

UNIVERSIDAD DE ALMERÍA



MÁSTER EN HORTICULTURA MEDITERRÁNEA BAJO
INVERNADERO

TRABAJO FIN DE MÁSTER

EVALUACIÓN DE DIFERENTES DOSIFICACIONES DE NANO-
FERTILIZANTE ZINC SOBRE LA PRODUCCIÓN DE PÁNTULAS DE
TOMATE EN CULTIVO HIDROPÓNICO

Autora: Andrea Zúniga Valladares

Director: Dr. José Miguel Guzmán Palomino

Curso 2018/2019

Convocatoria septiembre de 2019

EVALUACIÓN DE DIFERENTES DOSIFICACIONES DE NANO-FERTILIZANTE ZINC SOBRE LA PRODUCCIÓN DE PLÁNTULAS DE TOMATE EN CULTIVO HIDROPÓNICO

A. Zúniga¹ y J.M. Guzmán²

¹Máster en Horticultura Mediterránea Bajo Invernadero, Universidad de Almería, azv479@inlumine.ual.es

²Departamento de Agronomía, Universidad de Almería

ABSTRACT

In recent years, nanotechnology has been widely used in the field of agriculture, trying to face the environmental challenges of the next 30 years. The innovation of nanofertilizers and their optimum efficiency can have substantial impact on sustainable agriculture. The objective of the current study is to evaluate the effect of the different synthesized dosages of nanohydroxyapatite doped with Zinc (Zn-nHA), with a scale of 75-85 nm, in growth parameters: root length (L rad) and biomass (FW, DW in root and leaves) and elemental analysis: micro and macronutrients. The project was evaluated using tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in hydroponic systems: floating system (FLO) and NFT system. In each trial, 5 treatments were used in each system with different doses of Zn-nHA: SNC complete solution (0% Zn-nHA), 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm and 100 ppm. Significant differences were found in both parameters in which the use of Zn-nHA increases the growth of biomass in the NFT system since there is an irreversible gain of biomass in the FLO system. The SNC treatment with chelated Zn obtained higher root DW, the 100 ppm dose obtained negative results in both systems. The dose of 75 ppm in the FLO system obtained greater growth of L rad. All elements presented high values (except Nitrogen).

Key words: Nanotechnology, NFT, Floating, Nano-Hydroxyapatite, Biomass Production

RESUMEN

En los últimos años la nanotecnología ha sido ampliamente utilizada en el campo de la agricultura procurando hacer frente a los desafíos ambientales de los próximos 30 años. La innovación de los nanofertilizantes y su mejor eficiencia pueden tener un impacto sustancial en la agricultura sostenible. El objetivo del estudio actual es evaluar el efecto de las diferentes dosificaciones sintetizadas de nano hidroxapatita dopada con Zinc (Zn-nHA), con una escala de 75-85 nm, en parámetros de crecimiento: longitud de la radícula (L rad) y biomasa (FW aéreo, DW aéreo, FW raíz, DW raíz) y análisis elemental: micro y macronutrientes. El proyecto fue evaluado utilizando plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en sistemas hidropónicos: sistema flotante (FLO) y en sistema NFT. En cada ensayo se utilizaron 5 tratamientos en cada sistema con diferentes dosis de Zn-nHA: SNC solución completa (0% Zn-nHA), 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm y 100 ppm. Se encontraron diferencias significativas en ambos parámetros en el cual la utilización de Zn-nHA aumenta el crecimiento de biomasa en sistema NFT ya que hay una ganancia irreversible de biomasa en el sistema FLO. El tratamiento SNC con Zn quelatado obtuvo mayor DW raíz, la dosis 100 ppm obtuvo resultados negativos en ambos sistemas. La dosis de 75 ppm en sistema FLO obtuvo mayor crecimiento de L rad. Todos los elementos presentaron valores elevados (excepto el Nitrógeno).

Palabras clave: Nanotecnología, NFT, Sistema Flotante, Nano-Hidroxapatita, Biomasa

INTRODUCCIÓN

El término nano tecnología se refiere a una tecnología enfocada en la ingeniería y la manipulación de objetos a nano escala. Las nanopartículas son agregados moleculares o atómicas con una dimensión normalmente menor de 100 nanómetros en tamaño, las cuales pueden modificar totalmente sus propiedades fisicoquímicas. En la actualidad tiene una gran influencia en varios campos de la ciencia como la medicina, farmacia, química, electrónica, ingeniería y está siendo implementada en el campo de investigación agrícola (Tarafdar, Raliya, Mahawar, & Rathore, 2014).

En la agricultura esta tecnología puede ser utilizada como herramienta de diagnóstico para la detección precoz de enfermedades, fabricación de nano biosensores en determinados procesos biológicos para detectar y tratar una infección o deficiencia nutricional, mejoramiento de empaques en poscosecha, mejorar la efectividad de insecticidas y pesticidas reduciendo su uso con dosificaciones menores, liberación controlada de moléculas funcionales y mejorar la asimilación de nutrientes esenciales por las plantas (Castro-Restrepo, 2017; Rai & Ingle, 2012).

Este movimiento tecnológico ha sido liderado por los nuevos retos y desafíos a los que se enfrenta el mundo en el sector de alimentación y agricultura. Según la Organización de las Naciones Unidas (ONU) actualmente la problemática es debido al incremento de la población mundial, la cual se estima que aumentará y alcanzará los 9700 millones de personas para el año 2050 (UN, 2017).

Debido a esto estamos buscando alternativas para la sustitución de fuentes de recursos que permitan cubrir la sobredemanda de alimentos, aumentar la productividad agrícola y aprovechamiento más eficiente de los recursos hídricos y nutritivos (Rai & Ingle, 2012).

La Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO) estima que la agricultura tendrá que producir casi un 50% más de alimentos de los que producía en el año 2012 (UN, 2018).

El problema de la alimentación global empieza desde la desnutrición, carencia de nutrientes, el sobrepeso y la obesidad donde la agricultura juega un gran papel en la contribución para disminuir esta situación mundial. Uno de los 3 grupos que es afectado por la desnutrición es la malnutrición relacionada con los micronutrientes (carencia o exceso de micronutrientes esenciales) abarcando 462 millones de personas con insuficiencia (OMS, 2016, 2018, 2019).

A nivel mundial las principales manifestaciones de desnutrición en los países de desarrollo son en yodo, vitamina A, hierro y Zinc (Roohani, Hurrell, Kelishadi, & Schulin, 2013).

El Zinc se encuentra entre los ocho micronutrientes esenciales, el cual es crucial para el desarrollo de las plantas porque es un componente básico para la síntesis de auxinas, enzimas y proteínas, aunque sea en pequeñas cantidades. Este elemento se requiere como componente estructural de una gran cantidad de proteínas, como factores de transcripción y metaloenzimas (Figueiredo et al., 2012).

Es un componente integral de las estructuras de enzimas y el único metal representado en seis enzimas (oxidorreductasas, liasas, isomerasas, ligasas, hidrolasas y transferasas). Adicionalmente, está involucrado en la formación de clorofila y algunos carbohidratos, lípidos, ácido nucleico, conversión de almidones y azúcares, la producción de hormonas de crecimiento y alargamiento de entrenudos y tallo. El zinc se encuentra en la estructura de la enzima fosfatasa por lo cual tiene influencia en el fósforo y su movimiento en la rizosfera. Permite que plantas tengan resistencia a temperaturas más bajas y ayuda en la biosíntesis del citocromo, ayuda a la integridad de la membrana y la síntesis de la cutícula de la hoja (Tarafdar et al., 2014).

La deficiencia de este elemento podría ser la carencia del micronutriente más común de todos los cultivos en el mundo, lo que da lugar a grandes pérdidas de rendimiento y producción de los cultivos, además de los problemas nutricionales en la salud humana. Según la FAO se estima que

un tercio de la población se ve afectada por la insuficiencia de zinc (aproximadamente mil millones de personas) con tasas crecientes que van de 4 a 73% en varias regiones (FAO, 2018).

Un mal manejo en suministro de Zinc reduce significativamente el rendimiento y la calidad de cultivos, puede reducirse hasta a un 20% antes que aparezcan síntomas visuales de su deficiencia. El tejido foliar debe tener niveles normales de 25 -60 ppm, se reporta que el nivel de toxicidad es cuando excede de 200 a 300 ppm (Haifa Group, 2018).

De acuerdo con un estudio publicado en el International Journal of Agriculture Sciences con el desarrollo de la nanotecnología se llegaron a alternativas para una agricultura sustentable y de mayor producción como lo son los fertilizantes “inteligentes” de liberación lenta y controlada. Estos fertilizantes son sintetizados o modificados con la ayuda de la nanotecnología para mejorar la productividad agrícola minimizando los costos de producción y aumentar la eficacia del uso de nutrientes. También mejora la nutrición, crecimiento y desarrollo, resistencia a enfermedades y calidad de fruto de los cultivos. Gracias a la escala nanométrica las propiedades de la materia físicas y químicas son diferentes, utilizando el Zinc a nivel nanométrico se puede aumentar su disponibilidad en la planta y lograr una fertilización equilibrada. Se estima que en el mercado se encuentran 12,480 productos comerciales que usan nanomateriales (Faizan, Faraz, Yusuf, Khan, & Hayat, 2018; Poma & Di Giorgio, 2008).

La hipótesis de trabajo consistió en comprobar si “la utilización de nano hidroxapatita dopada con Zinc (Zn-nHA) adicionada en la solución nutritiva puede mejora la calidad de las plántulas de tomate”.

El objetivo general fue evaluar el comportamiento, en términos de crecimiento y composición de plántulas de tomate sometidas a diferentes concentraciones de Zn-nHA, aplicadas radicalmente en su solución nutritiva en dos sistemas de cultivo hidropónico.

Los objetivos específicos fueron:

1. Evaluar el efecto del sistema de cultivo (NFT o Flotante) sobre el crecimiento y contenido elemental de plántulas de tomate formuladas con diferentes concentraciones de ZN-nHA.
2. Evaluar el efecto de diferentes dosis de Zn-nHA (0, 25, 50, 74 y 100 ppm) sobre el crecimiento y contenido elemental de plántulas de tomate cultivadas en diferentes sistemas de cultivo.
3. Determinar la dosis de Zn-nHA que favorece en desarrollo de plántulas de tomate en cada sistema de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Emplazamiento y descripción del ensayo

El proyecto se llevó a cabo en dos fases en las instalaciones de investigación de la Universidad de Almería; primera fase en el laboratorio de nutrición vegetal del departamento de agronomía y la segunda fase en la cámara de germinación situado en Ctra. Sacramento s/n, 04120 La Cañada, Almería.

Diseño experimental

El diseño experimental consistió en dos sistemas de cultivo de NFT y sistema flotante (FLO). Las aplicaciones del nano Zinc se realizaron en dosis:

1. Solución nutritiva completa (SNC) con 0% de nano Zinc
2. Solución nutritiva completa (90%) con 25 ppm de nano Zinc
3. Solución nutritiva completa (90%) con 50 ppm de nano Zinc
4. Solución nutritiva completa (90%) con 75 ppm de nano Zinc
5. Solución nutritiva completa (90%) con 100 ppm de nano Zinc

El ensayo consta de 10 tratamientos; 5 tratamientos en sistema NFT y 5 tratamientos en sistema flotante (FLO), cada uno con 3 repeticiones, teniendo un total de 30 unidades experimentales. El estudio se basa en el desarrollo de plántulas de tomate desde la imbibición de las semillas hasta

que la plántula desarrolle 3 a 4 hojas verdaderas, este proceso durara aproximadamente de 20 a 25 días (Figura 1).

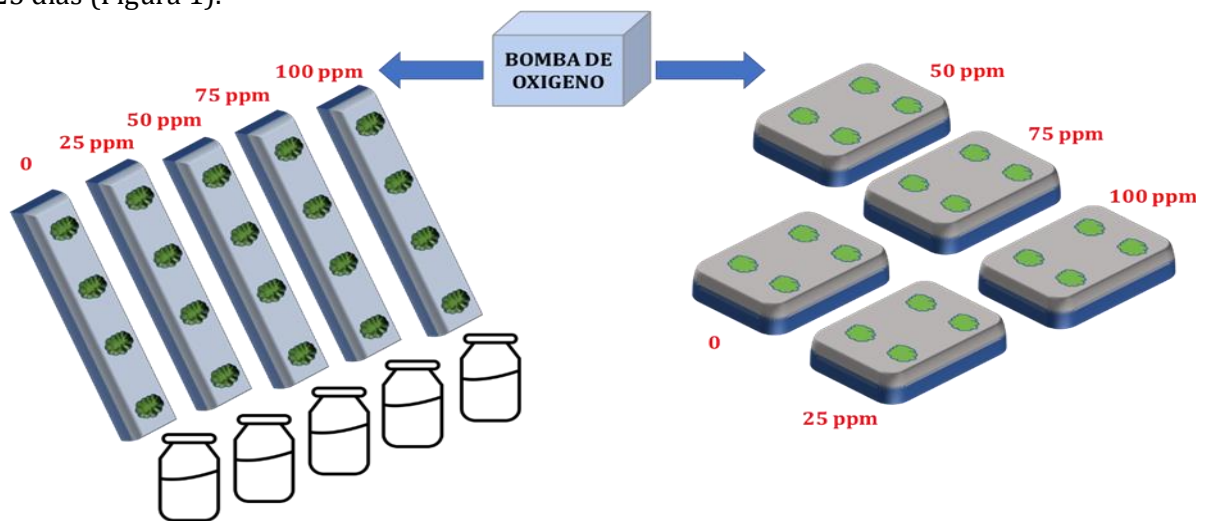


Figura 1. Esquema de distribución del ensayo con ambos sistemas continuo y discontinuo.

Material vegetal

El material vegetal utilizado fue *Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiforme*, cv. HTL1708480 ® de la casa Axia de hábito de crecimiento indeterminado, del tipo cherry pera.

Primera fase (Pregerminación y germinación)

En esta fase se inhibieron las semillas, se colocaron 200 semillas, dependiendo del porcentaje de germinación, en placas Petri con papel filtro humedecido con agua destilada para favorecer la germinación. Luego fueron colocadas en una cámara de germinación con una humedad relativa de 95% y una temperatura de 27°C.

Al transcurrir 48 horas se seleccionaron 10 semillas aleatoriamente, procurando la mayor uniformidad posible y que la semilla tenga la radícula emergida. Las semillas fueron trasplantadas en su solución de tratamiento con agar al 1% en un rizotrón transparente para facilitar la medición de la radícula (Figura 2).

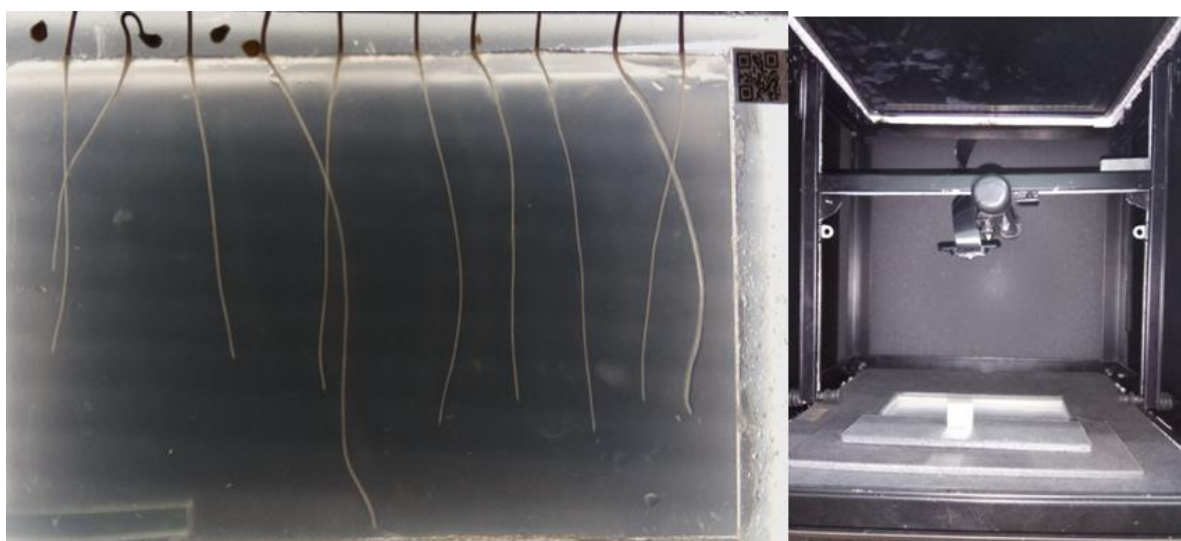


Figura 2. Fotografía de las raíces en el rizotrón (izquierda), Cámara oscura para las fotografías del software Rootdetection (derecha).

Los rizotrones ya preparados de introdujeron en contenedores oscuros en la cámara de germinación a una humedad relativa de 95% y una temperatura de 27°C. Se realizaron 5 mediciones de la longitud de la radícula cada 12 horas, llegando a un total de 60 horas.

Para la medición de la longitud de la radícula se utilizaron dos métodos: una escala en milímetros y un software RootDetection el cual generaba una hoja de cálculos de medición. Las fotografías del programa se realizaron dentro de una cámara oscura, un prototipo creado por nuestro equipo, como lo muestra la Figura 2.

En la Tabla 1 se muestra la solución nutritiva que se utilizó al 10% para la preparación del agar adicionando el nano fertilizante del tratamiento correspondiente. Posteriormente se utilizó una diferente solución sistemas de riego sin suelo NFT y sistema flotante (FLO) en la segunda fase del proyecto.

Tabla 1 Solución nutritiva en Agar, cantidad de los fertilizantes a disolver en los tanques de solución madre.

Tanque A	
Nitrato amónico	2 g
Nitrato potásico	5 g
Mix micro A-Z	0.5 g
Tanque B	
Sulfato de magnesio	4.5 g
Nitrato potásico	10 g

Segunda fase (Trasplante en sistema NFT y FLO)

En esta última fase, después de realizar las 5 mediciones correspondientes a cada tratamiento, la radícula habrá cubierto el área del rizotrófon en aproximadamente 3 días. La fase 2 comienza al seleccionar aleatoriamente 4 plántulas para ser trasplantadas procurando que sean homogéneas en los dos sistemas. A las 6 plantas restantes se les realizó una medida en peso fresco con una balanza de precisión en gramos. Al ser trasplantadas a los contenedores, donde se encuentran las diferentes soluciones, estas fueron colocadas en una cámara de cultivo en las condiciones óptimas, a una temperatura de 20-25°C, con una humedad relativa del 80%, con 16 horas luz y oxigenación permanente. Para la preparación de la solución nutritiva se utilizó la siguiente receta:

Tabla 2 Composición de la solución nutritiva en los sistemas NFT y flotante.

Tanque A	
Nitrato cálcico	43.12 kg
Nitrato amónico	8.96 kg
Nitrato potásico	11.63 kg
Mix micro A-Z	558.50 g
Tanque B	
Sulfato de magnesio	19.02 kg
Nitrato mono potásico	16.32 kg
Nitrato potásico	3.58 kg
Sulfato potásico	25.35 kg

Se utilizó el 10% de la solución madre en 1.3 L de agua destilada más la concentración de nano Zn correspondiente (25, 50, 75 y 100 ppm). Esta segunda fase duro 22 días, en el cual hubo renovación o recambio de la solución, procurando una CE 1.38 dS·m⁻¹ y pH de 5.5-6.

Las plantas fueron monitoreadas diariamente analizando el desarrollo de la plántula siguiendo los criterios propuestos por la escala BBCH. Una vez transcurridos 22 días desde su trasplante se extrajeron las plantas de ambos sistemas para la preparación de las muestras. Se realizó el pesaje de la materia fresca y seca en una balanza de precisión. El peso se separó en la parte aérea de la planta y la radícula.

Secado y molienda de muestra

Las muestras se introdujeron en una estufa de secado por 24 horas con una temperatura de 80°C separando la raíz y la parte aérea. Luego, al asegurarnos del secado completo de las muestras se procedió a su molienda en un molino de café durante 1 a 2 minutos para la mineralización de cada muestra.

Mineralización

Este método de mineralización se empleó para la determinación de N, P, K, Ca, Mg y los microelementos (Fe, Mn, Zn y Cu).

Cada una de las muestras se mineralizó con un peso seco de 0.25 gramos con 10 mL de ácido sulfúrico concentrado y 1 a 2 ml de peróxido de hidrogeno (libre de fosforo. Cada muestra se enraso con agua destilada a 50 ml en recipientes esterilizados.

La determinación de nitrógeno se realizó con el aparato de destilación de Bouat en un matraz micro-Kjeldalh con 3 repeticiones por muestra. La determinación de fosforo se realizó con el método de colorimetría con la lectura de un espectrofotómetro con longitud de onda de 700 nm. El resto de las determinaciones se realizaron en los Servicios Centrales de Investigación de la Universidad Almería utilizando un espectrómetro de Masas: XSERIES 2 ICP-MS (Thermo Fisher) de plasma de acoplamiento inductivo ICP-Masas.

Análisis estadístico

Para estudiar los datos adquiridos se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurión 18 © un análisis de varianza multifactorial y pruebas de múltiples rangos (Statgraphics Technologies Inc., 2018).

Se utilizó la tabla ANOVA con un nivel de confianza del 95% para el análisis de varianza. Con la ayuda de la prueba de múltiples rangos nos permitió determinar las medias que sean significativamente diferentes estadísticamente de otras con un nivel de confianza del 95%. Se utilizó la prueba (LSD) de Fisher para las comparaciones múltiples, esto nos permitió comparar las medias de los niveles de un factor después de haber rechazado la hipótesis nula de igualdad de medias mediante el ANOVA. El método LSD implica un riesgo del 5.0%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos de parámetros de crecimiento (longitud de la radícula y biomasa) se encuentran en la Tabla 3. Las interacciones entre los factores aparecen representadas en las también representados de la Figura 4. Los datos de Análisis elemental (micro y macroelementos) se encuentran en la Tabla 4, también representados de la Figura. 5 (P, Ca y Zn); Figura 6 (N, K y Mg) y Figura. 7 (Fe, Mn y Cu).

Longitud de la radícula

Esta variable se analizó con los tres factores (Tabla 3): tiempo desde siembra (t), sistema de aporte (Sistema) y dosis de Zn aplicada (Dosis). Como era de esperar, la raíz crece con el tiempo desde la siembra de la semilla, de manera estadísticamente significativa. Los valores de crecimiento radical a las 60 horas desde la germinación, con Zn-nHA a 75 ppm son iguales a los obtenidos con SNC. El resto de las concentraciones de Zn-nHA aplicadas presentan un efecto depresivo sobre el crecimiento en longitud de la radícula.

Se puede notar que hay una mayor longitud de la radícula cuando utilizamos el aporte continuo en el sistema flotante de la solución nutritiva (FLO) que cuando lo aportamos de manera discontinua en el sistema NFT. La media de la longitud de la raíz en el sistema continuo era de 13.20 mm y en el sistema NFT era de 11.56 mm. Estas diferencias pueden atribuirse a las características intrínsecas del sistema y a la limitación en el acceso a los nutrientes en el sistema de aporte discontinuo, que también se reflejan en la mayor cantidad de biomasa radical seca (DW

raíz) generada en este sistema. Este efecto se mantiene para todas las dosis de aporte de Zn-nHA, sin que exista interacción significativa entre el sistema y la dosis de Zn aportada (Figura 4).

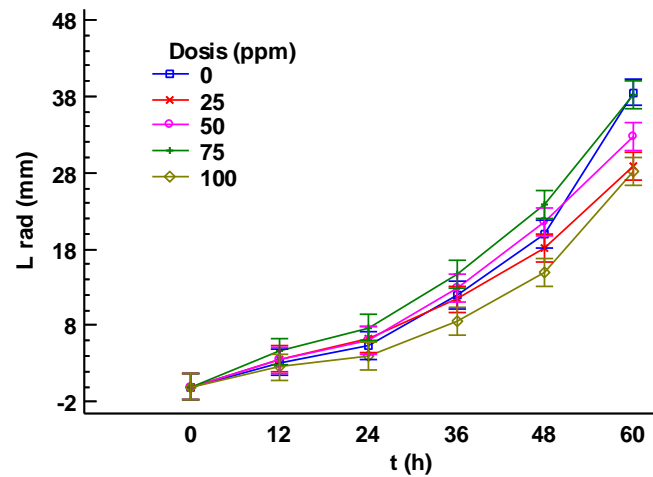


Figura 3. Variación temporal de la longitud radical de plántulas de tomate sometida a diferentes dosis de Zn-nHA en cultivo hidropónico.

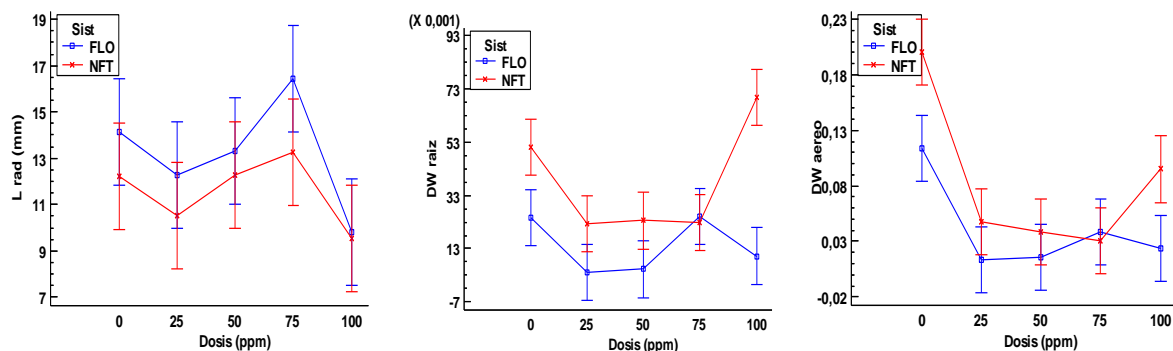


Figura 4. Comportamiento del crecimiento en longitud radical (L rad) y biomasa seca radical (DW raíz) o aérea (DW aérea) para la interacción entre el Sistema de cultivo (S) y la Dosis de Zn-nHA aportada (D).

También hubo diferencias significativas en las dosificaciones de nano fertilizante, donde mayor efecto positivo se obtiene para la dosis de 75 ppm de Zn, (14.86 mm). El tratamiento de 100 ppm muestra los resultados menores de crecimiento radical (9.69 mm). Los estudios realizados con ZnO por Siddiqi y Husen (2017) muestran que a una concentración de 0 -1000 mg/L con una partícula de 25 nm, la planta de tomate incrementa en altura (24%) y longitud de la radícula a 250 mg de ZnO/kg con aplicaciones foliares. Las dosis de aporte de 25 y 50 parecen presentar un efecto depresivo sobre el crecimiento radical, aunque sin significación estadística. Los resultados fueron similares a un estudio en la fitotoxicidad de las nanopartículas para la germinación de las semillas en donde el nano ZnO causo una inhibición significativa en la germinación de semillas de pepino, así como el crecimiento de brotes y raíces. La toxicidad de las nanopartículas para el crecimiento de las plántulas ocurre a una concentración más alta de nano-ZnO (200 mg/L) (Lin & Xing, 2007).

Biomasa

Los datos de biomasa radical y aérea también se presentan en la Tabla 3, dado que las observaciones solo se realizaron al final de cada experimento, las variaciones debidas al efecto temporal sobre el crecimiento no pueden analizarse estadísticamente para ninguno de estos parámetros.

De forma opuesta a lo que se observa en la longitud, el crecimiento en biomasa es significativamente (excepto para el FW aéreo) mayor el sistema NFT que en FLO. Esto indica claramente que el efecto de la frecuencia de aporte de Solución Nutritiva conduce a un crecimiento "blando" conducente a una mayor elongación de la que se corresponde con una ganancia irreversible de biomasa. Si atendemos a la definición de crecimiento como ganancia irreversible de biomasa, debemos considerar el efecto de crecimiento en un sistema de cultivo flotante como negativo, ya que puede conducir a situaciones de mayor estrés hídrico que el sistema NFT. La acumulación de biomasa es mayor utilizando un aporte continuo en el sistema flotante (0.04 gr) que discontinuo en el sistema NFT (0.01 gr) de la solución nutritiva, el cual está relacionado con el aporte de oxígeno y la capacidad de respiración de las raíces en este sistema. Un estudio sobre la aireación de raíces en un sistema flotante (DWC) y su efecto sobre el crecimiento y el rendimiento del tomate indica que el efecto de la concentración del oxígeno en la solución nutritiva sobre los pesos frescos y secos de las raíces es positivo y exponencial (Zeroni, Gale, & Ben-Asher, 1983).

El tratamiento con la solución completa sin nano-fertilizante, pero Zn aportado en forma quelatada (0) obtuvo los mayores pesos en peso fresco de la raíz (0.24 g), pero no alcanzó los mismos valores de biomasa seca que se obtienen con Zn-nHA a 100ppm (0.040g). Este incremento de biomasa radical no se traduce en un incremento de la biomasa aérea, donde ninguno de los tratamientos con Zn-nHA alcanza los valores obtenidos en la SNC (sin Zn aportado como nHA).

Los resultados muestran un efecto positivo sobre el peso fresco de la radícula con las diferentes dosis de nano-fertilizante. A medida que la concentración de Zn-nHA va desde la dosis de 25 a 100 ppm aumenta la biomasa seca radical y aérea.

Aunque, la mayor acumulación de biomasa en la raíz se presentó utilizando la dosis de 100 ppm (0.04 g), al analizar gráficamente la interacción significativa para este parámetro entre dosis de Zn-nHA aportada y el sistema de cultivo (SxD en Tabla 3) se observa (Figura 4) que hay una mayor acumulación (hasta de un 30% más) en el sistema NFT (max=0.085 g) que en el sistema FLO (max=0.025). Por otro lado, también se observa que al utilizar la dosis de 75 ppm en cualquier sistema los resultados de la materia seca radical son similares, llegando a un valor máximo para los aportes del sistema FLO que no aparece en el sistema NFT. Por el contrario, el sistema NFT presenta un mínimo crecimiento radical para dosis de aporte de Zn-nHA entre 25 y 75 ppm (Figura 4).

Al analizar gráficamente la interacción SxD para el peso seco de la parte aérea, observamos que las diferencias obtenidas para el sistema solo son significativas para las dosis de (SNC) y 100 ppm de Zn nHA aportada. En ambos tratamientos, la biomasa aérea es mayor para plántulas cultivadas en NFT que en FLO. El testigo obtuvo un peso máximo de 0.20 g en sistema NFT y 0.1 en FLO mientras que las dosis 25, 50, 75 obtuvieron pesos máximos de entre 0.02 y 0.06 g, aunque se mantiene el efecto depresivo del Zn-nHA aportado para dosis entre 25 y 75ppm en el sistema NFT, no puede definirse un valor máximo para el sistema FLO. La dosis de 100ppm presenta valores de 0.1 en NFT y de 0.03 en FLO (Figura 4). En términos generales esto significa que se redujo la biomasa de la parte aérea entre un 30 y un 60%. Se puede corroborar los resultados con una investigación de cinco nanomateriales, entre ellas ZnO, sobre la biomasa de *Cucurbita pepo* (calabacín) en soluciones hidropónicas a 1000 mg/L. Durante el ensayo hidropónico de 15 días la biomasa de las plantas se redujo a un 60% el cual indicaba que la fitotoxicidad proviene de las propias nanopartículas elementales (Stampoulis, Sinha, & White, 2009).

Análisis Elemental

Los valores medios de los análisis elementales se encuentran en la Tabla 4. Todos los elementos analizados presentan valores estadísticamente (excepto el N) más elevados en las plántulas cultivadas en NFT lo cual confirma que la disponibilidad constante de agua gravitacional favorece el efecto de dilución o limita la concentración de iones dentro de la planta.

Como era previsible, las concentraciones de los elementos que se aportan en la formulación de la n-HA (P, Ca y Zn) muestran un comportamiento de incremento de la concentración creciente desde 0 a 100ppm (Tabla 4). El comportamiento de la concentración de Zn en planta es creciente en función de la dosis de Zn-nHA aportada, independiente del sistema de cultivo utilizado (Figura. 5). Se han observado comportamientos similares en diferentes especie, donde los valores críticos de Zinc van de 7a– 32 ppm (Castellanos & Santiago, 2014). Algunos estudios reportan la toxicidad de las nanopartículas de ZnO depende de la cantidad de Zinc que este disuelto en la solución. Solo una fracción de zinc disuelto esta biodisponible el cual puede ser absorbido o traslocado en diferentes partes de la planta. La solubilidad del oxido de zinc depende del pH, se puede disolver en medios ácidos o alcalinos (Adams, Lyon, & Alvarez, 2006; Siddiqi & Husen, 2017), aunque estos autores trabajan con nanopartículas de oxido de Zn en concentraciones mucho mayores a las utilizadas en este trabajo.

La concentración de Ca en planta crece exponencialmente con la concentración de nHA en sistema FLO, mientras que presenta un valor máximo cercano a 75ppm de nHA en la solución nutritiva en NFT. Por el contrario, la concentración de P crece exponencialmente con la concentración de nHA aportada en el sistema NFT, pero presenta un valor máximo para concentraciones entre 25 y 50 ppm de nHA en solución para el sistema FLO. Estos valores máximos podrían utilizarse como referencia para las dosis de aplicación de Zn-nHA en solución nutritiva para el crecimiento de plántulas en función del sistema de cultivo utilizado.

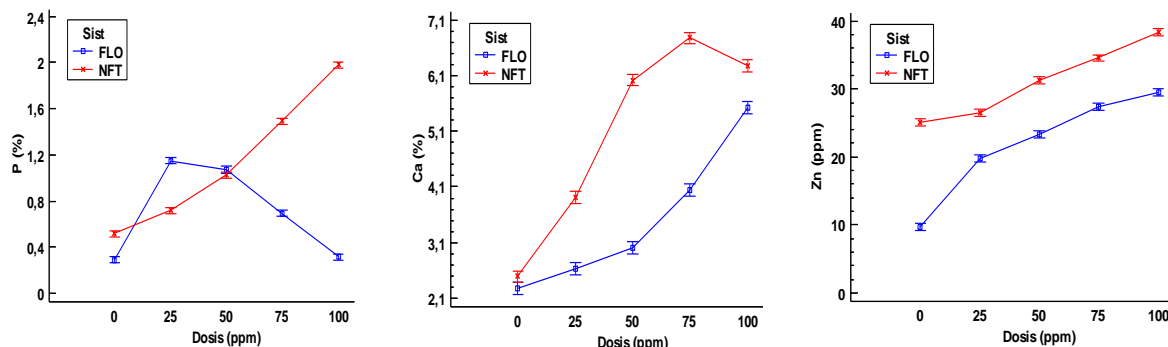


Figura. 5. Comportamiento de P, Ca y Zn para la interacción entre el Sistema de cultivo (S) y la Dosis de Zn-nHA aportada.

El contenido en N es estadísticamente similar en el tratamiento control (SNC) que en aquel al que se aportan 50 o 75 ppm, alcanzando una concentración ligeramente superior en el tratamiento con 100ppm muy inferior en el tratamiento de 25 ppm. No existe interacción SxC, lo que indica que este comportamiento es independiente del sistema de cultivo utilizado, posiblemente debido a la elevada disponibilidad de las formas de N utilizadas (Figura 6). Servin y colaboradores (2012) han estudiado el efecto de nanopartículas de TiO₂ en plantas de pepino. Descubrieron que el N en la raíz se convirtió en nitrógeno orgánico aumentando hasta un 51%. Se cree que estas nanopartículas promueven el crecimiento de las raíces al estimular la acumulación de N.

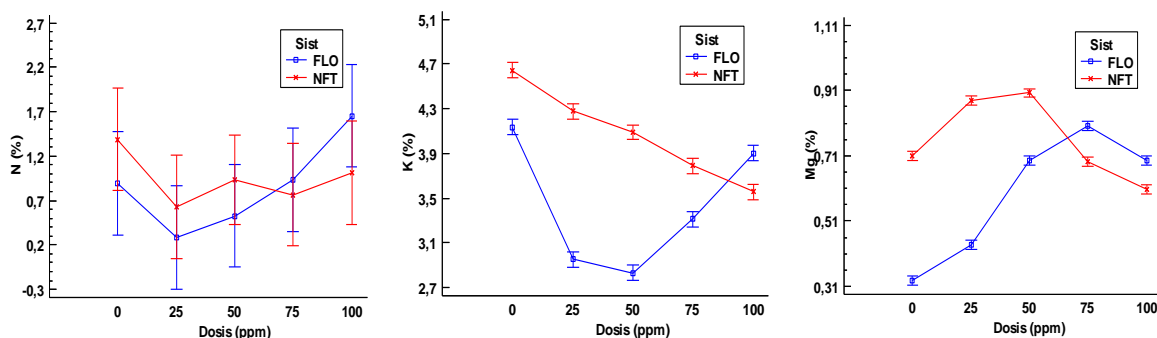


Figura 6. Comportamiento de N, K y Mg para la interacción entre el Sistema de cultivo (S) y la Dosis de Zn-nHA aportada (D).

El contenido de K (Figura 6) presenta un comportamiento inverso y antagónico al del P en NFT, reduciendo el contenido en planta a medida que aumenta la dosis de nHA aportada, por el contrario, el comportamiento en sistema FLO presenta un valor mínimo de concentración de K en planta para aporte entre 25 y 75 ppm de nHA. La concentración de Mg en planta presenta un valor máximo de aplicación de nHA de entre 25 a 50 ppm en sistema NFT y de 75 ppm en sistema FLO.

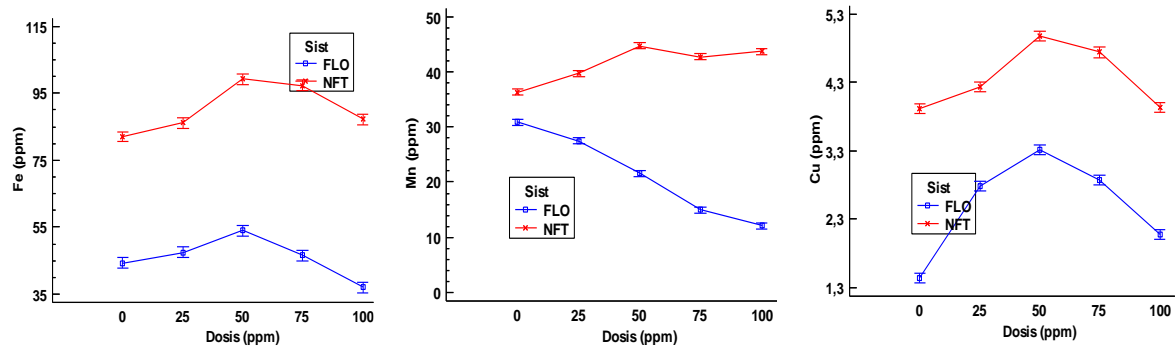


Figura. 7. Comportamiento de Fe, Mn y Cu para la interacción entre el Sistema de cultivo (S) y la Dosis de Zn-nHA aportada (D).

Las concentraciones de Fe y Cu en plántulas presentan un comportamiento similar e independiente del sistema de cultivo (Figura. 7), presentando en todos los casos, un máximo de asimilación a 50 ppm de Zn-nHA aportada en la solución nutritiva. Resultados similares fueron obtenidos por Sainju y Dris (2003), con dosis de acumulación elevada a dosis cercanas a 50 ppm y la menores de 100 ppm de Zn-O. Por el contrario, la concentración de Mn en planta muestra un comportamiento totalmente diferente en función del sistema de cultivo (o de la disponibilidad y frecuencia de aporte de Mn en la solución nutritiva), manteniendo una concentración relativamente independiente de la cantidad de Zn-nHA en la solución en sistema NFT, mientras que presenta una reducción constante del contenido en plántula con la cantidad de Zn-nHA aportada.

CONCLUSIONES

1. La utilización del nano hidroxapatita dopada con Zinc en la solución nutritiva puede mejorar la calidad de la planta en algunos parámetros de crecimiento y aumenta la concentración de P, Ca y Zn en plántula.
2. Adición de Zn-HA en el sistema NFT aumenta significativamente la producción de biomasa radical y el contenido elemental respecto del sistema flotante.
3. La adición de Zn-nHA a 75 ppm solo genera mayor crecimiento en longitud radical, mientras que Zn-nHA a 100 ppm origina, además de la mayor producción de biomasa radical, las mayores concentraciones de N,P, K, Ca y Zn en plántula.
4. En el sistema flotante los mejores resultados se de crecimiento y contenido elemental se consiguen con aportes de Zn-nHA a dosis entre 25 y 75 ppm, mientras que en NFT los resultados que presentan mejor calidad de plántula y de contenido elemental son superiores a 75 ppm de Zn-nHA.

Tabla 3 Medias de los parámetros de crecimiento empleadas para determinar el efecto de la dosificación de Zn-nHA y del sistema de cultivo.

	L rad	FW raíz	DW raíz	FW aéreo	DW aéreo
t (horas)	<0.05	-	-	-	-
Sistema	<0.05	<0.05	<0.05	ns	<0.05
NFT	11.56a	0.17 b	0.039b	0.47a	0.082b
Flotante (FLO)	13.20b	0.07 a	0.014a	0.31a	0.041a
Dosis	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
0	13.18 bc	0.24 b	0.038 bc	1.12 b	0.157 b
25	11.38 ab	0.06 a	0.013 a	0.13 a	0.030 a
50	12.79 abc	0.07 a	0.014 a	0.17 a	0.027 a
75	14.86 c	0.07 a	0.023 ab	0.21 a	0.034 a
100	9.69 a	0.15 ab	0.040 c	0.31 a	0.059 a
SxD	ns	ns	<0.05	ns	ns

¹Longitud de la radícula (mm), ²Peso fresco de la raíz (g), ³Peso fresco de la parte aérea (g), ⁴Peso seco de la raíz (g), ⁵Peso seco de la parte aérea (g), SxD interacción del factor sistema y dosis. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 4 Valores medios de contenido elemental para determinar el efecto de la dosificación de Zn-nHA y del sistema de cultivo.

	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)
Sistema	ns	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
NFT	0.95 a	1.15 b	4.07 b	5.09 b	0.76 b	90.39 b	41.43 b	31.11 b	4.36 b
Flotante (FLO)	0.85 a	0.71 a	3.43 a	3.50 a	0.59 a	45.88 a	21.38 a	21.97 a	2.50 a
Dosis	ns	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
0	1.14 ab	0.4 a	4.39 d	2.39 a	0.52 a	63.15 a	33.6 c	17.39 a	2.67 a
25	0.45 a	0.93 b	3.62 b	3.27 b	0.66 b	66.8 b	33.56 c	23.15 b	3.51 c
50	0.73 ab	1.05 c	3.45 a	4.51 c	0.8 d	76.63 d	33.12 c	27.29 c	4.14 e
75	0.85 ab	1.09 d	3.55 ab	5.41 d	0.75 c	71.9 c	28.82 b	30.94 d	3.8 d
100	1.33 b	1.15 e	3.73 c	5.9 e	0.65 b	62.16 a	27.9 a	33.94 e	3 b
SxD	ns	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95%.

REFERENCIAS

- Adams, L. K., Lyon, D. Y., & Alvarez, P. J. J. (2006). Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Research*, 40(19), 3527–3532.
<https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2006.08.004>
- Castellanos, J., & Santiago, J. D. (2014). El Zinc (Zn), en la Nutrición de los Cultivos - Engormix. *Artículos Técnicos, Agricultura*.
- Castro-Restrepo, D. (2017). Nanotecnología en la agricultura. *Bionatura*, 2(3), 384–389.
<https://doi.org/10.21931/RB/2017.03.03.9>
- Faizan, M., Faraz, A., Yusuf, M., Khan, S. T., & Hayat, S. (2018). Zinc oxide nanoparticle-mediated changes in photosynthetic efficiency and antioxidant system of tomato plants. *Photosynthetica*, 56(2), 678–686. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0717-0>
- FAO. (2018). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Migración, agricultura y desarrollo rural. In J. Graziano da Silva (Ed.), *El Estado del Mundo*. (p. 187). Roma.: FAO.
- Figueiredo, D. D., Barros, P. M., Cordeiro, A. M., Serra, T. S., Lourenço, T., Chander, S., ... Saibo, N. J. M. (2012). Seven zinc-finger transcription factors are novel regulators of the stress responsive gene OsDREB1B. *Journal of Experimental Botany*, 63(10), 3643–3656.
<https://doi.org/10.1093/jxb/ers035>
- Haifa Group. (2018). Micronutrients fertilizer. Retrieved 12 September 2019, from <https://www.haifa-group.com/haifa-micro™-micronutrients-fertilizer-2>
- Lin, D., & Xing, B. (2007). Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*, 150(2), 243–250.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.01.016>
- OMS. (2016). Nutrientes. WHO. Biblioteca electrónica de documentación científica sobre medidas nutricionales (eLENA). Retrieved 12 September 2019, from <https://www.who.int/elena/nutrient/es/>
- OMS. (2018). Malnutrición. WHO. Biblioteca electrónica de documentación científica sobre medidas nutricionales (eLENA). Retrieved 12 September 2019, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>
- OMS. (2019). Administración de suplementos de micronutrientes a niños con malnutrición aguda grave. WHO. Biblioteca electrónica de documentación científica sobre medidas nutricionales (eLENA). Retrieved 12 September 2019, from https://www.who.int/elena/titles/micronutrients_sam/es/
- Poma, A., & Di Giorgio, M. (2008). Toxicogenomics to Improve Comprehension of the Mechanisms Underlying Responses of In Vitro and In Vivo Systems to Nanomaterials: A Review. *Current Genomics*, 9(8), 571–585.
<https://doi.org/10.2174/138920208786847962>
- Rai, M., & Ingle, A. (2012). Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect pests. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(2), 287–293.
<https://doi.org/10.1007/s00253-012-3969-4>
- Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., & Schulin, R. (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences*.
- Sainju, M. U., & Dris, R. (2003). (PDF) Mineral nutrition of tomato.
- Servin, A. D., Castillo-Michel, H., Hernandez-Viezcas, J. A., Diaz, B. C., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2012). Synchrotron Micro-XRF and Micro-XANES Confirmation of the Uptake and Translocation of TiO₂ Nanoparticles in Cucumber (*Cucumis sativus*) Plants. *Environmental Science & Technology*, 46(14), 7637–7643.
<https://doi.org/10.1021/es300955b>
- Siddiqi, K. S., & Husen, A. (2017). Plant Response to Engineered Metal Oxide Nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, 12(1), 92. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-1861-y>

- Stampoulis, D., Sinha, S. K., & White, J. C. (2009). Assay-Dependent Phytotoxicity of Nanoparticles to Plants. *Environmental Science & Technology*, 43(24), 9473–9479. <https://doi.org/10.1021/es901695c>
- Statgraphics Technologies Inc. (2018). STATGRAPHICS Centurion 18 versión 18.1.08 (64 bits). Licencia Académica.
- Tarafdar, J. C., Raliya, R., Mahawar, H., & Rathore, I. (2014). Development of Zinc Nanofertilizer to Enhance Crop Production in Pearl Millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research*. <https://doi.org/10.1007/s40003-014-0113-y>
- UN. (2017). *World Population Prospects: The 2017 Revision (Department of Economic and Social Affairs)*. Population Division. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- UN. (2018). World Urbanization Prospects: The 2018 Revision, Methodology. *Working Paper No. ESA/P/WP.252*, 54.
- Zeroni, M., Gale, J., & Ben-Asher, J. (1983). Root aeration in a deep hydroponic system and its effect on growth and yield of tomato. *Scientia Horticulturae*, 19(3–4), 213–220. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(83\)90066-3](https://doi.org/10.1016/0304-4238(83)90066-3)