan, Q. N., Le, T. L., & Do, H. D. K. (2024). Current and emerging nanotechnology for sustainable development of agriculture: Implementation design strategy and application. *Heliyon*, 10(10), e31503–e31503. <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2024.E31503>
- OECD. (2003). *Organization for Economic Cooperation and Development. Guideline for testing Chemicals 208 (final draft). Terrestrial Plant Test Seedling Emergence and Seedling Growth of Albazia lebbbeck (L).*
- Paspuezan, J., & Moso, J. (2023). *Determinación de huella de carbono y desarrollo de un plan piloto basado en la ISO 14064 en dos obras salesianas ubicadas en Quito Ecuador* [Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/24413>
- Pasricha, N. S., Ghosh, P. K., & Ramendra Singh. (2023). Agriculture-related green house gas emissions and mitigation measures. In *Advances in Agronomy* (Vol. 179, pp. 257–376). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2023.01.005>
- Ritchie, H., Roser, M., & Rosado, P. (2020). Greenhouse gas emissions. *Our World in Data*. <https://ourworldindata.org/emissions-by-sector>



- Saraiva, R., Ferreira, Q., Rodrigues, G. C., & Oliveira, M. (2023). Nanofertilizer use for Adaptation and mitigation of the Agriculture/Climate Change Dichotomy Effects. *Climate*, 11(6), 129. <https://doi.org/10.3390/cli11060129>
- Tiquia, S. M., Wannan, P. R., & Taylor, B. R. (2000). *Evaluating Phytotoxicity of Pig Manure from the Pig-on-Litter System*.
- Trespalcios, J., Blanquicett, C., & Carrillo, P. (2018). Gases y efecto invernadero. *Desarrollo Sostenible Para Todos*, 01, 1–38.
- Varnero, M., Rojas Alvarado, C., & Orellana, R. (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de La Ciencia Del Suelo y Nutrición Vegetal*, 7, 28–37. <https://doi.org/10.4067/S0718-27912007000100003>
- Xu, Y., Xu, X., Li, J., Guo, X., Gong, H., Ouyang, Z., Zhang, L., & Mathijs, E. (2023). Excessive synthetic fertilizers elevate greenhouse gas emissions of smallholder-scale staple grain production in China. *Journal of Cleaner Production*, 430, 139720. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2023.139720>
- Yadav, A., Yadav, K., & Abd-Elsalam, K. A. (2023). Exploring the potential of nanofertilizers for a sustainable agriculture. *Plant Nano Biology*, 5, 15. <https://doi.org/10.1016/J.PLANA.2023.100044>
- Zamora Ledezma, E., & García, J. V. (2013). Mineral oil-based drilling cuttings phytotoxicity assessment using species of temperate and tropical climate. *Global Journal of Environmental Research*, 7, 1–7. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjer.2013.7.1.3313>
- Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., & Bertoldi, M. (1981). Evaluating Toxicity of Immature Compost. *BioCycle*, 22, 54–57.

INSTITUCIONES PARTICIPANTES



Universidad
Industrial de
Santander



UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE
MANABÍ
Fundada en 1952

Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



www.fontagro.org

Correo electrónico: fontagro@fontagro.org