



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN FOLIAR DE  
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO ZINC DOPADAS CON HIERRO  
SOBRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DE LA  
RIZOSFERA DE RÁBANO (*Raphanus sativus*).**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias**

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales  
(Orientación en Agricultura Sustentable)

P r e s e n t a

**Sandra Estefana Olachea Herrera**

La Paz, Baja California Sur, Marzo de 2026.

## ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las **14:00** horas del día **04** del mes de **marzo** del año **2026**, se procedió por las personas abajo firmantes, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN FOLIAR DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO ZINC DOPADAS CON HIERRO SOBRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DE LA RIZOSFERA DE RÁBANO (*Raphanus sativus*).**

Presentada por la alumna:

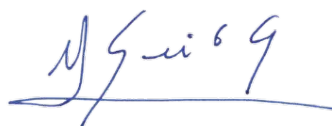
**SANDRA ESTEFANA OLACHEA HERRERA**

Aspirante al Grado de MAESTRA EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN AGRICULTURA SUSTENTABLE.

Después de intercambiar opiniones las personas integrantes de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISIÓN REVISORA

Grado y nombre	Estatus	Firma
Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada	Co-Director de Tesis	
Dr. Luis Hernández Adame	Co-Director de Tesis	
Dra. María Dolores Rodríguez Torres	Co-Tutora de Tesis	



**Dra. Alejandra Nieto Garibay,**  
Directora de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos




La Paz, Baja California Sur, a 06 de marzo de 2026.

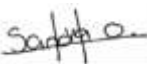
Los miembros del comité de tesis del (la) estudiante Sandra Estefana Olachea Herrera del Programa de Maestría en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:


- Herramienta antiplagio: iThenticate
  - Filtros utilizados: Bibliografía, texto citado, coincidencias pequeñas (menos de 10 palabras), abstracto/resumen, Métodos y materiales
  - Porcentajes de similitud: 10%
- Se muestra captura de pantalla



**Co/Directores**   
 \_\_\_\_\_  
 Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada

  
 \_\_\_\_\_  
 Dr. Luis Hernández Adame

**Estudiante**   
 \_\_\_\_\_  
 Sandra Estefana Olachea Herrera

**Personal técnico de asesoría en el análisis**   
 \_\_\_\_\_  
 Téc. Susana Luna García

## **Conformación de Comités**

### **Comité Tutorial**

Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.  
Co-Director de Tesis

Dr. Luis Hernández Adame  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.  
Co-Director de Tesis

Dra. María Dolores Rodríguez Torres  
CIIDIR IPN Unidad Michoacán  
Co-Tutora de Tesis

### **Comité Revisor de Tesis**

Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada  
Dr. Luis Hernández Adame  
Dra. María Dolores Rodríguez Torres

### **Jurado de Examen**

Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada  
Dr. Luis Hernández Adame  
Dra. María Dolores Rodríguez Torres

### **Suplente**

Dr. Luis Daniel Moreno Figueroa

## Resumen

En la búsqueda de alternativas más sustentables para mejorar la productividad agrícola, el uso de nanopartículas (NPs) es una estrategia prometedora para optimizar la fertilización, particularmente en el suministro eficiente de nutrientes limitantes en los suelos. Sin embargo, aunque podrían aumentar la disponibilidad y eficiencia de absorción de elementos esenciales, aún no se conocen a profundidad los efectos que estos tratamientos pueden ejercer sobre las comunidades bacterianas del suelo y la raíz, las cuales también desempeñan un papel fundamental en la salud y nutrición vegetal. En este proyecto, se sintetizaron y caracterizaron NPs de óxido de zinc dopadas con hierro (ZnO:Fe) para evaluar el efecto de la aplicación foliar de sobre las comunidades bacterianas de la rizosfera de rábano (*Raphanus sativus*). Se realizaron dos ensayos; el primero se llevó a cabo en suelo agrícola, aplicando directamente un fertilizante comercial (Monster) y NPs para observar el efecto directo sobre las comunidades bacterianas. En el segundo ensayo, se aplicaron los tratamientos de manera foliar en plantas de rábano para evaluar los cambios en las comunidades bacterianas (mediados por la planta) en las comunidades de la rizosfera. En ambos casos, se evaluó la diversidad y estructura de las comunidades bacterianas por secuenciación de amplicones de 16S rRNA. Los resultados mostraron que la aplicación directa al suelo no generó alteraciones significativas en las comunidades bacterianas. En planta, la aplicación foliar de NP ZnO:Fe mostró ligeros incrementos en el tamaño y el área radicular en comparación con los demás tratamientos, acompañados de cambios puntuales en la composición de las comunidades bacterianas. Específicamente, encontramos que el tratamiento foliar con ZnO incrementó la abundancia relativa de las bacterias de las familias Intrasporangiaceae, Chitinophagaceae y Nitrosomonadaceae, mientras que la aplicación foliar de ZnO:Fe ocasionó aumentos en las familias Bacillaceae, Phaselicytidaceae, Caulobacteraceae y disminución en la familia Pedosphaeraceae. Nuestros datos indican que la interacción planta–NP puede modular indirectamente la composición bacteriana de la rizosfera, ya que no fueron observados tras la aplicación directa en suelo. En conjunto, este estudio aporta evidencia sobre cómo la aplicación foliar de nanopartículas puede influir indirectamente en la estructura de las comunidades bacterianas de la rizosfera, destacando la importancia de considerar las interacciones bacteria–rizosfera y suelo-nanomaterial para evaluar el uso sostenible de NPs en sistemas agrícolas.

**Palabras clave:** Agronotecnología, micronutrientes, nanopartículas, suelo agrícola, rizosfera  
**ORCID ID:** 0009-0006-9509-9796



Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada

Vo. Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. Luis Hernández Adame

## Summary

In the search for more sustainable alternatives to improve agricultural productivity, the use of nanoparticles (NPs) is a promising strategy to optimize fertilization, particularly in the efficient supply of nutrients that are limiting in soils. However, although these materials could increase the availability and uptake efficiency of essential elements, the effects that these treatments may exert on soil and root bacterial communities are still not fully understood; importantly, these communities also play a fundamental role in plant health and nutrition. In this project, iron-doped zinc oxide nanoparticles (ZnO:Fe NPs) were synthesized and characterized to evaluate the effect of their foliar application on the bacterial communities of the rhizosphere of radish (*Raphanus sativus*). Two experiments were conducted. The first was carried out in agricultural soil, where a commercial fertilizer (Monster) and NPs were applied directly to observe their direct effect on bacterial communities. In the second experiment, treatments were applied foliarly to radish plants in order to evaluate plant-mediated changes in rhizosphere bacterial communities. In both cases, the diversity and structure of bacterial communities were evaluated through 16S rRNA amplicon sequencing. The results showed that direct soil application did not generate significant alterations in bacterial communities. In plants, foliar application of ZnO:Fe NPs showed slight increases in root size and root area compared with the other treatments, accompanied by specific changes in the composition of bacterial communities. Specifically, we found that foliar treatment with ZnO increased the relative abundance of bacteria belonging to the families Intrasporangiaceae, Chitinophagaceae, and Nitrosomonadaceae, whereas foliar application of ZnO:Fe caused increases in the families Bacillaceae, Phaselicytidaceae, and Caulobacteraceae, along with a decrease in the family Pedosphaeraceae. Our data indicate that the plant–NP interaction may indirectly modulate the bacterial composition of the rhizosphere, since these effects were not observed after direct application to the soil. Overall, this study provides evidence that foliar application of nanoparticles can indirectly influence the structure of rhizosphere bacterial communities, highlighting the importance of considering bacteria–rhizosphere and soil–nanomaterial interactions when evaluating the sustainable use of NPs in agricultural systems.

**Keywords:** Agronanotechnology, micronutrients, nanoparticles, agricultural soil, rhizosphere.  
**ORCID ID:** 0009-0006-9509-9796

Vo. Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada



Dr. Luis Hernández Adame

## Dedicatoria

A mi abuelo y a mi padre, en la parte del universo en la que se encuentren.

*You are on your kid, you always have been.*

- T.S.

## Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por otorgar la beca No. 1320510 para realizar mis estudios de posgrado. Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) y a la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos, por permitirme llevar a cabo mis estudios de Maestría en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales.

A mis directores de tesis, Dr. Jorge Gustavo Rocha Estrada y Dr. Luis Hernández Adame, quienes, gracias a su confianza al aceptar asesorar mi proyecto de tesis en un tiempo limitado, apoyo constante, y muchísima paciencia, contribuyeron no solo en mi formación como maestra en ciencias, sino también, como parte de mi desarrollo personal.

A la Dra. Dra. María Dolores Rodríguez Torres por su apoyo y paciencia a lo largo de desarrollo de esta investigación. Al Dr. Eduardo Guevara Hernández por su apoyo esencial para el procesamiento de datos.

A la Dra. Gabriela Palestino y a su grupo de investigación de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, por recibirme y por el trabajo de caracterización de NPs de esta investigación.

A los integrantes del grupo de Nanotecnología e interacciones bacterianas del CIBNOR, por sus comentarios y sugerencias a lo largo del desarrollo del proyecto.

Al M.C. José Manuel Melero Astorga por toda su ayuda con el trabajo experimental. Al Dr. Ángel Carrillo y al técnico Ariel Arturo Cruz por permitirme el acceso a sus laboratorios y apoyarme para la realización de diferentes técnicas.

A la Dra. Blanca Romero López y a todos los estudiantes del laboratorio de Microbiología Ambiental; gracias por permitirme desarrollar gran parte de mi trabajo con ustedes y por siempre brindarme su apoyo y amistad.

A la Dra. Arely Pérez; me gusta creer que todo pasa por algo, y si le tuviera que encontrar algún propósito a mi cambio de laboratorio y empezar un tema nuevo desde cero a mitad de la maestría, sería el conocer una persona tan noble, solidaria y gran amiga como tú. Sin ti no lo hubiera logrado.

A mi familia y amigos que son un parte fundamental en todos los aspectos de mi vida, en especial a mi madre y mi abuela, gracias por siempre darme la libertad de elegir mi camino, enseñarme la importancia del trabajo y apoyarme cada una a su manera.

A la M.V.Z. Edith González gracias por siempre estar, apoyarme en todo, creer en mí y ser parte de mi día a día. Tu forma de ser y ver la vida me ha ayudado cuando más lo he necesitado.

Al M.V.Z. Carlos Cota, muchas gracias por tus enseñanzas, tu honestidad, tu manera de trabajar que me inspira a ser mejor y por estar conmigo en cada etapa, ha sido un honor crecer contigo.

A la M.V.Z. Janice Vázquez y M.V.Z. Regina Morales, que han sido un gran apoyo para mis estos últimos años, su amistad incondicional y complicidad es algo que siempre voy a agradecer.

A los roomies Regina Valdovinos, Nath Joachin y Jair Rojas, gracias por todas las tardes de juegos de mesa, hikes, días de playa y atardeceres que me regalaron, pero sobre todo por elegir compartir sus experiencias de vida conmigo.

*And last but not least*, a dios y la vida que me dio grandes lecciones durante estos años, unas muy buenas llenas de conocimientos y aventuras nuevas y otras unas que me enseñaron lo que significa la resiliencia y que al final todo pasa.

## Contenido

<b>Resumen</b> .....	<b>i</b>
<b>Summary</b> .....	<b>ii</b>
<b>Dedicatoria</b> .....	<b>iii</b>
<b>Agradecimientos</b> .....	<b>iv</b>
<b>Contenido</b> .....	<b>vi</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>viii</b>
<b>Lista de tablas</b> .....	<b>x</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Nanotecnología .....	1
1.2 Nanopartículas .....	2
1.3 Síntesis de nanopartículas .....	3
1.4 Técnicas de caracterización .....	4
1.4.1 Difracción de rayos X (XRD) .....	4
1.4.2 Espectroscopía de absorción Uv-Vis .....	5
1.4.3 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) .....	6
1.4.4 Dispersión dinámica de luz (DLS) .....	7
1.4.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM) .....	9
1.5 Nanopartículas de óxido de zinc .....	9
1.6 Beneficios de la nanotecnología en la agricultura .....	11
1.7 La rizosfera e importancia de los microorganismos .....	12
1.7.1 Identificación de los microorganismos de la rizosfera por metagenómica 16S rRNA .....	13
1.8 Rábano ( <i>Raphanus sativus</i> ) como modelo de estudio .....	15
1.8.1 Aplicación foliar de NPs en plantas de rábano ( <i>Raphanus sativus</i> ) .....	16
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	<b>18</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>20</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	<b>21</b>
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
5.1 Objetivo general .....	22
5.2 Objetivos particulares .....	22
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
6.1 Síntesis NPs ZnO .....	23
6.2 Síntesis de NPs de ZnO:Fe .....	24
6.3 Evaluación de las comunidades bacterianas de la rizosfera .....	25
6.3.1 Aplicación de NPs en suelo .....	26
6.3.2 Aplicación foliar de NPs .....	26
6.4 Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación .....	28
6.5 Análisis bioinformáticos .....	29
6.5.1 Estructura de la comunidad bacteriana .....	29
6.5.2 Análisis estadístico del efecto de los tratamientos sobre la diversidad de las comunidades y abundancia de grupos taxonómicos .....	29
<b>7. RESULTADOS</b> .....	<b>31</b>
7.1 Síntesis de las NPs .....	31

7.2 Caracterización de NPs .....	31
7.2.1 Espectroscopía de ultravioleta visible (UV-Vis).....	31
7.2.2 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	32
7.2.3 Difracción de rayos x (XRD).....	33
7.2.4 Dispersión dinámica de luz (DLS).....	34
7.2.5 Microscopia electrónica de barrido.....	35
7.2.6 Aplicación de NPs en invernadero .....	37
7.3 Cambios en los parámetros morfológicos de las raíces de rábano ( <i>Raphanus sativus</i> ) tratadas con NPs.....	37
7.4 Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación de ADN de muestras de suelo y rizosfera .....	39
7.5 Efecto de la aplicación de nanopartículas sobre la diversidad de comunidades bacterianas .....	41
7.5.1 Diversidad alfa.....	41
7.5.2 Diversidad beta .....	42
7.6 Cambios en las comunidades bacterianas entre el suelo y rizosfera .....	44
7.7 Estructura de las comunidades bacterianas.....	45
7.8 Efecto de las NPs sobre taxones específicos en suelo y rizosfera.....	47
<b>8. DISCUSIÓN.....</b>	<b>53</b>
8.1 Caracterización de nanopartículas .....	53
8.2 Cambios en parámetros morfológicos de rábano ( <i>Raphanus sativus</i> ).....	54
8.3 Cambios en la estructura de las comunidades bacterianas .....	55
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>57</b>
<b>10. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>58</b>

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Algunos ejemplos representativos de NPs orgánicas e inorgánicas.....	2
<b>Figura 2.</b> Método <i>top-down</i> y <i>bottom-up</i> para la síntesis de NPs (Lithi <i>et al.</i> , 2025). .....	3
<b>Figura 3.</b> Ley de Bragg.....	5
<b>Figura 4.</b> Ley de Beer-Lambert (Bhattacharjee, 2016).....	6
<b>Figura 5.</b> Vibraciones inducidas por IR (Iravani, S., 2011).....	7
<b>Figura 6.</b> Esquema representativo de las áreas medidas por DLS Y TEM en las partículas (Bhattacharjee, 2016).....	8
<b>Figura 7.</b> Diagrama sobre el fundamento de SEM(Sabir <i>et al.</i> , 2014).....	9
<b>Figura 8.</b> Estructura cristalina hexagonal del óxido de zinc tipo <i>wurtzita</i> (Sabir <i>et al.</i> , 2014). .....	10
<b>Figura 9.</b> Ejemplos de las aplicaciones más importantes de la agronanotecnología. ....	11
<b>Figura 10.</b> Localización de rizosfera en la planta (Fierer, 2017). .....	13
<b>Figura 11.</b> Gen 16S rRNA de <i>E.coli</i> con sus regiones variables (Callahan <i>et al.</i> , 2016). .....	14
<b>Figura 12.</b> Imagen representativa del rábano ( <i>Raphanus sativus</i> ).....	16
<b>Figura 13.</b> Representación esquemática de la anatomía foliar de una planta, que muestra las principales estructuras involucradas en el intercambio gaseoso y la absorción foliar.....	16
<b>Figura 14.</b> Esquema representativo del ingreso foliar de las NPs, su dispersión por el sistema radicular en iones y su llegada a la rizosfera. ....	17
<b>Figura 15.</b> Diagrama de flujo de la síntesis de NPs ZnO. ....	24
<b>Figura 16.</b> Ubicación de la localidad El Centenario, La Paz, B.C.S. ....	25
<b>Figura 17.</b> Aplicación de los tratamientos en el primer y segundo experimento. ....	25
<b>Figura 18.</b> Disposición experimental del ensayo de suelo en laboratorio para cada una de las unidades experimentales. ....	26
<b>Figura 19.</b> Representación de la aplicación foliar de NPs en el experimento en invernadero. ....	27
<b>Figura 20.</b> Polvos resultantes de la síntesis de NP ZnO y ZnO:Fe.....	31
<b>Figura 21.</b> Espectros de absorción UV-Vis correspondientes a NP ZnO y NP ZnO:Fe, empleados para evaluar sus propiedades ópticas y confirmar la formación del material nanométrico. ....	32
<b>Figura 22.</b> Espectros FTIR de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y óxido de zinc dopadas con hierro (ZnO:Fe), utilizados para identificar los grupos funcionales y enlaces característicos del material sintetizado.....	33
<b>Figura 23.</b> Patrones de difracción de rayos X (DRX) de NP ZnO y NP ZnO:Fe. ....	34
<b>Figura 24.</b> Representación esquemática de la estructura cristalina del óxido de zinc (ZnO) con iones de hierro (Fe) insertados en su matriz cristalina.....	34
<b>Figura 25.</b> Micrografías de las NP ZnO obtenidas mediante microscopía electrónica.....	36
<b>Figura 26.</b> Micrografías de las NP ZnO:Fe obtenidas mediante microscopía electrónica.....	36
<b>Figura 27.</b> Etapas del desarrollo del cultivo de rábano ( <i>Raphanus sativus</i> ): a) día de la siembra de las semillas; b) estado de la planta al momento de la primera aplicación de los tratamientos; y c) planta de rábano al último día del ciclo de cultivo. ....	37
<b>Figura 28.</b> Comparación visual del desarrollo radicular del rábano ( <i>Raphanus sativus</i> ) bajo los diferentes tratamientos.....	38
<b>Figura 29.</b> Parámetros morfológicos de raíces de rábano ( <i>Raphanus sativus</i> ) a)peso fresco, b)área de la raíz y c)longitud máxima de raíz. ....	38
<b>Figura 30.</b> Electroforesis en gel de agarosa de los productos de amplificación por PCR correspondientes al experimento en suelo.....	40

<b>Figura 31.</b> Control de calidad de las lecturas de secuenciación de una muestra representativa. a) Distribución de la calidad de las bases ( <i>Phred score</i> ) a lo largo de la longitud de las lecturas crudas, b) Distribución de la longitud de las lecturas obtenidas. ....	41
<b>Figura 32.</b> a) Índices de riqueza, b) uniformidad y c) diversidad para ambos experimentos analizados, los asteriscos arriba de las barras indican la significancia de la muestra contra el control de suelo donde p: <.05 *, <.01 **, <.001 *** y <.0001 ****. ....	42
<b>Figura 33.</b> Análisis de coordenadas principales (PCoA) de la estructura de la comunidad bacteriana. ....	43
<b>Figura 34.</b> Cambio relativo de abundancia de los principales taxones a nivel familia del experimento de rizosfera en comparación del experimento del suelo. ....	44
<b>Figura 35.</b> Abundancia relativa de los principales phyla bacterianos en muestras de suelo y rizosfera bajo diferentes tratamientos. ....	46
<b>Figura 36.</b> Abundancia relativa de los órdenes bacterianos dominantes en muestras de suelo y rizosfera. ....	47
<b>Figura 37.</b> Mapa de calor de la abundancia relativa de las familias bacterianas. ....	48

**Lista de tablas**

<b>Tabla 1.</b> Sistemas empleados para la síntesis de NPs.....	24
<b>Tabla 2.</b> Valores del tamaño hidrodinámico en nm obtenidos mediante dispersión dinámica de luz (DLS) de las NP ZnO y NP ZnO:Fe. ....	35
<b>Tabla 3.</b> Abundancia relativa con diferencias significativas entre el control del experimento de suelo contra los tratamientos.....	50
<b>Tabla 4.</b> Grupos taxonómicos a nivel de familia con abundancia relativa con diferencias significativas entre el control del experimento de rizosfera contra los tratamientos.....	52

**Abreviaturas**

<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>B.C.S</b>	Baja California Sur
<b>C</b>	Carbono
<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>DLS</b>	Dispersión dinámica de la luz
<b>FTIR</b>	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier
<b>g</b>	Gramos
<b>nm</b>	Nanómetros
<b>Min</b>	Minutos
<b>NPs</b>	Nanopartículas
<b>NP ZnO:Fe</b>	Nanopartículas de óxido de zinc dopadas con hierro
<b>NP ZnO</b>	Nanopartículas de óxido de zinc
<b>O</b>	Oxígeno
<b>PCoA</b>	Análisis de coordenadas principales
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>SEM</b>	Microscopia electrónica de barrido
<b>TEM</b>	microscopio electrónico de transmisión
<b>UV-vis</b>	Espectroscopia ultravioleta visible
<b>XRD</b>	Difracción de rayos X

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Nanotecnología

La nanotecnología se define como la ciencia dedicada al diseño, producción, caracterización y aplicación de materiales a escala nanométrica. Un nanómetro representa la milmillonésima parte de un metro ( $10^{-9}$  m = 1 nm), por lo que el rango en el cual se encuentran las partículas o materiales de estudio corresponde entre 1 a 100 nanómetros (nm) (Quintili, 2012). En esta escala, la reducción de tamaño del material provoca un confinamiento cuántico de los electrones, lo que modula las propiedades intrínsecas de los materiales y los convierte en sistemas con propiedades distintas de las observadas en su forma macroscópica, incluyendo cambios en la conductividad eléctrica, reactividad química, comportamiento óptico, interacción biológica y/o estabilidad térmica y estructura. Estas características permiten que los nanomateriales tengan un amplio potencial de aplicaciones (Auffan *et al.*, 2009).

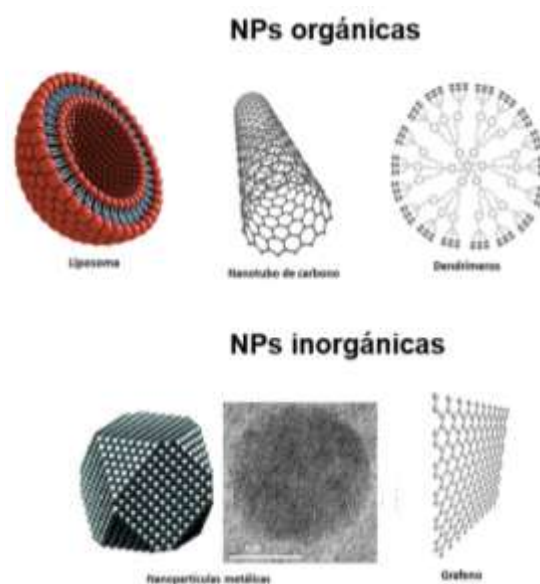
La nanotecnología se considera un área emergente de la ciencia con un gran impacto en las actividades cotidianas. El conocimiento sobre procesos químicos y físicos a nivel molecular se convierte poco a poco en un mayor interés en investigaciones multidisciplinarias, las cuales representan una oportunidad en el campo científico-tecnológico, especialmente en medicina y agricultura (Mejías *et al.*, 2009). En el ámbito agrícola, la nanotecnología ha comenzado a impulsar el desarrollo de nuevas formulaciones de pesticidas, promotores de crecimiento, inductores de resistencia al estrés biótico y abiótico, fertilizantes y algunas aplicaciones más, con el objetivo de mejorar la calidad de los cultivos, eficientar el aprovechamiento de los recursos e inducir una agricultura más sustentable (Kah *et al.*, 2018).

Respecto al contexto agroambiental, la nanotecnología representa una oportunidad para enfrentar retos relacionados con la seguridad alimentaria, así como para desarrollar sistemas de uso eficiente de recursos y mitigar impactos ambientales negativos. Sin embargo, mientras más es el auge de su uso, igualmente mayor es la preocupación sobre los efectos biológicos y ambientales de los nanomateriales liberados en el ecosistema (Velásquez *et al.*, 2015). Asimismo, el empleo de materiales a nanoescala en la remediación de suelos y aguas altamente contaminados ha demostrado resultados prometedores, debido a su elevada área superficial

específica y a su notable capacidad de adsorción y transformación de diversos contaminantes. No obstante, es indispensable evaluar de forma integral su destino, persistencia y posibles efectos en el suelo agrícola, a fin de asegurar que su aplicación contribuya a la recuperación ambiental sin generar impactos adversos en los ecosistemas (Guerra *et al.*, 2016).

## 1.2 Nanopartículas

Las partículas que tiene como objetivo sintetizar la nanotecnología se denominan nanopartículas (NPs), las cuales son formadas por átomos de igual o diferente naturaleza y presentan al menos una de sus dimensiones en el rango de tamaño de 1 a 100 nm. De manera general las NPs pueden clasificarse en dos grandes grupos: 1) NPs orgánicas y 2) NPs inorgánicas (Fig. 1). Las orgánicas se caracterizan por estar compuestas principalmente por átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Estas nanopartículas destacan por su biodegradabilidad y biocompatibilidad, lo que favorece su aplicación en biomedicina o en áreas de biotecnología. Por otro lado, las NPs inorgánicas son materiales compuestos por elementos o compuestos de naturaleza no orgánica como oro o plata, óxidos metálicos (como dióxido de titanio o óxido de zinc) y materiales magnéticos (como óxidos de hierro) que presentan al menos una dimensión en el rango de 1 a 100 nanómetros (Velásquez *et al.*, 2015).

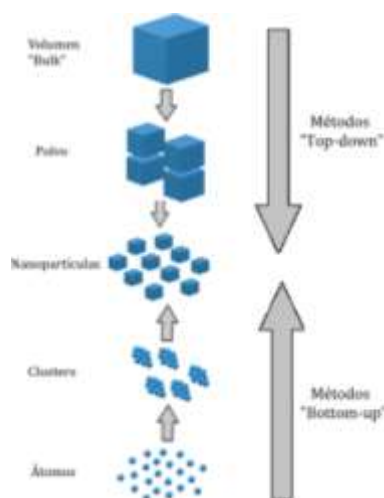


**Figura 1.** Algunos ejemplos representativos de NPs orgánicas e inorgánicas.

No obstante, el incremento en la aplicación de nanopartículas ha generado una serie de preguntas respecto a su destino, comportamiento y posibles efectos en el medio ambiente, ya que pueden interactuar con organismos del suelo y plantas modificando procesos fisiológicos y ecológicos fundamentales (Kumari *et al.*, 2010).

### 1.3 Síntesis de nanopartículas

Las NPs se producen principalmente mediante dos enfoques de síntesis: 1) top-down y 2) bottom-up (Fig. 2) El método top-down (descendente) consiste en reducir el tamaño de un material a granel hasta alcanzar la escala nanométrica. Este proceso implica la fragmentación o desintegración controlada del material inicial mediante técnicas físicas o mecánicas, como la molienda, la litografía o la ablación, con el objetivo de obtener partículas de dimensiones nanométricas. Por otro lado, el método bottom-up (ascendente) se basa en la construcción de las nanopartículas a partir de átomos, iones o moléculas que se ensamblan progresivamente hasta formar estructuras organizadas. Este enfoque suele involucrar procesos químicos, como la condensación de especies provenientes de la volatilización de un sólido o reacciones en solución, permitiendo un control más preciso del tamaño, la morfología y la estructura final de las nanopartículas (Suchanek & Riman, 2006).



**Figura 2.** Método *top-down* y *bottom-up* para la síntesis de NPs (Lithi *et al.*, 2025).

Dentro de las técnicas de *bottom-down*, se encuentra la síntesis hidrotérmal. Este método consiste en colocar las sales precursoras en agua dentro de un sistema cerrado, para posteriormente ser

llevadas a temperaturas superiores a 100 °C. Para algunos materiales, también es necesario llevar la reacción a alta presión y mantenerla así durante un periodo de tiempo determinado, lo que permite producir materiales con alta cristalinidad, pureza y una distribución estrecha de morfología y tamaño. Asimismo, existen variantes de este método en donde se utiliza algún otro solvente diferente del agua (síntesis solvotermal), y algunas otras en donde la síntesis hidrotermal se combina con microondas o ultrasonido para mejorar las condiciones de reacción (Suchanek & Riman, 2006).

En la reacción solvotermal, se utiliza un solvente a baja presión y temperatura por encima de su punto crítico para incrementar la solubilidad del sólido. Los disolventes empleados pueden ser muy variados; los más comunes son solventes orgánicos como alcoholes y glicoles (Li & Wu, 2026).

#### **1.4 Técnicas de caracterización**

La caracterización de las NPs es un proceso fundamental para comprender sus propiedades fisicoquímicas y entender la relación directa entre la estructura y funcionalidad de las mismas. Debido a su tamaño nanométrico, es necesario emplear técnicas analíticas complementarias que permitan evaluar características estructurales, químicas, ópticas y morfológicas. Algunas de estas técnicas son la espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos X (XRD), espectroscopía de absorción UV-vis (Abs UV-vis), espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS), dispersión dinámica de luz (DLS) y microscopía electrónica de barrido (SEM), entre algunas otras. Estas técnicas son esenciales para confirmar una síntesis de NPs exitosa, así como determinar sus propiedades fisicoquímicas y entender a profundidad parte de los mecanismos de interacción en sus diferentes aplicaciones (Biesinger, M., 2017).

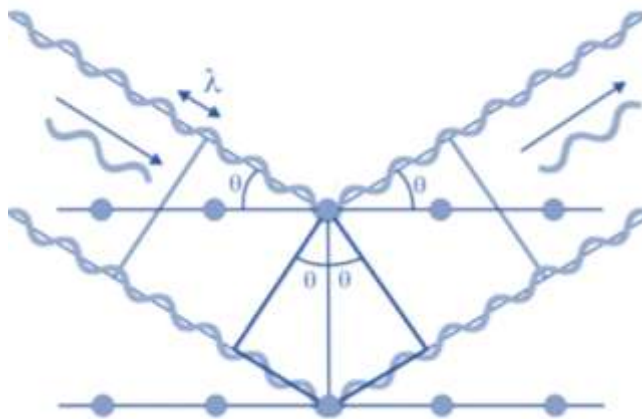
##### **1.4.1 Difracción de rayos X (XRD)**

La difracción de rayos X (XRD) es una de las técnicas más usadas para la caracterización de materiales, ya que permite determinar la estructura cristalina, fase y tamaño promedio del cristal en las NPs (Campos, 2013; Bunaciu *et al.*, 2025). A partir del análisis de los patrones de difracción,

es posible identificar la naturaleza del material y la formación de planos cristalográficos específicos (Iravani, S., 2011).

Esta técnica, se basa en la incidencia de un haz de rayos X el cual es dirigido sobre el material, que puede ser polvo o sólido, en donde se relaciona la longitud de onda ( $\lambda$ ) del haz incidente de rayos X (radiación  $k_{\alpha}$  emitida por el cobre a  $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ) con la distancia interatómica y el ángulo de incidencia de este haz sobre la muestra que analiza (Campos, 2013; Bunaciu *et al.*, 2025).

Su principio fundamental se basa en la ley de Bragg, que consiste en la proyección de haces de rayos X (R-X) difractados en los planos cristalográficos de los átomos que componen el material. Un diagrama representativo que explica el fundamento de la técnica (Fig. 3), donde  $n$  es un número entero,  $\lambda$  es la longitud de onda de los rayos X,  $d$  es la distancia entre los planos de la red cristalina y  $\vartheta$  es el ángulo entre los rayos incidentes y los planos de dispersión (Bunaciu *et al.*, 2015).



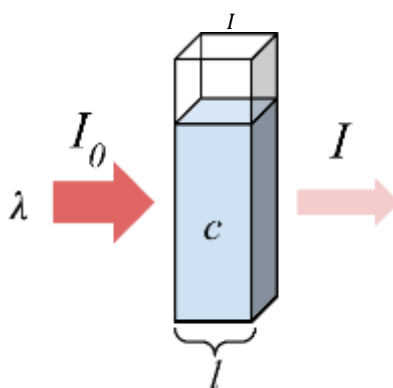
**Figura 3.** Ley de Bragg.

#### 1.4.2 Espectroscopía de absorción Uv-Vis

La técnica de espectroscopía de absorción UV-Visible (UV-Vis) se basa en la interacción de la radiación electromagnética en la región ultravioleta y visible con la materia. Cuando un haz de luz monocromática atraviesa una muestra, parte de la radiación puede ser absorbida, transmitida o reflejada, dependiendo de las propiedades ópticas del sistema analizado. En disoluciones, la

magnitud más comúnmente medida es la absorbancia (A), aunque también pueden determinarse la transmitancia (T) y, en sistemas sólidos o superficies, la reflectancia (R). La absorbancia está relacionada con la cantidad de luz absorbida por el analito y depende de tres factores principales: la concentración del analito (c), la longitud del camino óptico de la celda (b) y la capacidad intrínseca de absorción de la especie química, expresada mediante el coeficiente de absorción molar ( $\epsilon$ ). Esta relación se describe mediante la ley de Beer-Lambert (Fig. 4) en la siguiente ecuación (Iravani, S., 2011):

$$A = -\log T = \frac{\log I_0}{I} = \epsilon bc \quad (1)$$



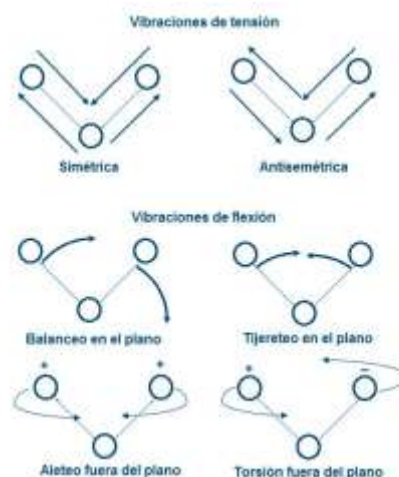
**Figura 4.** Ley de Beer-Lambert (Bhattacharjee, 2016).

Con esta técnica es posible determinar de manera cualitativa y cuantitativa una gran variedad de materiales o moléculas de acuerdo con sus propiedades ópticas y que además se encuentren comprendidas entre los 190 nm y 780 nm, aunque se puede expandir hasta los 1000 nm (Lahiani *et al.*, 2013).

#### 1.4.3 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

La técnica de espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) permite identificar los grupos funcionales presentes en la superficie de las nanopartículas mediante la detección de vibraciones moleculares características (Iravani, S., 2011).

Esta técnica se basa en la medida de la excitación de las moléculas y grupos funcionales de las muestras que son expuestas a un haz de luz infrarroja (IR). Cuando la luz IR entra en contacto con los materiales, crea vibraciones en regiones específicas del espectro IR, las cuales pueden clasificarse en vibraciones de tensión o flexión. Estas deformaciones en los enlaces generan movimientos simétricos y asimétricos, los cuales son únicos para cada compuesto y son medidos dentro de infrarrojo medio el cual abarca desde los 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$  por lo que Los espectros de infrarrojo son conocidos como la “huella digital” de las moléculas porque cada compuesto presenta un patrón único de bandas de absorción Un esquema representativo de las vibraciones en la región del IR (Fig. 5), donde es posible observar los distintos modos de tensión (simétrica y antisimétrica) y de flexión (balanceo, tijereo, aleteo y torsión), los cuales describen los movimientos fundamentales que experimentan los enlaces químicos al absorber radiación infrarroja (Barraza-Garza *et al.*, 2013).



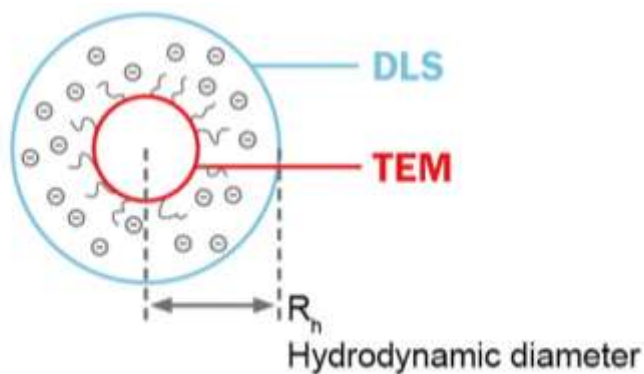
**Figura 5.** Vibraciones inducidas por IR (Iravani, S., 2011).

#### 1.4.4 Dispersión dinámica de luz (DLS)

La dispersión dinámica de luz es una técnica utilizada para caracterizar la movilidad electroforética de sistemas coloidales, carga superficial, peso molecular y diámetro hidrodinámico de partículas en una suspensión coloidal. Esta técnica se basa en el análisis de las fluctuaciones temporales en la intensidad de la luz dispersada por partículas que experimentan movimiento browniano en un medio líquido (Kołodziejczak-Radzimska & Jesionowski, 2014).

El tamaño hidrodinámico considera no solo el núcleo sólido de una NP, sino también cualquier capa superficial asociada, como moléculas de solvente, recubrimientos o moléculas orgánicas superficiales. Además del tamaño promedio, la técnica de DLS permite evaluar la dispersión de la muestra a través del índice de polidispersidad (PDI), parámetro que proporciona información sobre la homogeneidad del sistema coloidal. Valores bajos de PDI indican una distribución de tamaño estrecha, mientras que valores cercanos a 1, sugieren la presencia de agregación o una distribución amplia de tamaños (Bhattacharjee, 2016).

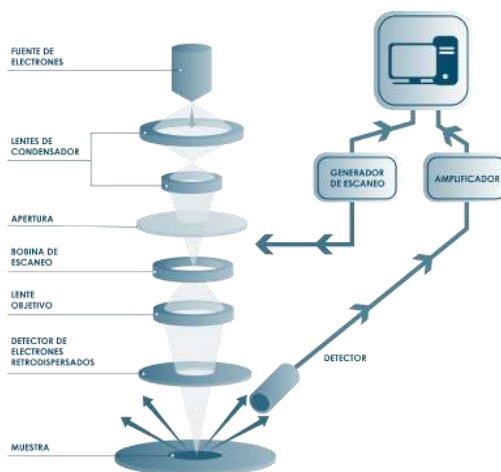
El tamaño de nanopartícula determinado por dispersión dinámica de luz (DLS) suele ser mayor que el obtenido mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) o microscopía electrónica de barrido (SEM) debido a las diferencias en el principio de medición y en el estado físico de la muestra analizada (Fig. 6). En DLS, el valor reportado corresponde al diámetro hidrodinámico, el cual incluye no solo el núcleo sólido de la partícula, sino también la capa de solvatación, moléculas adsorbidas en la superficie y posibles agregados presentes en suspensión. Además, al ser una técnica basada en la intensidad de la luz dispersada, las partículas de mayor tamaño o pequeños agregados contribuyen de manera desproporcionada a la señal, lo que puede incrementar el tamaño promedio medido. En contraste, TEM y SEM permiten observar directamente el tamaño físico del núcleo de la nanopartícula en estado seco y bajo condiciones de vacío, excluyendo la capa de hidratación y reduciendo, en muchos casos, la presencia de agregación. Por ello, es común que el tamaño obtenido por DLS sea superior al determinado por microscopía electrónica (Goldstein *et al.*, 2018).



**Figura 6.** Esquema representativo de las áreas medidas por DLS Y TEM en las partículas (Bhattacharjee, 2016).

### 1.4.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

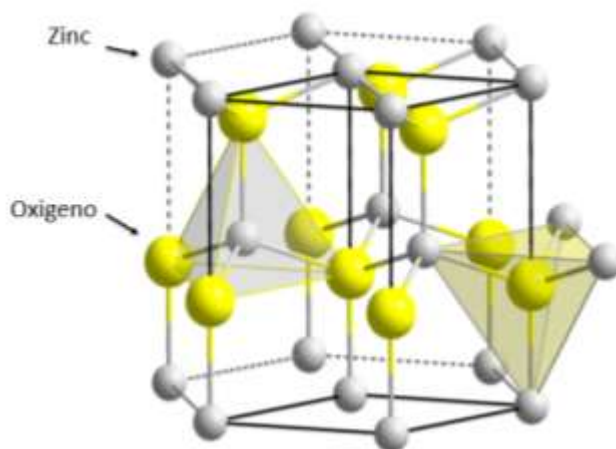
La microscopia electrónica de barrido, por sus siglas en inglés (*Scanning Electron Microscopy*), es empleada para el análisis de la morfología, tamaño y distribución de las NPs. Es una técnica basada en la generación de imágenes a partir de electrones emitidos por un cátodo, generalmente de tungsteno, que atraviesan una columna en la que se ha creado un vacío e interactúan con la superficie de la muestra. Este haz produce electrones secundarios, los cuales son captados por un detector, donde cada electrón dará origen a varios fotones. Dichos fotones son dirigidos hasta un fotomultiplicador, y cada fotón dará origen a un fotoelectrón., es decir, los electrones secundarios son amplificados y detectados por diversos sensores los cuales darán información sobre la muestra escaneada, finalmente, los electrones secundarios producidos son dirigidos hacia un tubo de rayos catódicos sobre cuya pantalla se producirá la imagen resultante(Fig. 7) (Goldstein *et al.*, 2018).



**Figura 7.** Diagrama sobre el fundamento de SEM (Sabir *et al.*, 2014).

### 1.5 Nanopartículas de óxido de zinc

Dentro de las nanopartículas de óxidos metálicos, las NPs de ZnO han atraído un interés científico y tecnológico debido a su amplia gama de aplicaciones. El óxido de zinc es un semiconductor tipo n con una estructura cristalina hexagonal tipo *wurtzita* (Fig. 8) y un amplio ancho de banda prohibida (*band gap*) de aproximadamente 3.37 eV, además de una elevada energía de excitón, lo que le confiere propiedades ópticas y electrónicas destacadas, especialmente cuando se encuentra en la escala nanométrica (Kołodziejczak-Radzimska & Jesionowski, 2014).



**Figura 8.** Estructura cristalina hexagonal del óxido de zinc tipo *wurtzita* (Sabir *et al.*, 2014).

El ZnO al ser sintetizado en nanopartícula, presenta un incremento significativo en la relación superficie-volumen, lo que favorece su capacidad de interactuar con sistemas biológicos. En el ámbito agrícola, las nanopartículas de ZnO han sido estudiadas por su papel como micronutriente esencial para las plantas, el cual participa en diversos procesos fisiológicos como lo son la síntesis de auxinas, la activación enzimática y la regulación del crecimiento vegetal (Dimkpa *et al.*, 2017). No obstante, el mecanismo de la toxicidad puede estar estrechamente relacionado con su composición química, estructura química, tamaño de partícula y área superficial de las NPs ZnO (Sabir *et al.*, 2014).

La deficiencia de zinc en suelos agrícolas es un problema ampliamente reportado a nivel mundial, afectando el rendimiento y la calidad nutricional de los cultivos. En este contexto, las NPs ZnO han sido estudiadas como fertilizantes nanoestructurados debido a su alta área superficial, mayor eficiencia de absorción y liberación controlada del nutriente (Meli *et al.*, 2016). Por otro lado, el hierro (Fe) es otro micronutriente esencial, fundamental en la síntesis de clorofila, la respiración celular y la fotosíntesis, ya que forma parte de citocromos y proteínas transportadoras de electrones. La deficiencia de hierro provoca clorosis férrica y disminución del rendimiento agrícola. Diversos estudios han evaluado la incorporación de hierro en matrices de ZnO o la síntesis de nanocompuestos ZnO–Fe con el objetivo de mejorar la disponibilidad simultánea de ambos micronutrientes y potenciar efectos sinérgicos en el crecimiento vegetal (Velásquez *et al.*, 2015).

## 1.6 Beneficios de la nanotecnología en la agricultura

La nanotecnología se ha consolidado como una de las herramientas más innovadoras y prometedoras para transformar la agricultura moderna hacia sistemas más eficientes, sostenibles y resilientes. Su aplicación permite optimizar el uso de insumos agrícolas, mejorar la productividad de los cultivos y reducir el impacto ambiental asociado con las prácticas convencionales (Lira-Saldivar *et al.*, 2021; Tripathi *et al.*, 2018).

Entre las aplicaciones más destacadas (Fig. 9) se encuentran los nanofertilizantes, los cuales han demostrado una mayor eficiencia en la liberación y disponibilidad de nutrientes en comparación con fertilizantes tradicionales. Gracias a su tamaño nanométrico y alta área superficial, estos materiales favorecen una liberación controlada y dirigida, disminuyendo pérdidas por lixiviación, volatilización o fijación en el suelo. Esto no solo mejora la absorción por parte de las plantas, sino que también reduce la cantidad total de fertilizante requerido, contribuyendo a una agricultura más sustentable (Pérez-Muñoz *et al.*, 2025).

Otra aplicación relevante es el desarrollo de nanoplaguicidas y sistemas antimicrobianos, diseñados para aumentar la eficacia en el control de plagas y fitopatógenos mediante mecanismos de liberación controlada o acción dirigida. Estos sistemas permiten reducir la dosis aplicada y minimizar la contaminación ambiental, además de disminuir la generación de resistencia en organismos objetivo. Asimismo, ciertos nanomateriales poseen propiedades antimicrobianas intrínsecas que pueden emplearse en la protección de cultivos (García López *et al.*, 2025).



**Figura 9.** Ejemplos de las aplicaciones más importantes de la agronanotecnología.

La nanotecnología también impulsa la agricultura de precisión mediante el uso de nanosensores, capaces de monitorear en tiempo real parámetros como humedad del suelo, disponibilidad de nutrientes, presencia de patógenos o niveles de estrés vegetal. Esta capacidad de diagnóstico temprano facilita la toma de decisiones basada en datos, optimizando el manejo agronómico y reduciendo costos (Pérez-Muñoz *et al.*, 2025).

Adicionalmente, se han desarrollado aplicaciones en bioestimulación y tolerancia al estrés abiótico, donde ciertos nanomateriales favorecen la germinación, el crecimiento radicular y la resistencia frente a condiciones adversas como sequía, salinidad y temperaturas extremas. Estas propiedades contribuyen a mejorar la estabilidad del rendimiento agrícola en escenarios de cambio climático (Aguirre-Becerra *et al.*, 2022).

Otra área emergente es la remediación de suelos contaminados, donde nanopartículas metálicas, óxidos metálicos y nanocompuestos pueden inmovilizar o transformar contaminantes, mejorando la calidad del suelo y restaurando su productividad. No obstante, pese a sus múltiples beneficios, la implementación de nanomateriales en la agricultura requiere una evaluación rigurosa de su comportamiento ambiental, toxicidad potencial y efectos a largo plazo en el suelo y la cadena alimentaria. La aceptación por parte de productores y consumidores dependerá del desarrollo de marcos regulatorios adecuados y de estudios que garanticen su seguridad y sostenibilidad (Usman *et al.*, 2020).

### **1.7 La rizosfera e importancia de los microorganismos**

La rizosfera es la parte del suelo inmediato a las raíces de las plantas (Fig. 10) y es una zona altamente dinámica debido a la comunidad diversa de microorganismos que alberga, incluyendo bacterias promotoras del crecimiento, hongos y actinomicetos. En esta zona ocurre una intensa actividad biológica, química y física, principalmente debido a los exudados radicales, los cuales están conformados por azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y metabolitos secundarios, lo que genera una interacción entre la salud del suelo y las plantas (Ge *et al.*, 2011).



**Figura 10.** Localización de rizosfera en la planta (Fierer, 2017).

Estos microorganismos desempeñan un papel fundamental en la disponibilidad de nutrientes, fijación de nitrógeno, solubilización de fósforo, protección contra fitopatógenos y la regulación del crecimiento de las plantas (Keller *et al.*, 2013). La interacción suelo–rizosfera–planta es bidireccional y dinámica. Mientras que la planta modula la estructura microbiana a través de sus exudados y de su arquitectura radicular, las propiedades del suelo, como el pH, la textura, el contenido de materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes, condicionan la diversidad y la funcionalidad de las comunidades microbianas. A su vez, estas comunidades influyen en la fisiología vegetal, estableciendo una red de retroalimentación compleja que determina el desempeño del sistema planta–suelo (Fierer, 2017).

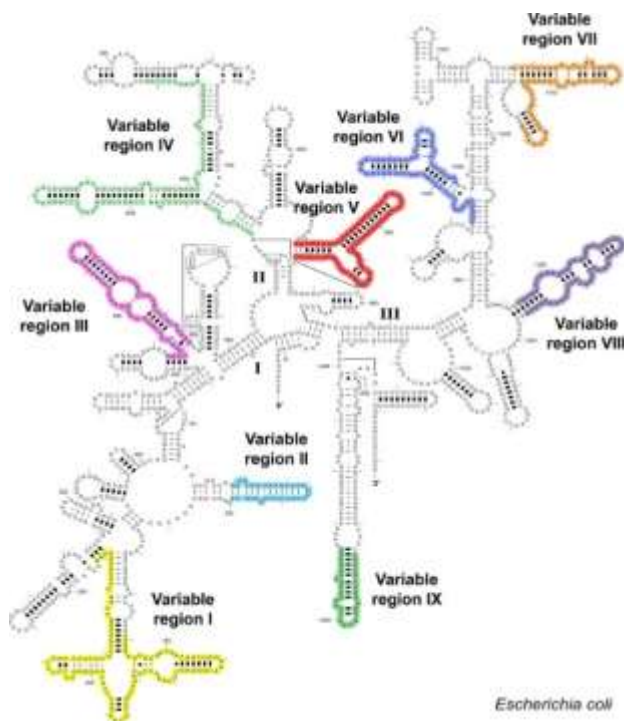
Con relación al tema de la agronotecnología, el incorporar NPs al suelo induce nuevos factores que pueden alterar las condiciones biológicas de la rizosfera, debido a que estos sistemas pueden interactuar de manera directa con raíces, exudados y microorganismos. Desde el punto de vista microbiológico, la introducción de NPs en la rizosfera puede provocar cambios en la estructura, diversidad y funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo, generando respuestas positivas o negativas dependiendo de su tipo, concentración y características químicas superficiales (Berendsen *et al.*, 2012).

### **1.7.1 Identificación de los microorganismos de la rizosfera por metagenómica 16S rRNA**

La identificación de los microorganismos del suelo ha evolucionado con el desarrollo de técnicas moleculares, de las cuales, dependiendo del objetivo al que se quiera llegar, es la técnica a utilizar.

Entre las técnicas para la secuenciación de bacterias destaca la secuenciación del gen 16S rRNA. Este gen codifica para una subunidad del ribosoma bacteriano y presenta una estructura altamente conservada intercalada con nueve regiones hipervariables (V1–V9), las cuales permiten discriminar entre diferentes grupos taxonómicos (Fig. 11) y se encuentra presente en todos los procariotas, por lo que es una herramienta ampliamente utilizada para el análisis de comunidades microbianas complejas, como las presentes en la rizosfera (Cabezas *et al.*, 2024).

La metagenómica basada en amplicones de 16S rRNA consiste en la amplificación por PCR de regiones hipervariables específicas del gen, seguida de su secuenciación mediante plataformas de secuenciación de nueva generación (*Next-Generation Sequencing*, NGS). Esta metodología posibilita el análisis simultáneo de miles a millones de secuencias, proporcionando una visión detallada de la composición, diversidad y estructura de las comunidades bacterianas presentes en una muestra (Johnson *et al.*, 2019).



**Figura 11.** Gen 16S rRNA de *E.coli* con sus regiones variables (Callahan *et al.*, 2016).

Dentro de las plataformas de secuenciación de nueva generación disponibles, se encuentra Illumina, la cual se basa en el principio de “*sequencing by synthesis*” (SBS), en el cual los

fragmentos de ADN son secuenciados mediante la incorporación secuencial de nucleótidos marcados con fluoróforos reversibles. Cada nucleótido incorporado es detectado ópticamente, permitiendo la reconstrucción de la secuencia de ADN de forma paralela para millones de fragmentos (Johnson *et al.*, 2019).

La plataforma trabaja por medio de bibliotecas obtenidas por PCR y posteriormente se les añade adaptadores y códigos de barras (*barcodes*), lo que permite la multiplexación de múltiples muestras en una sola corrida de secuenciación. Las bibliotecas son normalizadas y cargadas en la plataforma Illumina, donde la secuenciación se lleva a cabo en modalidad de lectura emparejada (*paired-end*), generalmente de 2 × 250 o 2 × 300 pb, lo que mejora la calidad de las secuencias y facilita el ensamblaje de las regiones amplificadas (Callahan *et al.*, 2016). Las secuencias crudas obtenidas son sometidas a un procesamiento bioinformático que incluye control de calidad, eliminación de secuencias de baja calidad, ensamblaje de lecturas emparejadas y remoción de quimeras. La secuenciación del gen 16S rRNA mediante tecnología Illumina representa una herramienta útil para el estudio de comunidades microbianas complejas y es una de las más utilizadas en estudios comparativos de diversidad bacteriana en sistemas ambientales y agrícolas (Johnson *et al.*, 2019).

### **1.8 Rábano (*Raphanus sativus*) como modelo de estudio**

El rábano (*Raphanus sativus*) (Fig. 12) es una hortaliza de la familia *Brassicaceae* caracterizada por su rápida germinación, corto ciclo de cultivo y adaptabilidad a diversas condiciones ambientales. Destaca por su facilidad de manejo, al no requerir experiencia avanzada para su cultivo, lo que la ha posicionado como modelo de investigación para comprender respuestas fisiológicas, genéticas y morfológicas en plantas superiores o de ciclos de crecimiento largos (Kuznetsova *et al.*, 2024). Su ciclo de producción es muy corto, entre 4 y 5 semanas desde la siembra hasta la cosecha. El rábano (*Raphanus sativus*) se desarrolla mejor en climas templados a frescos entre 10 a 18 °C pero puede germinar con temperaturas de hasta 35°C. Cuenta con una raíz engrosada, hojas grandes de color verde claro a oscuro un fruto cilíndrico de color marrón a rojizo, su altura vegetativa es de 20 a 40 cm aproximadamente (Cruz Nieto *et al.*, 2022).

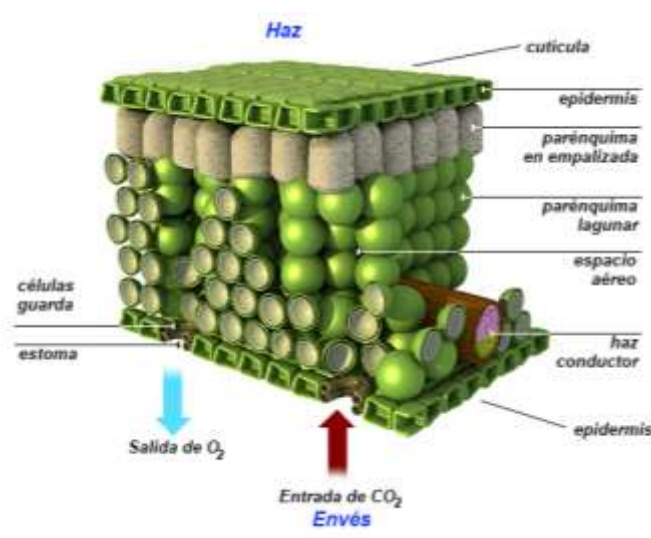
*Raphanus sativus* L. es una especie C3, lo que significa que sus estomas se abren principalmente durante las horas de luz (9 am a 12 pm), permitiendo el intercambio gaseoso necesario para la fotosíntesis, mientras que permanecen mayormente cerrados durante la noche (Caird *et al.*, 2007).



**Figura 12.** Imagen representativa del rábano (*Raphanus sativus*).

### 1.8.1 Aplicación foliar de NPs en plantas de rábano (*Raphanus sativus*)

La aplicación foliar representa una vía eficiente para el suministro de micronutrientes, ya que permite la absorción directa a través de los estomas, lo que reduce las pérdidas por fijación en el suelo. Tras la aplicación foliar, las NPs depositadas sobre la hoja interactúan inicialmente con la cutícula (Fig. 13), una capa lipofílica compuesta principalmente por cutina y ceras, que actúa como la primera barrera física frente a la entrada de sustancias externas (Fernández & Brown, 2013).



**Figura 13.** Representación esquemática de la anatomía foliar de una planta, que muestra las principales estructuras involucradas en el intercambio gaseoso y la absorción foliar.

Para el caso de NPs ZnO, tras su ingreso al tejido foliar, las NPs, al estar en contacto con un pH ligeramente ácido ( $\text{pH} < 6.8$ ), pueden disolverse parcial o totalmente, liberando iones  $\text{Zn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ , que son asimilados por las células vegetales mediante transportadores específicos de micronutrientes (Fig. 14). Este proceso permite que los elementos esenciales participen en funciones metabólicas clave, como la activación enzimática, la fotosíntesis y la regulación hormonal. Una vez absorbidos, los nutrientes provenientes de las nanopartículas pueden ser transportados desde las hojas hacia otros órganos, incluido el sistema radicular, a través del floema. Esta distribución puede inducir cambios fisiológicos en la raíz, tales como modificaciones en el crecimiento radicular y en la composición de los exudados liberados al suelo. Dichos exudados actúan como señales químicas que influyen directamente en la estructura y composición de las comunidades bacterianas de la rizosfera (Sekmen *et al.*, 2016).



**Figura 14.** Esquema representativo del ingreso foliar de las NPs, su dispersión por el sistema radicular en iones y su llegada a la rizosfera.

## 2. ANTECEDENTES

Como se ha mencionado anteriormente, el uso de las NPs en la agricultura ha sido de gran relevancia y ha surgido como una solución prometedora gracias a sus propiedades físicas y químicas.

Investigaciones en cultivos hortícolas han mostrado que las NPs ZnO influyen en la rizosfera mediante la modificación de la exudación radicular, lo que altera el reclutamiento de microorganismos. Hosseinpour *et al.*, (2020) demostraron que la aplicación de NPs ZnO en tomate modificó parámetros fisiológicos y se presentaron cambios en la microbiota asociada a la raíz, resaltando el papel de las NPs ZnO como moduladores indirectos del microbioma rizosférico. En el mismo año Oghenerume *et al.*, mencionan que la aplicación de NPs ZnO en suelos agrícolas ha sido asociada con cambios en propiedades fisicoquímicas y en la abundancia de bacterias nitrificantes, desnitrificantes y promotoras del crecimiento vegetal. Afzal, S. y Singh, N. (2022) demostró que las NPs ZnO y NPs ZnO:Fe pueden producir cambios en la estructura de la comunidad microbiana de la rizosfera. En arroz, la presencia de NPs ZnO y NPs ZnO:Fe a bajas concentraciones aumentó la diversidad microbiana en el suelo, afectando especialmente la abundancia de grupos bacterianos como Proteobacteria, Actinobacteria y Planctomycetes.

La aplicación de NPs ZnO como estrategia de fertilización ha ganado atención por su capacidad de mejorar el contenido de micronutrientes y parámetros fisiológicos en cultivos. Un ejemplo de ello es Wang *et al.* (2023), quienes demostraron que a aplicación foliar de NPs ZnO en arroz (*Oryza sativa* L.) durante la fase de espigado aumentó el rendimiento de grano, mejoró la calidad del arroz y enriqueció el contenido de zinc en los granos. Magdaleno-García *et al.* (2023) publicó que el uso de nanopartículas en el tratamiento de semillas ayuda a homogenizar la germinación y mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas de pimiento mediante el incremento del contenido total de clorofila y de compuestos fenólicos en las hojas, actuando como un estimulante.

Guardiola-Márquez *et al.* (2023) concluyen en su experimento que el desarrollo de bio-nanofertilizantes basados en ZnO y óxidos de hierro ha demostrado incrementar la actividad de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y mejorar el vigor de cultivos, incluyendo rábano

(*Raphanus sativus*), lo que resalta la relevancia de estos nanomateriales en sistemas agrícolas sostenibles. También Chen *et al.* (2023) realizaron un estudio sobre la rizosfera bacteriana en Cogulla de fraile (*Aconitum carmichaelii*) expuesta a NPs ZnO, donde observaron cambios significativos en la estructura bacteriana, con mayor abundancia de ciertos grupos como *Bacteroidota* y *Actinobacteriota*.

Strekalovskaya *et al.* (2024) menciona que existen efectos positivos o estimuladores en crecimiento y actividad microbiana suelen observarse a concentraciones bajas, mientras que niveles más altos tienden a ser tóxicos.

Las nanopartículas de óxido de zinc han demostrado alterar el metabolismo bacteriano y provocar estrés oxidativo, lo que puede modificar la estructura y función de las comunidades microbianas del suelo. Luche *et al.* (2025) evidencian en su estudio sobre *Bacillus subtilis* que las NPs ZnO inducen respuestas de estrés y reorientación metabólica, principalmente asociadas a la liberación de iones  $Zn^{2+}$ , lo que sugiere un mecanismo indirecto de toxicidad microbiana relevante para sistemas rizosféricos.

Respecto al rábano (*Raphanus sativus*) como modelo, ha sido empleado en estudios experimentales para evaluar respuestas fisiológicas y bioquímicas a nanopartículas, validando su utilidad para investigaciones en agricultura debido a su ciclo corto y sensibilidad a cambios ambientales y nutricionales, un ejemplo de esto es Galindo, A.P. (2025) utilizó al rábano (*Raphanus sativus*) como control de germinación para evaluar el impacto de NPs ZnO en la expresión génica y actividad enzimática de lechuga.

Es así, como esta investigación busca generar más información sobre la interacción de las comunidades bacterianas al estar expuestas a nanopartículas dopadas y sus efectos sobre la planta y ser otro parteaguas en la búsqueda de nanofertilizantes aplicables en la agronomía del futuro.

### 3. JUSTIFICACIÓN

El uso intensivo de agroquímicos y fertilizantes convencionales en la agricultura ha generado problemas ambientales, tales como la degradación del suelo, la contaminación de cuerpos de agua y las alteraciones en la microbiota edáfica. Este hecho ha impulsado la búsqueda de alternativas tecnológicas que mejoren la eficiencia en la nutrición vegetal sin comprometer la sostenibilidad de los agroecosistemas.

En este contexto, la aplicación de NPs ZnO:Fe representa una estrategia prometedora para mejorar la disponibilidad y asimilación del Zn como micronutriente, sin embargo, a pesar de los beneficios potenciales de las nanopartículas en la nutrición vegetal, aún existe un conocimiento limitado sobre sus efectos indirectos en los microorganismos del suelo, particularmente en las comunidades bacterianas de la rizosfera, las cuales desempeñan un papel crucial en la fertilidad del suelo, la asimilación de nutrientes y la salud vegetal. Las alteraciones en estas comunidades podrían tener consecuencias tanto positivas como negativas en el equilibrio del ecosistema edáfico.

El rábano (*Raphanus sativus*) es un cultivo hortícola de rápido crecimiento y de gran importancia económica y alimentaria, lo que lo convierte en un modelo adecuado para evaluar los efectos de nuevas tecnologías agrícolas en periodos cortos. Estudiar la interacción entre la aplicación foliar de nanopartículas dopadas con un elemento adicional, como el hierro, y las comunidades bacterianas de la rizosfera permitirá generar información relevante sobre los posibles impactos ecológicos y agronómicos de estos nanomateriales, contribuyendo al desarrollo de prácticas agrícolas más sostenibles, seguras y eficientes, así como al avance del conocimiento científico en el área de la nanotecnología aplicada a la agricultura.

#### **4. HIPÓTESIS**

La aplicación foliar de nanopartículas de óxido de zinc dopadas con hierro tiene un efecto en el desarrollo del rábano (*Raphanus sativus*) que a su vez se asociará a cambios en la estructura y diversidad de las comunidades bacterianas de la rizosfera.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación foliar de las nanopartículas de óxido de zinc dopadas con hierro sobre las comunidades bacterianas de la rizosfera de rábano (*Raphanus sativus*).

### 5.2 Objetivos particulares

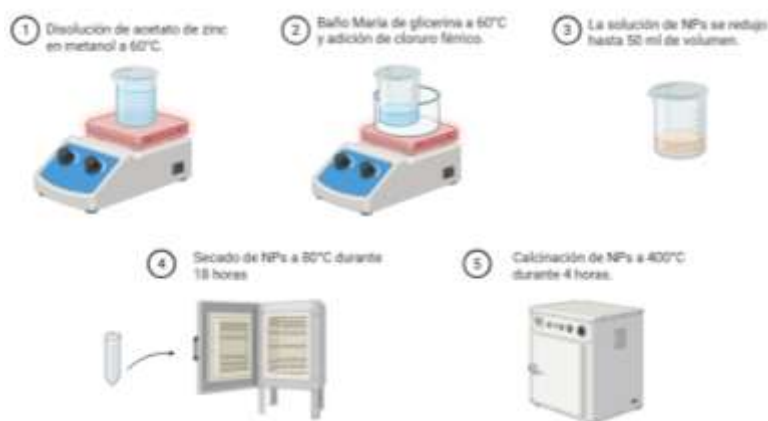
1. Sintetizar las NPs ZnO dopadas con Fe.
2. Caracterizar fisicoquímicamente NPs ZnO dopadas con Fe.
3. Evaluar el efecto de la aplicación foliar de NPs ZnO sobre la estructura de las comunidades bacterianas de la rizosfera de rábano (*Raphanus sativus*).

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Síntesis NPs ZnO

Las nanopartículas de óxido de zinc se sintetizaron mediante el método solvotermal (Fig. 15). Para ello, inicialmente se preparó una solución de acetato de zinc dihidratado a una concentración de 0.01 M en 125 ml de metanol. La mezcla se agitó vigorosamente y se mantuvo a una temperatura de 60°C hasta lograr la completa disolución del acetato de zinc. Una vez disuelto el acetato de zinc, el vaso de precipitado se colocó dentro de un baño de glicerina previamente estabilizado a una temperatura de 60°C. La solución se mantuvo en agitación constante permitiendo alcanzar el equilibrio térmico con la glicerina.

De manera paralela, se preparó una solución de hidróxido de potasio (KOH) a una concentración de 0.03 M en 65 ml de metanol. Posteriormente, la solución de KOH se transfirió a una bureta y se añadió a la solución de acetato de zinc de forma controlada a razón de 3 gotas por segundo, bajo agitación continua. Una vez finalizada la adición de KOH, la mezcla continuó en agitación constante hasta observar un cambio notable en la coloración de la solución, la cual paso de ser transparente a adquirir un tono blanco turbio, lo que indica la formación de las NPs ZnO en la suspensión. Tras el cambio visual, la temperatura y la agitación se mantuvieron hasta que el volumen final de la solución se redujo aproximadamente a 50 ml. Posteriormente, el contenido se recolectó en un tubo de 50 ml y se procedió al secado en un horno (*Econotherm*) a una temperatura de 80°C durante 18 horas, con el objetivo de eliminar los solventes residuales. Finalmente, los polvos obtenidos se sometieron a un proceso de calcinación en mufla a 400°C durante 4 horas, con el objetivo de favorecer y asegurar la cristalización y pureza de las NPs ZnO.



**Figura 15.** Diagrama de flujo de la síntesis de NPs ZnO.

## 6.2 Síntesis de NPs de ZnO:Fe

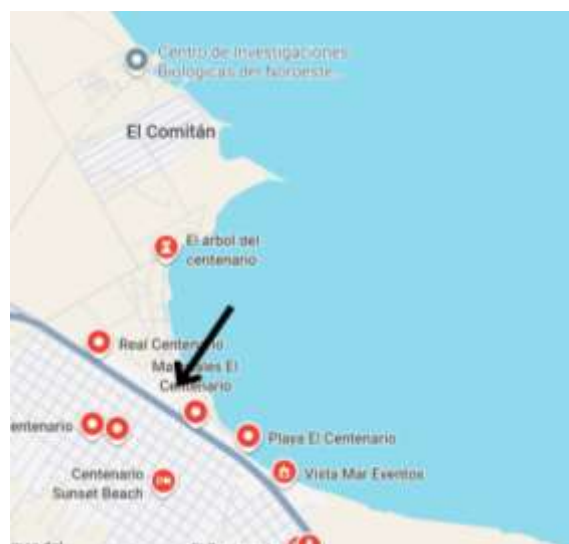
Las nanopartículas de óxido de zinc dopadas con hierro al 1% se sintetizaron siguiendo el mismo procedimiento descrito previamente, con la única modificación en la incorporación del dopante. Una vez que la solución de acetato de zinc alcanzó el equilibrio térmico con el baño de glicerina, se procedió a la adición de cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) a la solución; las cantidades exactas se especifican en la tabla 1. La mezcla se mantuvo bajo agitación constante para asegurar la adecuada dispersión e incorporación del ion hierro en la matriz de ZnO. Posteriormente, se continuó con el proceso bajo las mismas condiciones experimentales empleadas para las NPs ZnO.

**Tabla 1.** Sistemas empleados para la síntesis de NPs.

Síntesis	Solución 1	Solución 2
NPs ZnO	125 ml Metanol 294.38 mg Acetato de Zn	65 ml Metanol 109.41 mg KOH
NPs ZnO:Fe (1%)	125 ml Metanol 294.38 mg Acetato de Zn 31.4 $\mu\text{l}$ Cloruro de hierro	65 ml Metanol 109.41 mg KOH

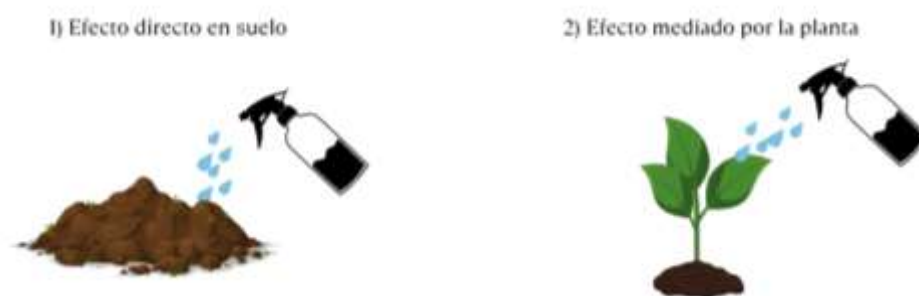
### 6.3 Evaluación de las comunidades bacterianas de la rizosfera

La evaluación sobre el efecto de las NPs ZnO en las comunidades bacterianas de la rizosfera se llevó a cabo en dos experimentos independientes. Para ambos experimentos se utilizó como sustrato un suelo agrícola el cual se obtuvo de un rancho ubicado en la localidad El Centenario en la ciudad de La Paz B.C.S., coordenadas  $24^{\circ}06'09''\text{N}$   $110^{\circ}24'52''\text{O}$  (Fig. 16).



**Figura 16.** Ubicación de la localidad El Centenario, La Paz, B.C.S.

El primer experimento se llevó a cabo dentro del laboratorio con condiciones controladas con la aplicación de las NPs ZnO directamente sobre el suelo. El segundo experimento se realizó en el invernadero del campo agrícola del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) donde las NPs ZnO se aplicaron de manera foliar en plantas de rábano (Fig. 17).

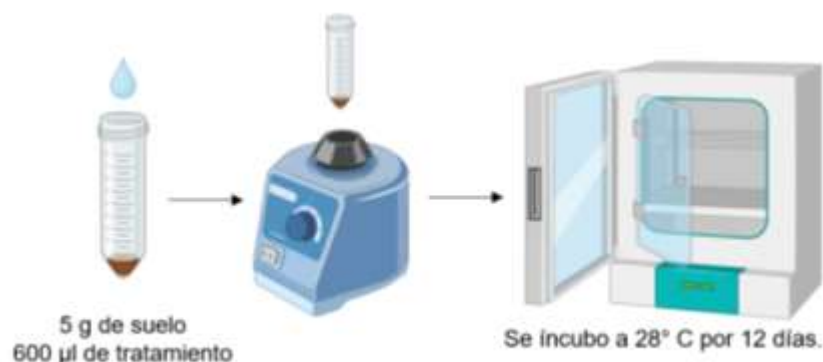


**Figura 17.** Aplicación de los tratamientos en el primer y segundo experimento.

### 6.3.1 Aplicación de NPs en suelo

Para el experimento en suelo se establecieron tres grupos experimentales, cada uno con cuatro réplicas, dando un total de 12 unidades experimentales. Los tratamientos evaluados fueron: agua (control), Monster (fertilizante a base de zinc, 2ppm) y Nanopartículas de óxido de zinc (NPs ZnO; 2 ppm).

Se colocaron 5 g de suelo agrícola en tubos de tapa de rosca de 50 ml. Se añadieron 600  $\mu$ l del tratamiento correspondiente y se procedió a homogenizar por medio de agitación en vórtex. Posteriormente, los tubos se incubaron a una temperatura de 28 °C durante 12 días (Fig. 18).



**Figura 18.** Disposición experimental del ensayo de suelo en laboratorio para cada una de las unidades experimentales.

### 6.3.2 Aplicación foliar de NPs

El experimento en plantas de rábano se llevó a cabo en un invernadero ubicado en el campo agrícola del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Durante el experimento, se registró una temperatura promedio de 36.6° C y humedad relativa promedio de 73% durante el periodo experimental.

Se colocaron 2.5 kg de sustrato en macetas plásticas con capacidad de 3 litros y se plantaron 3 semillas de rábano (*Raphanus sativus*) en cada maceta. Una vez ocurrida la germinación, se realizó un raleo, que consiste en eliminar dos plántulas por maceta, con el fin de asegurar un crecimiento

uniforme y una adecuada disponibilidad de nutrientes para la planta restante. En total se montaron 20 unidades experimentales, consistiendo en 5 réplicas para cada uno de los 4 tratamientos; monster, NP ZnO, NP ZnO:Fe y agua como control.

El cultivo de rábano (*Raphanus sativus*) tuvo una duración total de seis semanas, desde la siembra hasta la cosecha. El riego se realizó diariamente por la mañana, utilizando únicamente agua. La aplicación de los tratamientos se llevó a cabo de manera foliar una vez que las plantas desarrollaron hojas verdaderas. Los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar utilizando atomizadores manuales para asegurar una cobertura uniforme del follaje a razón de 1 ml de tratamiento aproximadamente con una frecuencia de 2 veces por semana siendo un total de 6 aplicaciones al finalizar el experimento (Fig. 19).



**Figura 19.** Representación de la aplicación foliar de NPs en el experimento en invernadero.

Al final del experimento, las plantas de rábano (*Raphanus sativus*) fueron cuidadosamente extraídas del sustrato para preservar la integridad del sistema radicular sacudiendo levemente para eliminar el suelo excesivo. El suelo firmemente adherido a la raíz (suelo rizosférico), fue recolectado mediante un lavado de la raíz completa en un buffer al 85 % de solución salina <sup>p/v</sup> con 0.5% <sup>v/v</sup> de *tween* en tubos falcón de 50 ml. A cada tubo se le agregó 20 ml del buffer para asegurar cubrir la raíz por completo y se procedió a la agitación en vortex durante un minuto. Después de la agitación, se retiraron las raíces, y las muestras de buffer con el suelo rizosférico se centrifugaron durante 1 minuto a 1500rpm temperatura ambiente. Se decantó el sobrenadante y el pellet resultante se considera la rizosfera, que fue almacenada para la extracción de ADN.

Posterior a la recolección de rizosfera, las raíces lavadas fueron utilizadas para obtener su peso fresco, área y longitud total. Para el peso fresco, se retiró el exceso de agua con una toalla desechable de papel y se colocaron en una báscula analítica. Para la longitud total de la raíz, se consideró del inicio del fruto hasta el término de la longitud de la raíz primaria. Para el área, se tomó una fotografía de cada raíz y se utilizó el software imageJ y se consideró el ancho y largo de todas las raíces principales y secundarias que emanaron de cada fruto.

#### **6.4 Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación**

La extracción de ADN total se realizó a partir de las muestras de suelo y de rizosfera utilizando el kit comercial DNeasy PowerSoil® Kit (Qiagen, Hilden, Alemania), siguiendo las instrucciones proporcionadas por el fabricante. De manera general las muestras se transfirieron a los tubos de bead-beating suministrados por el kit. La lisis celular se llevó a cabo mediante agitación mecánica en presencia de una solución de lisis, lo que permitió la ruptura eficiente de las paredes celulares de bacterias y otros microorganismos presentes en el suelo. Posteriormente, fueron sometidos a una serie de pasos de centrifugación y filtración para la separación de residuos sólidos y la remoción de contaminantes. Finalmente, el ADN purificado fue eluido en un volumen adecuado de buffer de elución estéril y almacenado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

La concentración y pureza del ADN extraído fueron evaluadas mediante espectrofotometría (*NanoDrop*), verificando las relaciones de absorbancia  $A_{260}/A_{280}$  y  $A_{260}/A_{230}$  para asegurar la pureza y concentración del ADN. Asimismo, se verificó la integridad del ADN a través de su visualización por electroforesis de agarosa al 1%. Finalmente, se verificó la amplificación por PCR del gen 16S utilizando los primers universales 16S 515 Forward GTGYCAGCMGCCGCGGTAA y 16S 806 Reverse GGACTACNVGGGTWTCTAAT (Earth Microbiome Projecty, 2018) con la enzima *DreamTaq* (ThermoFisher) con condiciones de temperatura inicial a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ , seguida de 35 ciclos de desnaturalización a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ , alineamiento a  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  y extensión a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

La secuenciación del gen 16S rRNA se realizó utilizando tecnología Illumina como un servicio comercial en NOVOGENE (Beijing, China). Esta técnica se basa en el principio de secuenciación por síntesis (*Sequencing by Synthesis*, SBS). Durante el proceso de secuenciación, la plataforma

Illumina genera lecturas pareadas (*paired-end*), lo que mejora la cobertura y la calidad del emparejamiento de las secuencias, especialmente en regiones hipervariables del gen 16S rRNA. La calidad de las lecturas se expresa mediante valores *Phred*, donde puntajes Q20 y Q30 indican probabilidades de error de 1 % y 0.1 %, respectivamente.

## **6.5 Análisis bioinformáticos**

### **6.5.1 Estructura de la comunidad bacteriana**

Una vez obtenidos los datos de secuenciación del gen 16S rRNA, las lecturas crudas fueron sometidas a una evaluación de calidad utilizando la plataforma *Galaxy Statistics*, con el fin de verificar su idoneidad para los análisis posteriores. Tras confirmar que las lecturas cumplían con los criterios de calidad establecidos, los datos fueron procesados en el entorno estadístico R.

El procesamiento bioinformático, que incluye filtrado, des replicación, inferencia de muestras, identificación de quimeras y fusión de lecturas de extremos pareados, se realizó utilizando el paquete *Divisive Amplicon Denoising Algorithm 2* (DADA2) en R (Callahan *et al.*, 2026). Se ejecutó el comando *plotQualityProfile* para detectar la calidad de las secuencias amplificadas. Se eligió una longitud mínima de 200 pb para las secuencias directas y 220 pb para las secuencias inversas, para eliminar cualquier fragmento pequeño en la etapa de filtrado, el máximo de errores esperados (maxEE) fue de 2, ya que esto optimizó la retención de lecturas a lo largo del proceso de procesamiento. Se utilizó el método consensos para la eliminación de quimeras con el comando *removeBimeraDenovo* (Peng *et al.*, 2024). La anotación taxonómica de las secuencias representativas de las variantes de secuencia de amplicón (ASV por las siglas en inglés de "Amplicon Variant Sequence") se realizó con utilizando las bases de datos Silva v. 138.1 (Quast, 2013).

### **6.5.2 Análisis estadístico del efecto de los tratamientos sobre la diversidad de las comunidades y abundancia de grupos taxonómicos**

Para la evaluación objetiva entre los tratamientos y determinar su efecto en las comunidades bacterianas se analizaron las secuencias crudas utilizando la plataforma *Qiime*. Las secuencias

recibidas con valores de calidad *Phred+33* fueron estandarizadas a una longitud de 250 nt para ser analizadas con *QIIME2-Amplicon*. El proceso de reducción de ruido y corrección de errores se realizó con DADA2 (Bokulich, *et al.*, 2018) configurado para lecturas *single-end* sin hacer recorte en los primeros nucleótidos.

La diversidad alfa y beta fue calculada usando el módulo “*diversity-core-metrics-phylogenetic*” de *QIIME2 Amplicon* a partir de las tablas de AVs rarefractadas donde se incluyeron las siguientes métricas: de riqueza, utilizando el índice de Shannon (Shannon, 1948), análisis de uniformidad de las comunidades microbianas con *Pielou’s evenness* y el análisis de diversidad calculada con *Observed Features* de QIIME2 (Pielou, 1966).

La clasificación taxonómica se realizó sobre las secuencias representativas con un clasificador *Naive Bayes “diverse-weighted”* entrenado en SILVA 138 (99% OTUs, secuencias *full-length*), recomendado para análisis de muestras ambientales (Quast *et al.*, 2013).

Las diferencias en la abundancia de ASVs entre los tratamientos fueron evaluadas con ANCOM-BC en QIIME2, previa exclusión de mínimas ASVs anotadas como mitocondrias, cloroplastos y Eucariota aplicando corrección de las pruebas de hipótesis múltiples usando el procedimiento de Benjamini-Hochberg. Para seleccionar los taxones enriquecidos en las muestras, se consideraron las ASVs con *log-fold change* mayor y  $q \leq 0.05$  (enriquecimiento), o con *log-fold change* menor y  $q \leq 0.05$  (exclusión), previo filtrado para reducir efecto de *features* con baja presencia  $\leq 60$  lecturas (0.1% del *sampling depth*) y las que están presentes en menos de 7 muestras (20% de las muestras). La interpretación se integró con la taxonomía SILVA para contextualizar la ecología de los grupos diferenciales (Quast *et al.*, 2013).

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Síntesis de las NPs

El primer paso para evaluar los efectos de las nanopartículas sobre las comunidades bacterianas es la correcta síntesis de dichos nanomateriales, de esta manera, los resultados presentados en esta sección proporcionan la base para los análisis posteriores. Para ambas muestras se obtuvo un polvo de color grisáceo (Fig. 20). La obtención de polvos secos, homogéneos y fácilmente manipulables indica que el método de síntesis permitió la formación exitosa del material sólido, adecuado para su posterior caracterización fisicoquímica y aplicación en los experimentos.



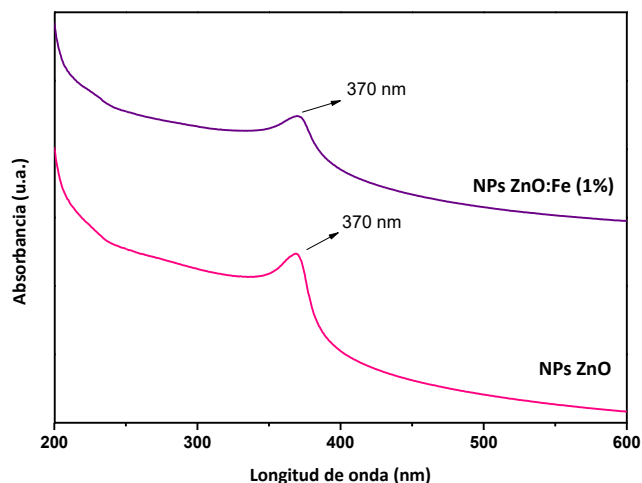
**Figura 20.** Polvos resultantes de la síntesis de NP ZnO y ZnO:Fe.

### 7.2 Caracterización de NPs

#### 7.2.1 Espectroscopía de ultravioleta visible (UV-Vis)

La espectroscopía de absorción UV-Vis se empleó como una técnica inicial para confirmar la formación de las NP ZnO Y NP ZnO:Fe, ya que, permite identificar bandas de absorción características asociadas a los materiales y confirmar la presencia de ellos en las muestras. Al analizar la composición de los polvos en un rango de 200 a 600 nm (Fig. 21), se observó un pico de absorción máximo en 370 nm para ambos materiales. Este perfil es característico de la estructura hexagonal de ZnO. En el caso de las NPs ZnO:Fe, el pico de absorción es ligeramente

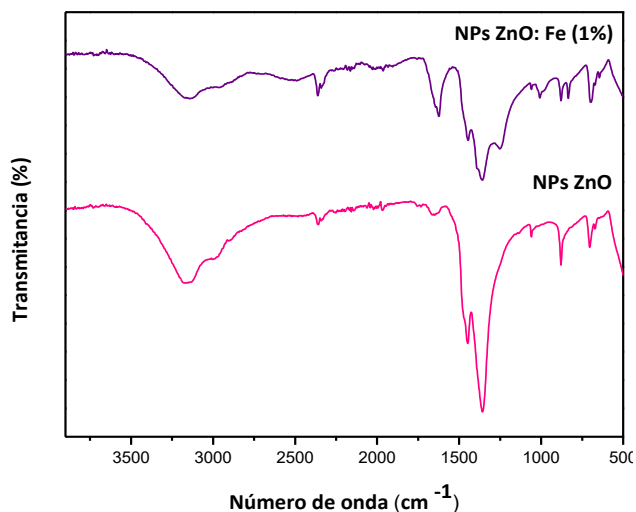
más ancho en comparación a las NPs ZnO, lo que se puede adjudicar al dopaje con Fe dentro de la matriz del ZnO sin formar compositos u otro tipo de estructuras.



**Figura 21.** Espectros de absorción UV-Vis correspondientes a NP ZnO y NP ZnO:Fe, empleados para evaluar sus propiedades ópticas y confirmar la formación del material nanométrico.

### 7.2.2 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier se utilizó para identificar los grupos funcionales presentes en las NPs ZnO:Fe y NPs ZnO. En ambas muestras se observan bandas en la región en  $3400\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$  asociadas a las vibraciones de O–H, indicando la presencia de agua o grupos hidroxilos en la superficie de las nanopartículas (Fig. 22), también se puede observar una banda en la región  $1600\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente a la vibración de flexión del agua (H–O–H) (Lim, 2013). La comparación entre ambos espectros permite confirmar que el dopaje con Fe no altera drásticamente la estructura química del ZnO, pero sí introduce ligeras variaciones espectrales, como reflejo de la incorporación del dopante en la red cristalina y posibles interacciones con grupos funcionales superficiales.

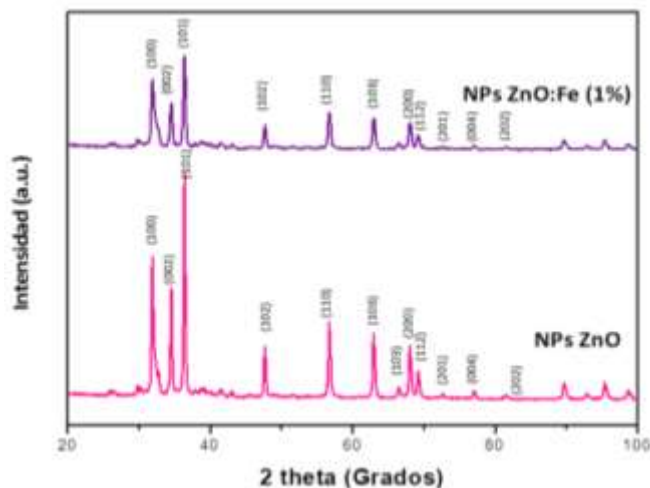


**Figura 22.** Espectros FTIR de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y óxido de zinc dopadas con hierro (ZnO:Fe), utilizados para identificar los grupos funcionales y enlaces característicos del material sintetizado.

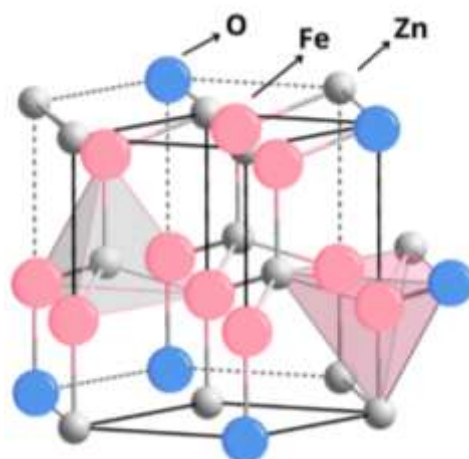
### 7.2.3 Difracción de rayos x (XRD)

La caracterización por difracción de rayos X (XRD) permitió evaluar la composición estructural de las NPs ZnO:Fe (1%) y NPs ZnO. En ambas muestras se identificó la presencia de picos de difracción correspondientes a los planos (100), (002), (101), (102), (010), (103), (200), (112), (201), (004) Y (202) indicando la formación de la estructura *wurtzita* hexagonal del ZnO (Fig. 23), tomando como referencia la tarjeta estándar de *crystallography open database* (COD) No. 96-230-0113.

Para las NPs ZnO:Fe (1%), en los planos (100) (002) y (101) se observa un ligero ensanchamiento y una menor intensidad, lo cual, se puede adjudicar a que los iones de Fe están sustituyendo átomos de Zn dentro de la estructura cristalina del ZnO como efecto del proceso de dopaje (Fig. 24).



**Figura 23.** Patrones de difracción de rayos X (DRX) de NP ZnO y NP ZnO:Fe.



**Figura 24.** Representación esquemática de la estructura cristalina del óxido de zinc (ZnO) con iones de hierro (Fe) insertados en su matriz cristalina.

#### 7.2.4 Dispersión dinámica de luz (DLS)

La técnica de dispersión dinámica de luz (DLS) se utilizó para determinar el índice de polidispersión (PDI) y el diámetro hidrodinámico promedio de las nanopartículas. Los resultados se muestran en la tabla 2. La morfología del ZnO se puede ver alterada por los iones de hierro, dando como resultado un menor tamaño promedio para las NPs ZnO:Fe de 270 nm en comparación de las NPs ZnO de 290 nm. Así mismo, las NPs ZnO:Fe se presenta el IPD más bajo (0.301), lo que indica una distribución más homogénea en comparación a la muestra no dopada.

**Tabla 2.** Valores del tamaño hidrodinámico en nm obtenidos mediante dispersión dinámica de luz (DLS) de las NP ZnO y NP ZnO:Fe.

	Tamaño de partícula				
	Tamaño	PDI	Tamaño promedio	Desviación tamaño	Promedio PDI
<b>ZnO</b>	281.4	0.403	290.1333	7.6166	0.400
	295.4	0.402			
	293.6	0.395			
<b>ZnO:Fe</b>	268.6	0.322	270.4667	6.698	0.300
	277.9	0.307			
	264.9	0.276			

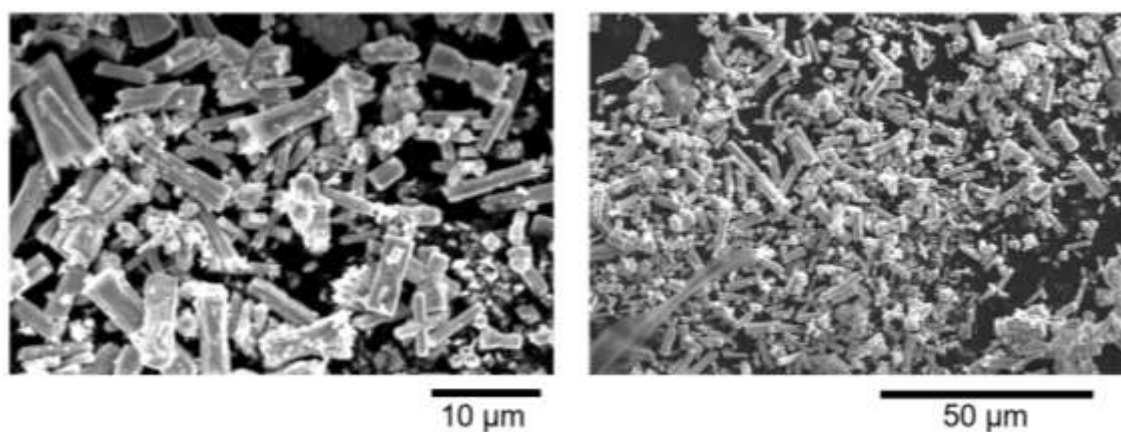
### 7.2.5 Microscopía electrónica de barrido

Las micrográficas obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) muestran la morfología y tamaño de las NP ZnO (Fig. 25) y NP ZnO:Fe (Fig. 26).

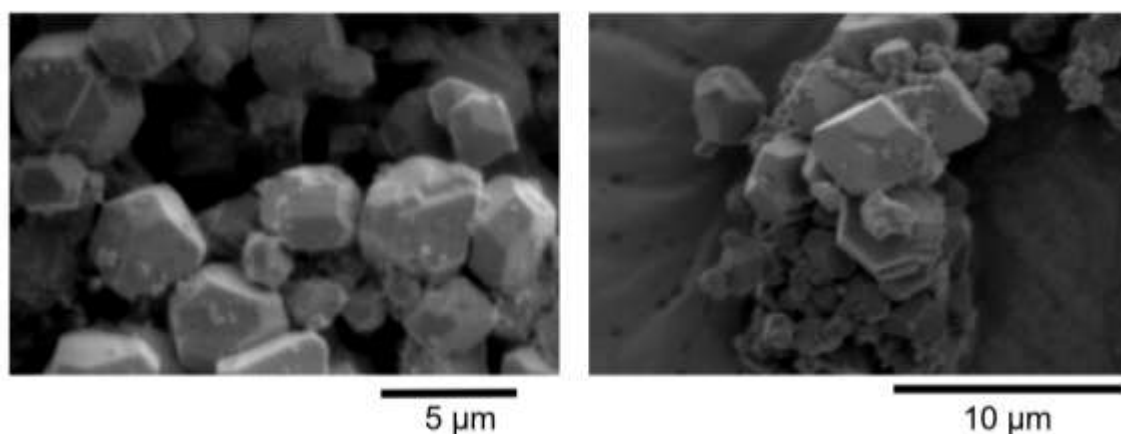
En ambos casos, se observan estructuras facetadas con tendencia a formar agregados, lo cual es característico de las NPs sintetizadas mediante métodos solvotermales e hidrotérmales sin el uso de agentes estabilizadores. Para el caso de las NPs ZnO se observa la formación principalmente de rodillos o estructuras cilíndricas con caras facetadas. Este crecimiento es característico en la estructura *wurtzita* hexagonal del ZnO, la cual está formada por un eje *c* donde predomina principalmente la dirección (001) y (00 $\bar{1}$ ) que, al estar compuesta por planos altamente polares, presenta una razón de crecimiento anisotrópica mucho mayor que la de los planos laterales no polares (110) o (112) en condiciones de síntesis a alta temperatura, sin la presencia de agentes estabilizadores (Vallejos *et al.*, 2026). El tamaño de los rodillos más pequeños, medido con el software ImageJ, es de 270  $\mu\text{m}$  de largo por 90  $\mu\text{m}$  de diámetro en promedio y para los cilindros más grandes el tamaño de partícula se encuentra dentro de un rango aproximado de 5  $\mu\text{m}$ .

Por otra parte, las micrográficas correspondientes a la muestra de ZnO:Fe, muestran dos distribuciones de tamaño, la primera con partículas cuasi-esféricas facetadas cuyo tamaño promedio oscila en 250  $\mu\text{m}$  y partículas granuladas muy pequeñas de aproximadamente 70  $\mu\text{m}$ . Estas imágenes confirman lo observado en los análisis por la técnica de DLS, donde aparentemente se observó una reducción del tamaño de partícula de aproximadamente 20 nm.

Esta reducción de tamaño se debe principalmente al cambio en la morfología de la partícula. Con estos experimentos, demostramos que iones de  $\text{Fe}^{2+}$  y/o  $\text{Fe}^{3+}$  pueden modificar significativamente el crecimiento anisotrópico tipo rodillo del ZnO con estructura cristalina hexagonal tipo *wurtzita*. Un efecto parecido fue reportado por (Abdel-Fattah & Alshehri, 2026). En su trabajo observaron que la incorporación de iones de Fe dentro de la matriz del ZnO puede inducir la inhibición del crecimiento anisotrópico en los planos (001) y (00 $\bar{1}$ ) y promover la formación de partículas ligeramente más redondeadas. Este efecto puede deberse a que la incorporación de iones de Fe en la matriz de ZnO, crea defectos en la estructura cristalina y genera un desbalance en las cargas y parámetros de red. En el caso del  $\text{Fe}^{3+}$  por ejemplo, al tener un radio iónico ligeramente menor que el del Zn, induce una ligera contracción de la estructura, lo que genera una reducción en la energía superficial de los planos (001) y (00 $\bar{1}$ ) y, en consecuencia, una modificación en el crecimiento anisotrópico de la partícula que promueve más el crecimiento isotrópico.



**Figura 25.** Micrográficas de las NP ZnO obtenidas mediante microscopía electrónica.



**Figura 26.** Micrográficas de las NP ZnO:Fe obtenidas mediante microscopía electrónica.

### 7.2.6 Aplicación de NPs en invernadero

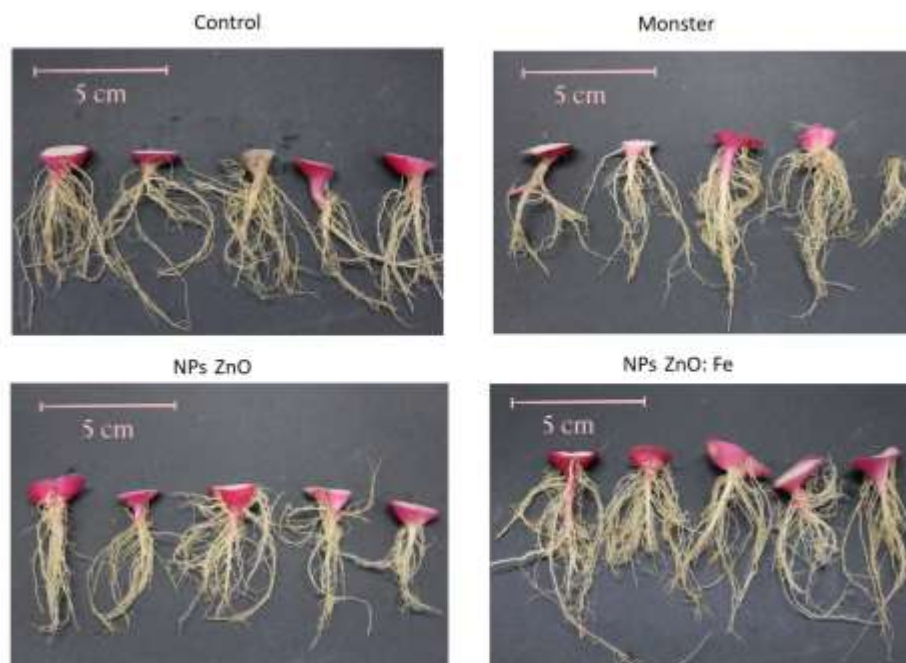
La siembra se realizó el 26 de mayo y a partir de esa fecha las plantas fueron regadas diariamente con agua. La primera aplicación de tratamientos se realizó el 18 de junio (día 22 del experimento) una vez que todas las plantas presentaron hojas verdaderas, y la última aplicación se llevó a cabo el 3 de julio (39 del experimento) (Fig. 27). El experimento se dio por concluido el 5 de julio.



**Figura 27.** Etapas del desarrollo del cultivo de rábano (*Raphanus sativus*): a) día de la siembra de las semillas; b) estado de la planta al momento de la primera aplicación de los tratamientos; y c) planta de rábano al último día del ciclo de cultivo.

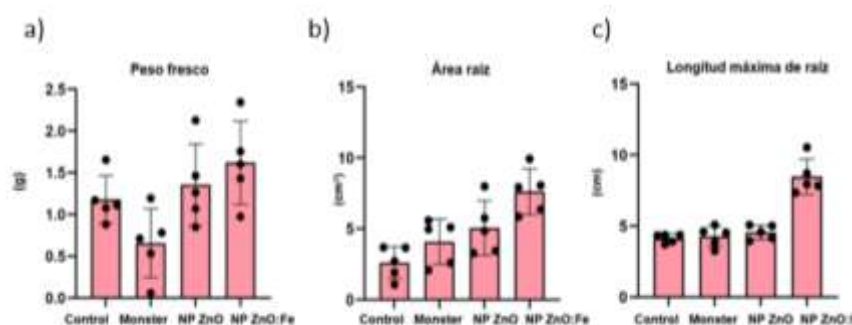
### 7.3 Cambios en los parámetros morfológicos de las raíces de rábano (*Raphanus sativus*) tratadas con NPs

Se muestran las raíces de cada una de las unidades experimentales por tratamiento (Fig. 28), mostrando el sistema radicular completo. La barra de escala de 5 cm permite comparar visualmente el tamaño y la extensión de las raíces entre tratamientos.



**Figura 28.** Comparación visual del desarrollo radicular del rábano (*Raphanus sativus*) bajo los diferentes tratamientos.

Para la evaluación se tomaron en cuenta los parámetros morfológicos de longitud, área y peso de la raíz (Fig. 29). Estos parámetros fueron utilizados para comparar el efecto de los diferentes tratamientos sobre el desarrollo del sistema radicular.



**Figura 29.** Parámetros morfológicos de raíces de rábano (*Raphanus sativus*) a) peso fresco, b) área de la raíz y c) longitud máxima de raíz.

En el parámetro de peso fresco (Fig. 29c) se observa que el tratamiento con NP ZnO:Fe presenta los valores más altos, seguido por NP ZnO, mientras que el tratamiento Monster muestra los valores más bajos en comparación con el control. Esto sugiere un efecto positivo de las nanopartículas, especialmente de las dopadas con hierro sobre la biomasa fresca de la raíz de la

planta. En cuanto al área de raíz (Fig. 29b) , se observa un incremento progresivo, siendo nuevamente NP ZnO:Fe el tratamiento que exhibe el mayor desarrollo radicular. Respecto a la longitud máxima de raíz (Fig. 29c) los tratamientos control, monster y NP ZnO muestran valores similares, mientras que el tratamiento con NP ZnO:Fe presenta un incremento notable en la longitud de la raíz.

A pesar del que el objetivo de este trabajo no fue evaluar los cambios morfológicos del fruto, los resultados indican que el tratamiento con NP ZnO:Fe favorecieron de manera más marcada el crecimiento en comparación con el control y los demás tratamientos, lo cual puede indicar ciertos cambios en las comunidades bacterianas que afectaron de manera positiva. Para corroborar el efecto es necesario repetir el experimento con un mayor número de unidades experimentales, sin embargo, estos resultados sugieren que puede existir un cambio en las comunidades bacterianas asociadas a un efecto positivo en el desarrollo de la planta.

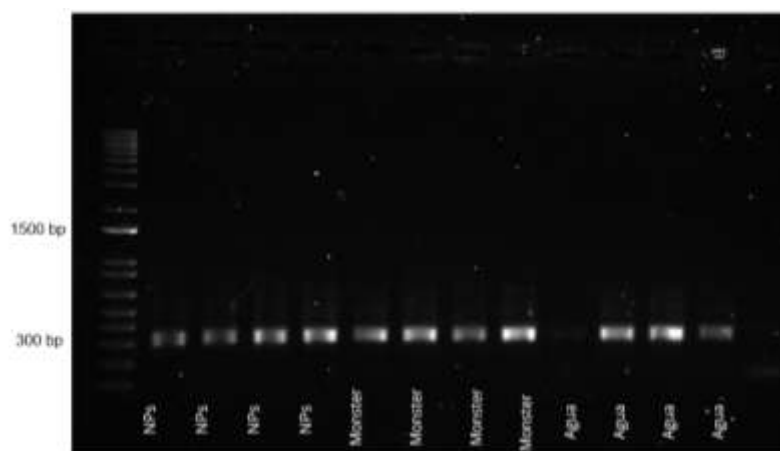
#### **7.4 Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación de ADN de muestras de suelo y rizosfera**

Se realizaron las extracciones de ADN correspondientes a las muestras del experimento de suelo (sección 6.4.1) y del experimento de rizosfera (sección 6.4.2). Por un lado, el experimento en suelo tiene el objetivo de evaluar los cambios directos en las comunidades bacterianas por la aplicación de NPs; por otro lado, el experimento de rizosfera permite evaluar los cambios en las comunidades bacterianas de la rizosfera del rábano al aplicar las NPs de manera foliar, o sea, efectos indirectos de la aplicación de NPs, mediados por la planta a través de los exudados radiculares.

Se verificó la pureza y concentración de las muestras de ADN por espectrofotometría (datos no mostrados), confirmando que tienen las propiedades necesarias para la secuenciación (>20 ng/μl). La integridad del ADN obtenido se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa (no se muestra), confirmando la presencia de bandas íntegras correspondientes al ADN genómico bacteriano.

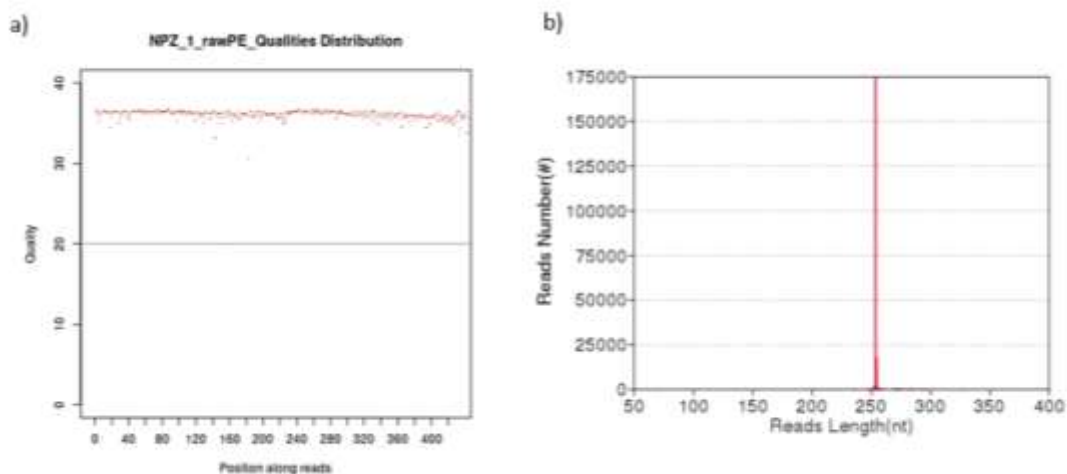
Asimismo, para cada muestra se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para descartar la presencia de inhibidores que afecten la amplificación del gen 16S rRNA, el cual es un

paso esencial para la secuenciación. Todas las muestras mostraron amplificación del tamaño esperado (Fig. 30), cumpliendo con los controles de calidad, por lo tanto, se enviaron a la empresa Novogene, para la secuenciación en la plataforma Illumina Myseq.



**Figura 30.** Electroforesis en gel de agarosa de los productos de amplificación por PCR correspondientes al experimento en suelo.

Una vez recibidos los resultados de la secuenciación, se llevó a cabo una evaluación inicial de la calidad de los datos obtenidos. Posteriormente, se procedió a realizar los análisis estadísticos correspondientes para evaluar las diferencias en las comunidades microbianas entre los distintos tratamientos experimentales. Uno de los filtros de calidad fue el análisis de la distribución de longitud y calidad de las lecturas. Los valores de calidad *Phred* se mantuvieron por encima de Q30 a lo largo de la mayor parte de las lecturas en todas las muestras, evidenciando una alta confiabilidad de los datos (Fig. 31a). Asimismo, las secuencias de todas las muestras presentaron una longitud de 250 pb, lo que indica una amplificación uniforme de la región objetivo (Fig. 31b).

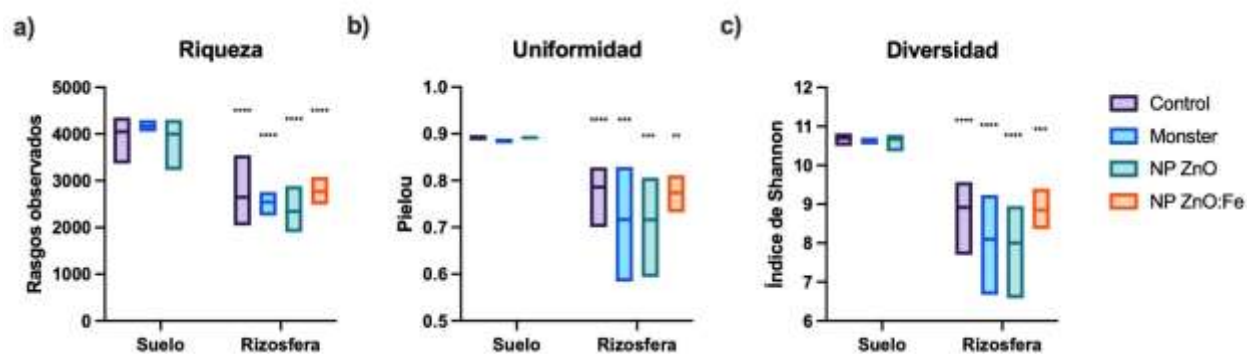


**Figura 31.** Control de calidad de las lecturas de secuenciación de una muestra representativa. a) Distribución de la calidad de las bases (*Phred score*) a lo largo de la longitud de las lecturas crudas, b) Distribución de la longitud de las lecturas obtenidas.

## 7.5 Efecto de la aplicación de nanopartículas sobre la diversidad de comunidades bacterianas

### 7.5.1 Diversidad alfa

A partir de los datos obtenidos mediante secuenciación del gel 16S rRNA se analizaron los índices de diversidad alfa, que permiten describir la riqueza y la uniformidad de las comunidades bacterianas presentes en las muestras de suelo y rizosfera. Con el fin de mostrar los índices de diversidad alfa de las comunidades microbianas de las muestras de suelo y rizosfera bajo los tratamientos de control, monster, NP ZnO y NP ZnO:Fe, se presentan tres parámetros: a) riqueza (número de rasgos observados), b) uniformidad (índice de Pielou) y c) diversidad (índice de Shannon) (Fig.32).



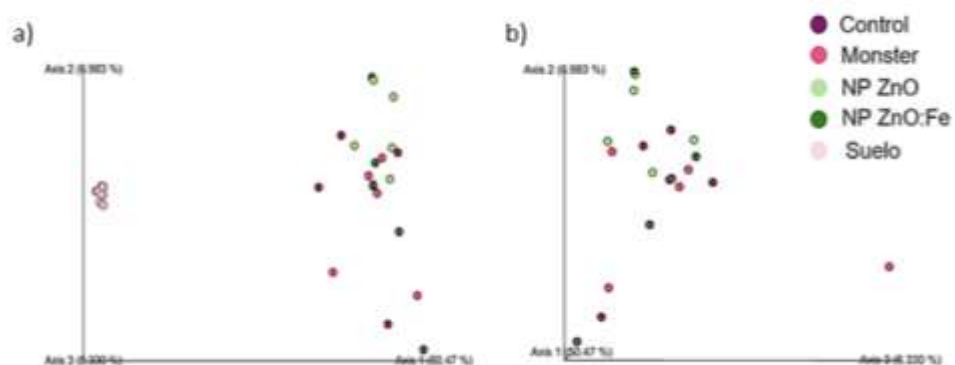
**Figura 32.** a) Índices de riqueza, b) uniformidad y c) diversidad para ambos experimentos analizados, los asteriscos arriba de las barras indican la significancia de la muestra contra el control de suelo donde  $p < .05$  \*,  $< .01$  \*\*,  $< .001$  \*\*\* y  $< .0001$  \*\*\*\*.

Encontramos diferencias marcadas en diversidad alfa al comparar entre diferentes fracciones (suelos vs rizosfera). Primero, las comunidades bacterianas de suelo presentan una riqueza mayor en comparación con las de rizosfera en todos los tratamientos, lo que indica una mayor cantidad de taxones en el suelo no rizosférico (Fig. 32a). Asimismo, las muestras de suelo presentan valores más altos de uniformidad (*Pielou*) (Fig. 32b) indicando una distribución más equitativa de las abundancias entre los taxones presentes. Finalmente, las comunidades bacterianas de suelo mostraron una mayor diversidad (índice de Shannon) (Fig. 32c), que integra tanto riqueza como uniformidad. En la rizosfera, encontramos una disminución general de la riqueza, uniformidad y diversidad, sugiriendo un efecto selectivo por la raíz que favorece ciertos grupos microbianos.

Por otro lado, no se encontraron cambios en la diversidad alfa (riqueza, uniformidad o diversidad) al comparar diferentes tratamientos dentro de la misma fracción. Esto es, no observamos diferencias significativas dentro de las muestras de suelo o rizosfera al aplicar por efecto de la aplicación de Monster, NP ZnO, NP ZnO:Fe, en ninguna de las variables evaluadas.

### 7.5.2 Diversidad beta

La diversidad beta se analizó con el objetivo de evaluar las diferencias en la composición de las comunidades microbianas entre las muestras estudiadas (Fig. 33). Cada punto representa una muestra y la distancia entre puntos en gráficas de coordenadas principales refleja el grado de similitud en su estructura microbiana.



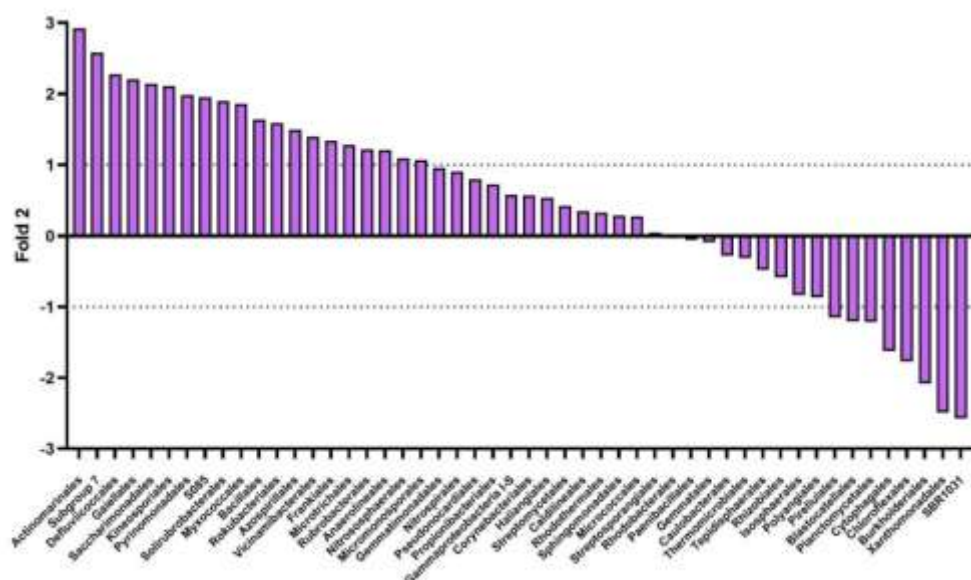
**Figura 33.** Análisis de coordenadas principales (PCoA) de la estructura de la comunidad bacteriana.

El Axis 1 (50.47 %) explicó la mayor proporción de la variación total observada entre las muestras, por lo que es el eje más importante para interpretar diferencias en la composición microbiana. Este eje separó claramente a las comunidades bacterianas de acuerdo a su fracción (suelo vs. rizosfera), confirmando el efecto que tiene la raíz para reclutar a la comunidad en la rizosfera. El Axis 2 (6.98 %) y Axis 3 (6.33 %) explican una menor proporción de la variación, y no permiten establecer diferencias claras adicionales en las comunidades por efecto de los tratamientos.

En cuanto a la distribución, el grupo que se muestra separado hacia el lado izquierdo del gráfico (Fig. 33a) representa las muestras de suelo, lo que indica que este grupo es significativamente diferente del resto y presenta además una alta consistencia interna, ya que sus muestras están muy cercanas entre sí. Esto indica que, para las muestras de suelo, la adición de tratamientos (Monster y NP-ZnO) no ocasionó una modificación en la composición de la comunidad. Por otro lado, los grupos ubicados a la derecha representan las muestras de rizosfera. Estas comunidades muestran una mayor variabilidad entre ellas, debido al efecto específico de cada replica biológica que tiene menor control en el experimento de invernadero. A la derecha del gráfico (Fig. 33b) se muestra el análisis de diversidad beta considerando solamente las muestras de rizosfera. Este análisis permitió corroborar que los diferentes tratamientos (Monster, NP ZnO, NP ZnO:Fe), no ocasionaron cambios significativos en la composición global de las comunidades de rizosfera, dado que existe un traslape entre las réplicas de los grupos experimentales.

## 7.6 Cambios en las comunidades bacterianas entre el suelo y rizosfera

Diversas investigaciones han mostrado que la raíz recluta sus comunidades bacterianas a partir de las comunidades de suelo, resultando en diferencias marcadas entre ambas fracciones (Bai *et al.*, 2022). Dado que encontramos un efecto marcado de selección de la rizosfera en nuestros experimentos, se realizó una comparación las muestras control de ambos experimentos para identificar los taxones diferencialmente representados en ambas fracciones (Fig. 34). Para esto, se utilizó el parámetro Fold2, que representa el cociente entre la abundancia relativa de cada taxon (nivel Familia) en raíz vs suelo. Por lo tanto, los valores positivos, son taxones enriquecidos en la rizosfera, mientras que los valores negativos son taxones excluidos. Las líneas punteadas representan los umbrales de cambio utilizados para identificar variaciones relevantes entre los grupos analizados.



**Figura 34.** Cambio relativo de abundancia de los principales taxones a nivel familia del experimento de rizosfera en comparación del experimento del suelo.

Entre los taxones con mayores incrementos se encuentran Actinomarinales, Subgroup 7, Defluvilcoccales y Gaiellales cuyos valores superaron el umbral de cambio establecido en la gráfica. Estos grupos pertenecen a los Phylum Actinobacteriota, Acidobacteriota Proteobacteria. Entre los grupos con mayor reducción se identificaron SBR1031, Xanthomonadaceae,

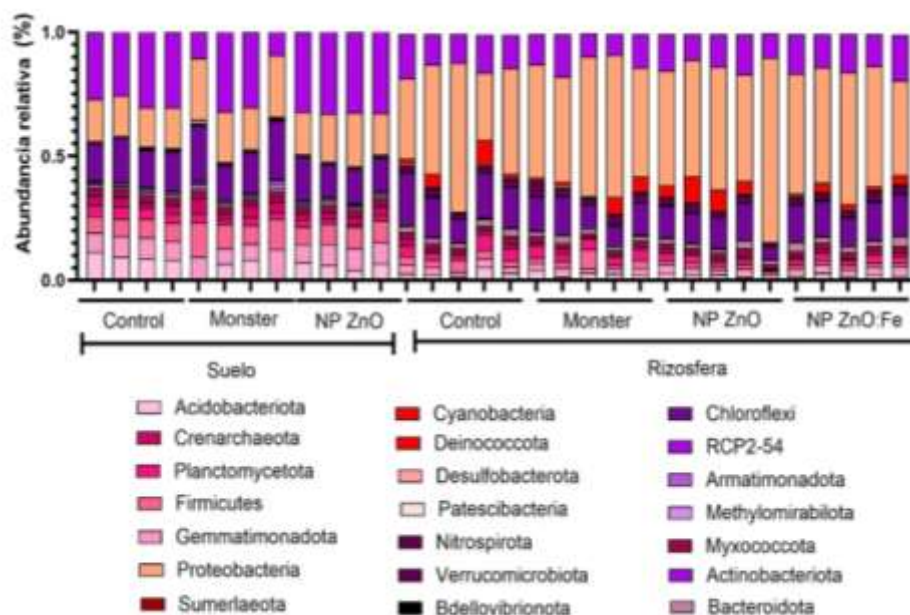
Burkholderiales y Chloroflexales, pertenecientes a los Phyla Chloroflexi y Proteobacteria. Este análisis nos permitió identificar familias bacterianas que responden a la presencia de exudados de la raíz, dando una estructura determinada a las comunidades que interactúan con la planta.

### **7.7 Estructura de las comunidades bacterianas**

Con el objetivo de describir la composición de las comunidades bacterianas presentes en las muestras analizadas, se evaluó la abundancia relativa a diferentes niveles taxonómicos a partir de la secuenciación del gen 16S rRNA. Este análisis permitió identificar los grupos microbianos predominantes y comparar su distribución a nivel filo y orden entre los distintos tratamientos experimentales.

A nivel phylum, las muestras de suelo presentan una estructura estable entre réplicas y tratamientos, sin variaciones evidentes en sus grupos más abundantes (Fig. 35). La dominancia de ciertos grupos bacterianos y distribución más homogénea de los taxones minoritarios, indica que 1) las réplicas experimentales dentro de cada grupo respondieron de la misma manera a cada tratamiento, y 2) que los tratamientos no tuvieron un efecto marcado sobre la estructura de la comunidad en sus grupos predominantes. Los grupos predominantes en suelo fueron Chloroflexi, Proteobacteria y Actinobacteria.

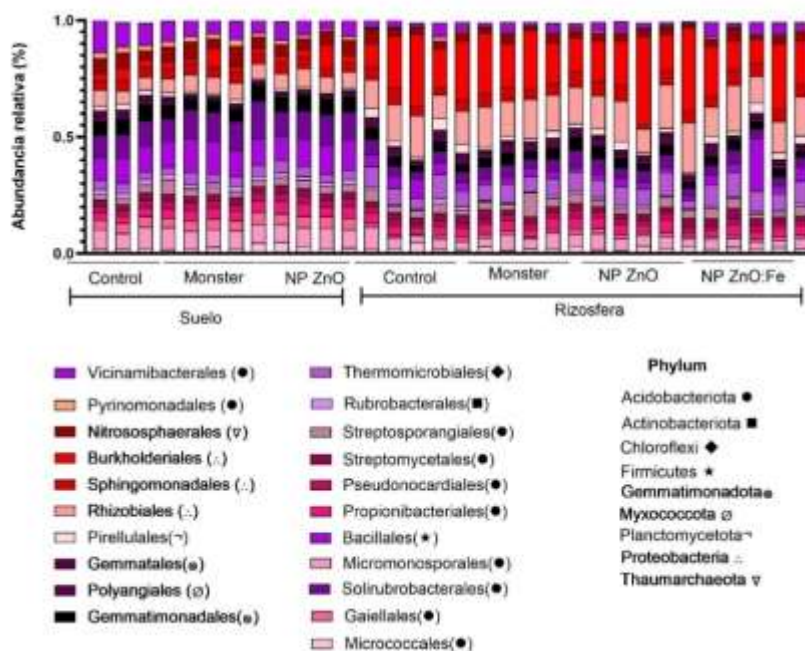
Asimismo, el análisis a nivel phylum de las comunidades de rizosfera, muestra una estructura con diferencias claras con respecto al suelo, debido al efecto selectivo que ejerce la raíz sobre los microorganismos asociados. Los Phyla predominantes en la rizosfera fueron Chloroflexi, Proteobacteria, Actinobacteria y Cyanobacteria. Sin embargo, en esta fracción se observó un enriquecimiento de los Phyla Proteobacteria y Cyanobacteria con respecto al suelo. A su vez, en la rizosfera se excluyeron las bacterias del phylum Chloroflexi, Acidobacteria, Gemmatimonadota, Firmicutes en comparación a las muestras de suelo.



**Figura 35.** Abundancia relativa de los principales phyla bacterianos en muestras de suelo y rizosfera bajo diferentes tratamientos.

Con respecto al efecto de los tratamientos (Monster y NPs) sobre la estructura de las comunidades bacterianas de la rizosfera a nivel de phylum, no se observó un patrón claro en este análisis, ya que las muestras presentan una variabilidad alta entre las réplicas de cada grupo. En conjunto, el análisis de estructura de la comunidad a nivel de phylum indica que la rizosfera actúa como un microambiente dinámico que selecciona a una comunidad bacteriana determinada a partir del suelo; sin embargo, el efecto de los tratamientos con nanopartículas sobre la reorganización de la comunidad requiere un análisis más detallado.

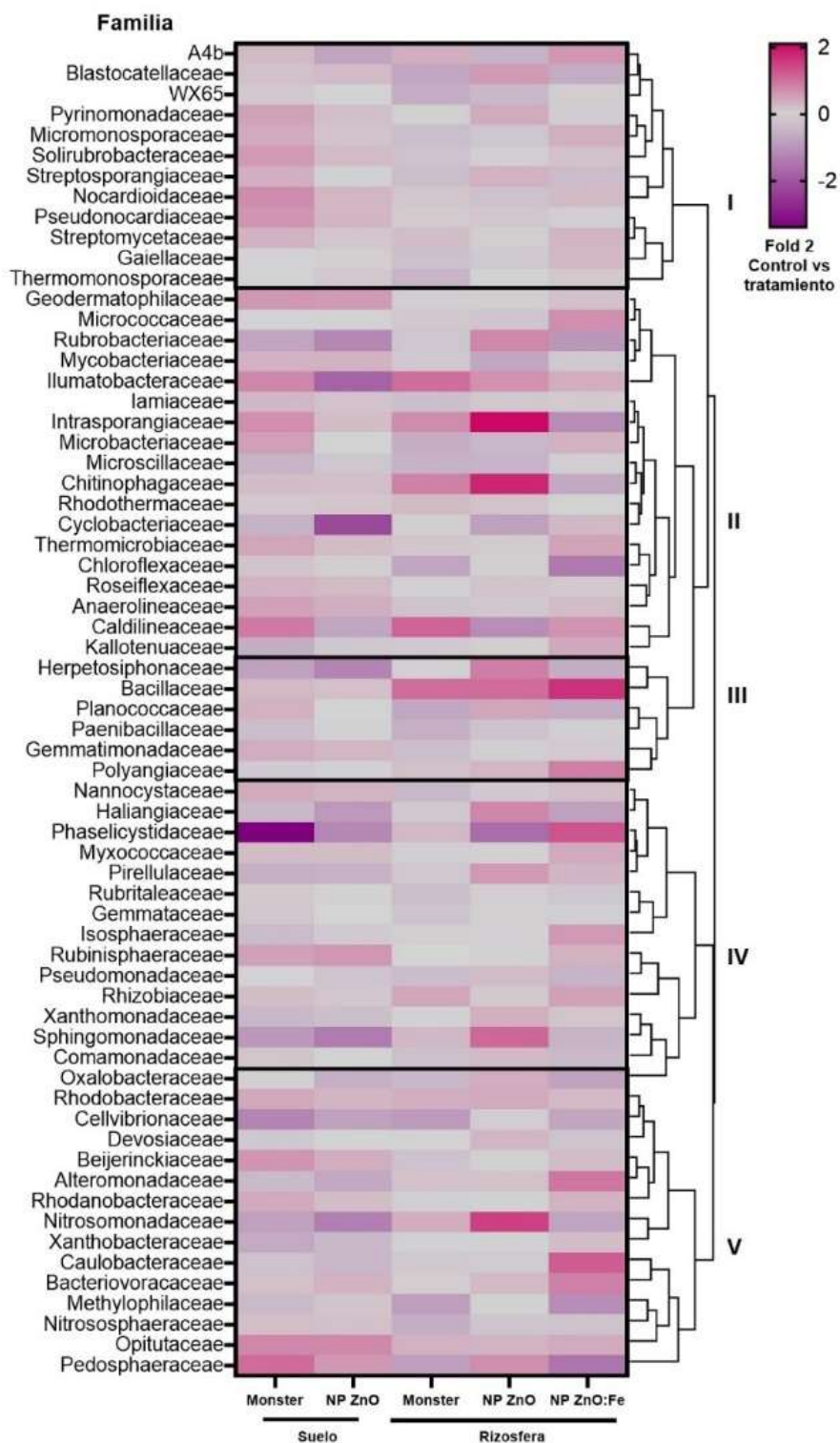
Con el fin de explorar el efecto de los tratamientos (Monster y NPs) sobre la estructura de las comunidades de suelo y rizosfera, se analizaron las abundancias relativas a nivel taxonómico orden (Fig. 36). Observamos grupos claramente diferenciados entre ambas fracciones, dado que en la rizosfera se enriquecieron los Burkholderiales y Rizobiales del phylum Proteobacteria. En contraste, se presen una disminución en el orden Polyangiales y Vicinamibacterales del Phylum Myxococcota y Acidobacteriota, respectivamente. Sin embargo, no se observó ninguna diferencia clara dentro de cada fracción por efecto de los tratamientos.



**Figura 36.** Abundancia relativa de los órdenes bacterianos dominantes en muestras de suelo y rizosfera.

### 7.8 Efecto de las NPs sobre taxones específicos en suelo y rizosfera

Dado que el análisis de estructura de la comunidad (Fig. 35 y 36) se enfoca solamente en los grupos taxonómicos más abundantes, se realizó un análisis comparativo más amplio con el fin de identificar los cambios de abundancia relativa a nivel orden en los distintos tratamientos. Se elaboró un mapa de calor donde se muestra el cambio (Fold 2) de cada grupo con respecto al tratamiento control correspondiente (suelo o rizosfera) (Fig.37). En el heatmap, la intensidad del color indica el cambio de abundancia relativa de cada grupo taxonómico, donde los tonos más claros representan menores valores y los tonos más intensos indican un cambio mayor, ya sea de aumento (rosa) o disminución (púrpura) con respecto al control. La organización jerárquica de los taxones permite identificar clústeres de bacterias con patrones de cambios en abundancia similares.



**Figura 37.** Mapa de calor de la abundancia relativa de las familias bacterianas.

Este análisis, permitió identificar cambios en familias específicas en las comunidades bacterianas por efecto de los tratamientos. Para el experimento en suelo, no se encontró ninguna familia con

aumentos importantes con respecto al control; en este caso, el *Cluster* 1 y 2 agruparon algunas familias que aumentaron ligeramente su abundancia por la adición de monster. Por el contrario, se identificó a las familias Phaselicytidaceae, Illumatobacteraceae y Cyclobacteriaceae que disminuyeron por la aplicación de Monster y NP ZnO directa en suelo, respectivamente.

Sin embargo, el análisis se enfocó principalmente en los cambios observados en la rizosfera por efecto de la aplicación foliar de tratamientos, con respecto al control. Para el caso de la aplicación foliar de NP ZnO, se encontró un aumento en las familias Intrasporangiaceae, Chitinophagaceae y Nitrosomonadaceae, las cuales se agruparon en los *Cluster* 2 y 5. Es importante recalcar que ninguna de estas familias tuvo aumentos importantes en suelo cuando se aplicaron las NP ZnO directamente, indicando que se trata de un efecto mediado por la planta. Para el caso de la aplicación foliar de NP ZnO:Fe, se encontraron aumentos en las familias, Bacillaceae, Phaselicytidaceae, Caulobacteraceae y disminución en Pedosphaeraceae. El aumento en Bacillaceae se observó en diferente magnitud para todos los tratamientos foliares, pero no en las aplicaciones directas en suelo. Notablemente, los aumentos de las familias Phaselicytidaceae y Caulobacteraceae parece ser un efecto relacionado con el Fe, ya que no se observa en el tratamiento foliar con NP ZnO.

Finalmente, se realizó un análisis de corrección de las pruebas de hipótesis múltiples en la plataforma Qiime, donde se compararon todos los grupos detectados en la secuenciación, e incorporando el valor Q para darle soporte estadístico a las comparaciones (Ver sección de métodos). En la tabla 3 se muestran los grupos taxonómicos bacterianos cuya abundancia relativa en el experimento del suelo presentó diferencias significativas respecto al control; el color rosa indica un aumento en la abundancia y el color verde, una disminución.

**Tabla 3.** Abundancia relativa con diferencias significativas entre el control del experimento de suelo contra los tratamientos.

Phylum	Clase	Orden	Familia	Monster	NP ZnO
<b>Acidobacteriota</b>	Subgroup_5	Subgroup_5	Subgroup_5	1.24E-14	2.35E-123
	Vicinamibacteria	Vicinamibacterales	uncultured	5.05E-06	1.96E-05
	Thermoleophilia	—	—	6.43E-139	0.04901205
	Acidimicrobiia	IMCC26256	IMCC26256	NS	0.00057415
		Microtrichales	lamiaceae	0.012047944	NS
	Actinobacteria	Propionibacterales	Nocardioideaceae	NS	1.70E-16
		Micrococcales	Promicromonosporaceae	0.04945781	NS
		Glycomycetales	Glycomycetaceae	0.00048801	NS
		Corynebacterales	Nocardiaceae	0.003959024	NS
	<b>Bacteroidota</b>	Bacteroidia	Cytophagales	Cytophagaceae	0.000807514
Flavobacteriales			Flavobacteriaceae	NS	5.84E-15
<b>Chloroflexi</b>	Dehalococcoidia	—	—	4.89E-05	NS
<b>Fibrobacterota</b>	Fibrobacteria	Fibrobacterales	Fibrobacteraceae	NS	3.26E-105
<b>Myxococcota</b>	Myxococcia	Myxococcales	27F-1492R	0.040645561	NS
<b>Patescibacteria</b>	Saccharimonadia	Saccharimonadales	Saccharimonadaceae	0.027497345	0.02105812
<b>Planctomycetota</b>	Planctomycetes	Gemmatales	Gemmataceae	NS	6.73E-07
		Isosphaerales	Isosphaeraceae	NS	0.00026551
	BD7-11	BD7-11	BD7-11	NS	0.00142436
	Pla4_lineage	Pla4_lineage	Pla4_lineage	0.009880452	NS
<b>Proteobacteria</b>	Gammaproteobacteria	211ds20	211ds20	0.012890052	NS
		Cellvibrionales	Cellvibrionaceae	NS	0.0017613
	Alphaproteobacteria	Thalassobaculales	Thalassobaculaceae	NS	0.00891241
<b>Verrucomicrobiota</b>	Verrucomicrobiae	Pedosphaerales	Pedosphaeraceae	0.001176396	NS

Encontramos diversas familias con aumentos y disminuciones por efecto de los tratamientos; estas familias corresponden principalmente a los Phylum Acidobacteriota, Bacteroidota, Cloroflexi, Fibrobacterota, Myxococcota, Patescibacteria, Planctomycetota, y Proteobacteria. Solamente 2 familias (Subgroup 5 y Cytophagaceae) disminuyeron en ambos tratamientos. El resto de los cambios fueron específicos, por ejemplo, el tratamiento directo en suelo con Np ZnO

ocasionó un aumento en IMCC26256, Nocardioideaceae, Fibrobacteraceae, pero estos grupos no respondieron al tratamiento con monster.

La tabla 4 muestra los grupos taxonómicos bacterianos cuya abundancia relativa en el experimento de rizosfera presentó diferencias significativas respecto al control; el color rosa indica un aumento en la abundancia y el color verde, una disminución. El tratamiento foliar con monster solamente ocasionó cambios en 5 familias, las cuales corresponden a los phylum Acidobacteriota, Armatimonadota, Chloroflexi y Verrucomicrobiota. Estos efectos parecen ser muy específicos para el fertilizante monster, ya que no se observaron cambios en esas familias al aplicar NPs de manera foliar o en suelo.

Por el contrario, la aplicación foliar de NP resultó en un mayor número de familias con cambios en la rizosfera, pero la composición de las NP es muy importante para este efecto. La aplicación de NP ZnO ocasionó una disminución en las familias Bacillaceae, A4b, HOC36, Armatimonadales, Gimesiaceae. Ninguna de estas familias presentó aumentos por aplicación directa en suelo, demostrando que se trata de un efecto mediado por la planta. Para el caso de la aplicación foliar de NP ZnO:Fe, observamos un aumento en las familias Kineosporiaceae, Cytophagaceae, OM190, HOC36, Rhodanobacteraceae, Micavibrionaceae, Planococcaceae, Pirellulaceae y una disminución en Bacillaceae, Paenibacillaceae y Alicyclobacillaceae. Notablemente, la familia Bacillaceae presentó una disminución por la aplicación de ambos tipos de NP, mientras que el resto de las modificaciones son específicas para cada tipo.

**Tabla 4.** Grupos taxonómicos a nivel de familia con abundancia relativa con diferencias significativas entre el control del experimento de rizosfera contra los tratamientos.

Phylum	Clase	Orden	Familia	Monster	NP ZnO	NP ZnO:Fe
<b>Acidobacteriota</b>	Subgroup_21	Subgroup_21	Subgroup_21	0.042792	NS	NS
<b>Actinobacteria</b>	Actinobacteria	Kineosporiales	Kineosporiaceae	0.009365	NS	0.000131
<b>Firmicutes</b>	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	NS	0.00976	0.009847
<b>Armatimonadota</b>	Fimbriimonadia	Fimbriimonadales	Fimbriimonadaceae	0.042792	NS	NS
<b>Bacteroidota</b>	Bacteroidia	Cytophagales	Cytophagaceae	NS	NS	0.019545
	Anaerolineae	SBR1031	A4b	NS	0.000518	NS
	Bacilli	Paenibacillales	Paenibacillaceae	NS	NS	0.000184
	OM190	OM190	OM190	NS	NS	0.019545
<b>Bdellovibrionota</b>	Gammaproteobacteria	HOC36	HOC36	NS	0.007976	0.009834
<b>Chloroflexi</b>	Chloroflexia	Thermomicrobiales	—	0.000004	NS	NS
	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Rhodanobacteraceae	NS	NS	0.015009
<b>Planctomycetota</b>	Armatimonadia	Armatimonadales	Armatimonadales	NS	0.009673	NS
	Alphaproteobacteria	Micavibrionales	Micavibrionaceae	NS	NS	0.014397
<b>Proteobacteria</b>	Bacilli	Bacillales	Planococcaceae	NS	NS	0.014397
		Alicyclobacillales	Alicyclobacillaceae	NS	NS	0.040334
	Planctomycetes	Planctomycetales	Gimesiaceae	NS	0	NS
		Pirellulales	Pirellulaceae	NS	NS	0.019545
<b>Verrucomicrobiota</b>	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Rubritaleaceae	0.000012	NS	NS

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Caracterización de nanopartículas

El uso de NPs de ZnO en el sector agrícola ha tomado importante relevancia en los últimos años por su potencial aplicación como nanofertilizantes y vehículo de transporte de nutrientes según Hernández-Adame *et al.* (2024). Sin embargo, en relación con sus propiedades bioactivas, existen discrepancias en la evidencia experimental. Por ejemplo, ya que algunos autores como Mendes, C.R. *et al.* (2022) sugieren que presentan actividad antimicrobiana, mientras que otros no la han encontrado. Conocer estas propiedades de gran relevancia para conocer los impactos que sus aplicaciones en campo pueden tener sobre la diversidad microbiana nativa. Una posible razón de esta inconsistencia puede venir de la forma y tamaño de la partícula, debido a que, se sabe que el ZnO de tamaño nanométrico tiene excelente movilidad electrónica que puede potenciar su aplicación en fotocatalisis, electrónica e incluso en el área biotecnológica menciona Yonggang, G. & Mohammadamin, M. (2025). Además, los resultados inconsistentes pueden derivar de la sensibilidad de cada bacteria por el ZnO como lo explica Babayevska *et al.* (2022). En este sentido, para probar el efecto del ZnO en el microbiota del suelo agrícola, en este proyecto se sintetizaron NPs de ZnO y ZnO:Fe por un método hidrotermal. El espectro de absorción UV-Visible de ambas muestras presentó un pico de absorción característico en la región de 370 nm; este hallazgo es consistente con los resultados de Baruah, S., & Dutta, J. (2009) sobre la absorción de las NPs ZnO en la región de 360 a 380 nm. Estas longitudes de onda corresponden a las transiciones electrónicas directas desde la banda de valencia a la banda de conducción. Por otro lado, se observa un ligero ensanchamiento del pico en las NPs ZnO:Fe (1%) en comparación a las Nps no dopadas, lo cual puede deberse a la distorsión estructural originada por el dopaje (Chakrabarti *et al.* (2012), ya que el radio iónico del  $\text{Fe}^{3+}$  (0.64 Å) es ligeramente menor que el del  $\text{Zn}^{2+}$  (0.74 Å), promoviendo tensiones en la red cristalina que puedan alterar ligeramente las propiedades ópticas del cristal.

Por otro lado, Suresh *et al.* (2015) han reportado los espectros de absorción infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) obtenidos para NPs ZnO:Fe (1%) y NPs ZnO, los cuales muestran espectros típicos de óxidos metálicos. En la muestra dopada con hierro, dicha banda presenta un

ligero acortamiento, atribuible a la sustitución parcial de iones  $\text{Zn}^{2+}$  por  $\text{Fe}^{3+}$  en la red. Según Ghosh *et al.* (2018) estas sustituciones generan tensiones internas, lo que afecta la vibración del enlace metálico. Asimismo, Mahapatra *et al.* (2011) menciona que la banda en  $1600\text{ cm}^{-1}$  puede atribuirse a la vibración de flexión H–O–H del agua, posiblemente como resultado del método de síntesis o de la adsorción atmosférica de humedad.

Los difractogramas obtenidos para difracción de rayos x de las NPs ZnO:Fe y NPs ZnO muestran picos de difracción característicos de la estructura cristalina hexagonal tipo *wurtzita*, correspondiente al ZnO, como lo ha reportado Wang *et al.* (2013). Los picos más intensos se localizaron en los planos cristalográficos (100), (002) y (101). No se logran observar picos adicionales atribuibles a otras fases secundarias de óxidos de hierro, lo cual indica que el dopante se encuentra dentro de la red cristalina de ZnO y no formando otras estructuras. Janaki *et al.* (2015) sugiere que esto es posible debido al bajo porcentaje con el que se dopo las NPs y a la solubilidad del  $\text{Fe}^{3+}$  en la estructura del ZnO.

Respecto a la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS), Suresh *et al.* (2015) ha mostrado que la incorporación de iones metálicos como el hierro puede inhibir el crecimiento cristalino, generando nanopartículas de menor tamaño como ocurrió con las NPs ZnO:Fe (1%). Sahai & Goswami (2011) sugieren que una distribución de PDI inferior a 0.5 es aceptable para aplicaciones en nanotecnología.

## **8.2 Cambios en parámetros morfológicos de rábano (*Raphanus sativus*)**

Los resultados obtenidos para los parámetros morfológicos de la raíz indican que el tratamiento con NP ZnO:Fe promovió de manera más marcada el crecimiento radicular del rábano (*Raphanus sativus*), tomando en cuenta los valores de peso fresco, área de raíz y longitud máxima de raíz, en comparación de los otros tratamientos. Los efectos positivos observados en el crecimiento radicular podrían resultar, además, en cambios en las comunidades bacterianas de la rizosfera. Lin & Xinge en 2007 sugieren que las nanopartículas metálicas pueden modular la microbiota del suelo, favoreciendo grupos bacterianos promotores del crecimiento vegetal. A su vez, dichos grupos bacterianos contribuyen a la producción de fitohormonas, la solubilización de nutrientes

y la mejora en la nutrición vegetal. En este sentido, el mayor desarrollo radicular observado bajo el tratamiento con NP ZnO:Fe podría reflejar tanto un efecto directo sobre la selección de la planta como un efecto indirecto mediado por la rizosfera.

### **8.3 Cambios en la estructura de las comunidades bacterianas**

La hipótesis de la presente investigación plantea que la aplicación foliar de nanopartículas de óxido de zinc dopadas con hierro tiene un efecto en el desarrollo del rábano (*Raphanus sativus*), asociado a cambios en la estructura y diversidad de las comunidades bacterianas de la rizosfera. Analizando los resultados de los ensayos realizados, los patrones observados en el mapa de calor sugieren que los tratamientos con ZnO y ZnO:Fe fueron las muestras que promovieron más modificaciones en la abundancia relativa de ciertos taxones bacterianos en comparación con el control. Este hallazgo es consistente con reportes previos como el de Zhang *et al.*, en 2024, los cuales estudiaron la capacidad de las nanopartículas metálicas para alterar la microbiota del suelo y la rizosfera. Asimismo, se ha reportado por Sheteiwy *et al.*, en 2021, que las NPs ZnO modifican la abundancia de géneros rizosféricos, los cuales desempeñan funciones importantes en la promoción del crecimiento vegetal, la solubilización de nutrientes y la fijación biológica de nitrógeno, lo que concuerda con los resultados para las muestras de NP del presente estudio.

Respecto a las comunidades bacterianas de las raíces del rábano, en las muestras de rizosferas para los 4 tratamientos, se observa un enriquecimiento del Phylum Proteobacteria, particularmente órdenes como *Rhizobiales* y *Sphingomonadales*. Estos grupos bacterianos son comúnmente reportados como dominantes en rizosfera debido a su capacidad para utilizar compuestos orgánicos derivados de la raíz y participar en procesos de promoción del crecimiento vegetal y ciclado de nutrientes Wu *et al* en 2020. La mayor abundancia relativa de estas muestras en comparación con el suelo sugiere un enriquecimiento selectivo inducido por la planta.

La abundancia relativa para los Phylum Acidobacteria, Bacillota, Actinobacteria, Bacteroidota, Proteobacteria, mostraron variaciones entre los tratamientos, particularmente en la rizosfera, lo que sugiere que estos cambios podrían estar relacionados con alteraciones en la exudación radicular, en la disponibilidad de micronutrientes (Zn y Fe) y en el microambiente rizosférico,

factores que Hug *et al.*, en 2013 mencionan como conocidos por modular la estructura de las comunidades bacterianas del suelo.

Se observó un incremento en la abundancia relativa para el orden de Burkholderiales en los suelos tratados tanto con NP ZnO Y NP ZnO:Fe en las muestras de rizosfera. Preston, G.M. (2004), menciona que esto puede tener connotaciones tanto positivas como negativas, debido a que este orden causa pudriciones y necrosis en plantas; no obstante, cepas de Burkholderia spp. también son ambientalmente importantes debido a su capacidad de promover el crecimiento vegetal mediante la síntesis de fitohormonas y la supresión de patógenos de plantas. Un incremento en los miembros de los órdenes Burkholderiales y Bacillales en presencia de nanopartículas de óxido de zinc podría tolerar o incluso prosperar en presencia de ZnO, posiblemente debido a mecanismos de resistencia a metales o a estrés oxidativo, según lo informado por Meli *et al.*, (2026).

En resumen, se demostró que la abundancia de las comunidades bacterianas en suelos que contienen NPs dependen de la presencia o ausencia de plantas, como lo explica Lee *et al.*, en 2012, donde las bacterias del suelo en sistemas con plantas pueden generar interacciones menos tóxicas sobre las poblaciones bacterianas y el crecimiento vegetal, posiblemente debido a la adhesión o absorción de las NP ZnO en la superficie de las raíces.

## 9. CONCLUSIONES

Se logró realizar con éxito la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc dopadas con hierro, así como la caracterización fisicoquímica permitió identificar diferencias estructurales confirmado la presencia del dopaje en las nanopartículas.

Los resultados respaldan la hipótesis de que la aplicación foliar de NP ZnO y NP ZnO:Fe ejercen un efecto sobre la microbiota rizosférica, modulando la estructura de las comunidades bacterianas, así como, de acuerdo con los resultados del peso fresco, área y longitud de raíz, el tratamiento de NP ZnO:Fe fue el que presentó un crecimiento radicular significativo en comparación a los otros tratamientos. Estos cambios podrían tener implicaciones ecológicas y funcionales relevantes, particularmente en procesos como el ciclo del nitrógeno, la disponibilidad de nutrientes y la promoción del crecimiento vegetal, lo cual resalta la importancia de evaluar los efectos de los nanofertilizantes no solo a nivel de planta, sino también a nivel microbiano.

Aunque se detectaron cambios en las comunidades bacterianas de la rizosfera como un efecto indirecto, mediado por la planta, tras la aplicación foliar de NPs, estos no fueron cambios globales en la diversidad o composición de la comunidad. Mas bien, se trató de cambios puntuales en grupos taxonómicos específicos, los cuales fueron observados gracias al uso de la herramienta de secuenciación masiva de amplicones para la evaluación de las raíces manejadas experimentalmente. Este resultado resalta el potencial de tratamientos con NPs para la ingeniería de la microbiota vegetal, pero se requieren más estudios.

Los nanomateriales pueden optimizar el uso de recursos y promover un crecimiento más sostenible. Por lo observado en la presente investigación. Las NP de ZnO y ZnO ofrecen beneficios en el crecimiento del fruto. De igual modo, presentan un potencial nanofertilizante o estimulador del crecimiento en la agricultura. Sin embargo, este estudio remarca la necesidad de investigaciones adicionales para comprender más los mecanismos fisiológicos detrás de estas respuestas, así como su impacto a largo plazo en los cultivos y el medio ambiente.

## 10. LITERATURA CITADA

- Abdel-Fattah, E. M., & Alshehri, S. M. (2026). *Impact of high Fe doping on structure, optical, and magnetic properties of zinc oxide nanostructures synthesized by hydrothermal route*. *Crystals*, 16(1), 55. <https://doi.org/10.3390/cryst16010055>.
- Afzal, S. y Singh, N. (2022). *Effect of zinc and iron oxide nanoparticles on plant physiology, seed quality and microbial community structure in a rice soil microbial ecosystem*. Pubmed.
- Agarwal, H., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2017). *A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles*. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 406–413, <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.03.002>.
- Aguirre-Becerra, H., Feregrino-Pérez, A., Esquivel, K., Pérez-García, C.E., Vázquez-Hernández, M. y Mariana-Alvarado, A. (2022). *Nanomaterials as an alternative to increase plant resistance to abiotic stresses*. *Frontiers in Plants Science*, 13, artículo 1023636.
- Auffan, M., Rose, J., Bottero, J., Lowry, G., Jolivet, J. y Wiesner. (2009). *Towards a definition of organic nanoparticles from an environmental, health and safety*. *Resource-Efficient Technologies*, 3(6), 407–413
- Babayevska, N., Przysiecka, L., Iatsunskyi, I., Grzegorz N., Jarek, M., Janiszewska, E. & Jurga, S. (2022). *ZnO size and shape effect on antibacterial activity and cytotoxicity profile*. *Sci Rep* 12, 8148. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12134-3>.
- Badireddy, A.R., Hotze, E.M., Chellam, S., Alvarez, P. y Wiesner, M.R. (2007) *Inactivation of bacteriophages via photosensitization of fullerol nanoparticles*. *Environ. Sci. Technol.* 2007, 41, 6627–6632, doi: 10.1021/es0708215.
- Bai, B., Liu, W., Qiu, X., Zhang, J., Zhang, J., & Bai, Y. (2022). *The root microbiome: Community assembly and its contributions to plant fitness*. *Journal of Integrative Plant Biology*, 64(2), 230–243. <https://doi.org/10.1111/jipb.13226>.
- Barraza-Garza, G., De La Rosa, L., Martínez, A., Castillo-Michel, H., Cotte, M. Y Alvarez-Parrilla, E. (2013). *La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos*. *Rev. latinoam. quím* [ . Vol.41, n.3, pp.125-148. ISSN 0370-5943.
- Baruah, S., & Dutta, J. (2009). *Nanotechnology applications in pollution sensing and degradation in agriculture: a review*. *Environmental Chemistry Letters*, 7(3), 191-204.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012). *The rhizosphere microbiome and plant health*. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478–486, doi: 10.1016/j.tplants.2012.04.001.
- Berne, B. J., & Pecora, R. (2000). *Dynamic light scattering: With applications to chemistry, biology, and physics*. Dover Publications.
- Bhattacharjee, S. (2016). *DLS and zeta potential – What they are and what they are not?* *Journal of Controlled Release*, 235, 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>.
- Biesinger, M. C. (2017). *Advanced analysis of copper X-ray photoelectron spectra*. *Surface and Interface Analysis*, 49(13), 1325–1334. <https://doi.org/10.1002/sia.6239>.
- Bokulich, N. A., Kaehler, B. D., Rideout, J. R., Dillon, M., Bolyen, E., Knight, R. y Gregory Caporaso, J. (2018). *Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin*. *Microbiome*, 6(1), 90.

- Bunaciu, Andrei A. Y UdrișTioiu, Elena Y Aboul-Enein, Hassan. (2015). *X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. Critical reviews in analytical chemistry / CRC*. 45. 10.1080/10408347.2014.949616.
- Cabezas, M.P., Fonseca, N.A. & Muñoz-Mérida, A. MIMt: a curated 16S rRNA reference database with less redundancy and higher accuracy at species-level identification. (2024). *Environmental Microbiome* 19, 88 (2024). <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00634-w>.
- Cabezas, M.P., Fonseca, N.A. & Muñoz-Mérida, A. MIMt: a curated 16S rRNA reference database with less redundancy and higher accuracy at species-level identification. (2024). *Environmental Microbiome* 19, 88 (2024). <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00634-w>.
- Caird, M. A., Richards, J. H., & Donovan, L. A. (2007). Nighttime stomatal conductance and transpiration in C3 and C4 plants. *Plant Physiology*, 143(1), 4–10, <https://doi.org/10.1104/pp.106.092940>.
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 13:581–3. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
- Chakrabarti, S., Basak, D., & Dutta, A. (2012). Influence of Fe doping on structural and optical properties of ZnO nanoparticles. *Materials Letters*, 76, 185–188.
- Chen, C., Zhao, Y., Ren, Y., Liu, H., Tian, Y., Geng, Y., Tang, Y. y Chen, X. (2023). Effects of nanoscale zinc oxide treatment on growth, rhizosphere microbiota, and metabolism of *Aconitum carmichaelii*. <https://doi.org/10.7717/peerj.16177>.
- Cruz Nieto, D. D., Rodríguez Espinoza, R. F., Legua Cárdenas, J. A., Ipanaque Rona, J. M., Ramos Pacheco, R. L., Abarca Rodríguez, J. J., Natividad Huasupoma, D. E., Fernández Herrera, F., & Zapata del Solar, H. A. (2022). Stomatal density and its relationship with yield of radish (*Raphanus sativus* L.) fertilized with biol produced from sugar cane residues. *Chemical Engineering Transactions*, 97, 571–576, <https://doi.org/10.3303/CET2297096>.
- Crystallography Open Database. (2026). <https://www.crystallography.net/cod/77685–178>.
- Earth Microbiome Projecty. (2018). 16S Illumina Amplicon Protocol. <https://earthmicrobiome.ucsd.edu/protocols-and-standards/16s/>.
- Fernández, V., Sotiropoulos, T., & Brown, P. (2016). *Foliar fertilization: Scientific principles and field practices*. International Fertilizer Industry Association.
- Fierer, N. (2017). Embracing the unknown: Disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10), 579–590.
- Galindo Guzmán, A. P. (2025). *Impacto de nanopartículas de óxido de zinc en la expresión génica y actividad enzimática de lechuga y rábano*. Tesis doctoral, Tecnológico Nacional de México.
- García López, J. I., Morfín-Gutiérrez, A., Ramírez Barrón, S. N., & Álvarez Vázquez, P. (2025). *Síntesis de nanopartículas de óxido de zinc (NPs-ZnO) y sus aplicaciones en la agricultura*. *Agro-Divulgación*, 5(2). <https://doi.org/10.54767/ad.v5i2.475>.
- Ge, Y., Schimel, J. P., & Holden, P. A. (2011). *Evidence for negative effects of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles on soil bacterial communities*. *Environmental Science & Technology*, 45, 1659–1664.

- Ge, Y., Schimel, J. P., & Holden, P. A. (2011). *Evidence for negative effects of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles on soil bacterial communities*. *Environmental Science & Technology*, 45, 1659–1664.
- Ghosh, M., Biswas, S., & Basu, R. N. (2018). Tailoring optical bandgap of transition metal doped ZnO nanoparticles for photocatalysis. *Ceramics International*, 44(1), 442–450. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.09.090>.
- Goldstein, J., Newbury, D., Michael, J., Ritchie, N., Scott, H. y Joy, D. (2018). *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis* (4th ed.). Springer.
- Guardiola-Márquez, C., López-Mena, E., Segura-Jiménez, M., Gutierrez-Marmolejo, I., Flores, M., Mora, S., Hernández-Brenes, C. y Jacobo-Velázquez, D. (2023). *Development and evaluation of zinc and iron nanoparticles functionalized with plant growth-promoting rhizobacteria and microalgae for their application as bio-nanofertilizers*. *Plants* 2023, 12(20), 3657, <https://doi.org/10.3390/plants12203657>.
- Guardiola-Márquez, C., López-Mena, E., Segura-Jiménez, M., Gutierrez-Marmolejo, I., Flores, M., Mora, S., Hernández-Brenes, C. y Jacobo-Velázquez, D. (2023). *Development and evaluation of zinc and iron nanoparticles functionalized with plant growth-promoting rhizobacteria and microalgae for their application as bio-nanofertilizers*. *Plants* 2023, 12(20), 3657, <https://doi.org/10.3390/plants12203657>.
- Guerra, F., Attia, M., Whitehead, D. y Alexis, F. (2018). *Nanotechnology for environmental remediation: Materials and application*. *Molecules* 2018, 23(7), 1760; <https://doi.org/10.3390/molecules23071760>.
- Hernández-Adame, L., Castellanos, T., Chiquito-Contreras, R.G. , Loera-Muro, A., Pedraza A. Ponce, & Hernández-Montiel, L.G.(2024). *Agro-Nanotechnology Zinc Oxide Nanoparticles as Nanofertilizers for Agriculture*. *Nanotechnology in plant health*.
- Hosseinpour, A., Haliloglu, K., Cinisli, K. T., Ozkan, G., Ozturk, H. I., Pour-Aboughadareh, A., & Poczai, P. (2020). *Application of zinc oxide nanoparticles and plant growth promoting bacteria reduces genetic impairment under salt stress in tomato (Solanum lycopersicum L. 'Linda')*. *Agriculture*, 10(11), 521, <https://doi.org/10.3390/agriculture10110521>.
- Hug, L. A., Castle, C. J., Wrighton, K. C., Thomas, B. C., Sharon, I., Frischkorn, K. R., y Banfield, J. F. (2013). *Community genomic analyses constrain the distribution of metabolic traits across the Chloroflexi phylum and indicate roles in sediment carbon cycling*. *The ISME Journal*, 7(2), 339–351.
- Iravani, S. (2011). *Green synthesis of metal nanoparticles using plants*. *Green Chemistry*, 13, 2638–2650.
- Janaki, K., Sailatha, E., & Gunasekaran, S. (2015). *Synthesis, characterization and optical properties of Fe doped ZnO nanoparticles*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 512–520. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.08.122>.
- Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B. Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L. y Weinstock, G. M. (2019). *Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species- and strain-level microbiome analysis*. *Nature Communications*, 10, 5029. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>.
- Kah, M., Kookana, R., Gogos, A. y Bucheli, T. (2018). *A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues*. <https://doi.org/10.1038/s41565-018-0131-1>.

- Keller, A. A., McFerran, S., Lazareva, A., & Suh, S. (2013). *Global life cycle releases of engineered nanomaterials*. *Journal of Nanoparticle Research*, 15, 1692.
- Kołodziejczak-Radzimska, A., & Jesionowski, T. (2014). *Zinc oxide—from synthesis to application*. *Materials*, 7(4), 2833–2881., <https://doi.org/10.3390/ma7042833>.
- Kumari, A., Yadav, S., Y Yadav, S. (2010). *Biodegradable polymeric nanoparticles-based drug delivery systems*. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.09.001>.
- Kuznetsova, X. A., Dodueva, I. E., y Lutova, L. A. (2024). *Radish (*Raphanus sativus* L.) as an object of Agrobacterium-mediated transformation*. *Ecological Genetics*, 22(4), 413–422.
- Lahiani, M. H., Dervishi, E., Chen, J., Nima, Z., Gaume, A., Biris, A. S., Y Khodakovskaya, M. (2013). *Impact of Carbon Nanotube Exposure to Seeds of Valuable Crops*. *ACS Applied Materials & Interfaces*. <https://doi.org/10.1021/am402052x>.
- Lee, S., Sunghyun, K. y Insook, L. (2012). *Effects of Soil-Plant Interactive System on Response to Exposure to ZnO Nanoparticles*. *J. Microbiol. Biotechnol*, 22(9), 1264–1270. [doi.org/10.4014/jmb.1203.03004](https://doi.org/10.4014/jmb.1203.03004).
- Li, J., Wu, Q., & Wu, J. (2016). *Synthesis of Nanoparticles via Solvothermal and Hydrothermal Methods*. *Handbook of Nanoparticles*. Aliofkhaezrai, M. (Ed.). Springer International Publishing, 1-28. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-15338-4\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-319-15338-4_17).
- Lim, J., Yeap, S. P., Che, H. X., & Low, S. C. (2013). *Characterization of magnetic nanoparticle by dynamic light scattering*. *Nanoscale Research Letters*, 8, 381. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-38>.
- 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>.
- Lithi, I. J., Nakib, K. I. A., Chowdhury, A. M. S., & Hossain, M. S. (2025). *A review on the green synthesis of metal (Ag, Cu, and Au) and metal oxide (ZnO, MgO, Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, and TiO<sub>2</sub>) nanoparticles using plant extracts for developing antimicrobial properties*. *Nanoscale Advances*, 7, 2446–2473, <https://doi.org/10.1039/D5NA00037H>.
- Lu, K., Wu, L., Liao, L., T. y Chen, W. (2020) *Uptake of graphene enhanced the photophosphorylation performed by chloroplasts in rice plants*. *Nano Research*, 13: 3198-3205.
- Luche, S., Eymard-Vernain, E., Diemer, H., Van Dorselaer, A., Rabilloud, T., & Lelong, C. (2018). *Zinc oxide induces the stringent response and major reorientations in the central metabolism of *Bacillus subtilis**. *Scientific Reports*, 8, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20149-2>.
- Magdaleno-García, G., Juárez-Maldonado, A., Betancourt-Galindo, R., González-Morales, S., Cabrera-De La Fuente, M., Sánchez-Vega, M. y Méndez-Lopez, A. (2023). *Zinc oxide nanoparticle morphology modify germination and early growth of bell pepper seedlings*. *Biotecnia* vol.25 no.3, <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i3.1908>.
- Mahapatra, S., Choudhury, B., & Choudhury, A. (2011). *Synthesis of ZnO nanoparticles by precipitation method and study on its structural and optical properties*. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 22(9), 925–930. <https://doi.org/10.1007/s10854-010-0224-x>.
- Mejías Sánchez, Y., Cabrera Cruz, N., Toledo Fernández, A.M., Y Duany Machado, O.J. (2009). *La nanotecnología y sus posibilidades de aplicación en el campo científico-tecnológico*. *Revista Cubana de Salud Pública*, 35(3): 1-9.

- Meli, K.; Kamika, I.; Keshri, J.; Momba, M.N.B. (2016). *The impact of zinc oxide nanoparticles on the bacterial microbiome of activated sludge systems*. *Sci. Rep.* 6, 39176.
- Mendes, C.R., Dilarri, G., Forsan, C.F., De Moraes, V., Matos, P., Bueno de Moraes, P., Nalling, R., Ferreira, & H. Dino, E. (2022). *Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens*. *Sci Rep* 12, 2658. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06657-y>.
- Miguel-Rojas, C. y Pérez-de-Luque, A. (2023). *Nanobiosensors and nanoformulation in agricultura: New advances and challenges for sustainable agriculture*. *Emerging Topics in Life Sciences*, 7(2):229-238.
- Mohamed Salah Sheteiwy, Oghenerume, P., Eduok, S, Ita, B., Ofonime, J. Y Bassey, I. (2020). *Influence of Zinc Oxide Nanoparticles on Soil Physicochemical Properties and Arachishy pogeia Rhizosphere Microbial Community*. *International Journal of Plant & Soil Science*. 3 2(8): 88-100, 2020; Article no.IJPSS.59974.
- Pérez-Muñoz, B., Cruz-López, V., Rosas-Díaz, J., & Cruz-Martínez, H. (2025). Evaluación de nanopartículas de óxido de zinc sobre la germinación y crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*). *Revista Ciencia e Innovación Agroalimentaria*, 6, Art. 141. <https://doi.org/10.15174/cia.v6i6.141>.
- Pielou, E. C. (1966). *The measurement of diversity in different types of biological collections*.
- Preston, G.M. (2004). *Plant perceptions of plant growth-promoting Pseudomonas*. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci*, 359, 907–918.
- Quast, C. (2013). *The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools*. *Nucleic Acids Res.* 41, D590–D596.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., & Glöckner, F. O. (2012). *The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools*. *Nucleic acids research*, 41(D1), D590-D596.
- Quintili, M. (2012). Nanociencia y Nanotecnología... un mundo pequeño. *Cuadernos del Centro de Estudios en Diseño y Comunicación. Ensayos*, (42), 125-155.
- Sabir, S., Arshad, M., & Chaudhari, S. K. (2014). *Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 34(4), 302–315, doi: 10.1155/2014/925494.
- Sahai, A., & Goswami, N. (2011). *Structural and optical investigations on transition metal doped ZnO nanoparticles*. *Physica B: Condensed Matter*, 406(5), 987–993. <https://doi.org/10.1016/j.physb.2010.12.032>.
- Sekmen, A., Gokce, A., Erdik, E., Cetilel, B. y Cetinkaya, N. (2021). *The Effect of Trichoderma citrinoviride Treatment under Salinity Combined to Rhizoctonia solani Infection in Strawberry (Fragaria x ananassa Duch.)* *Agronomy* , 11(8), 1589; <https://doi.org/10.3390/agronomy11081589>.
- Shannon, C. E. (1948). *A mathematical theory of communication*. *The Bell system technical journal*, 27(3), 379-423.
- Sheteiwy, M., Shaghaleh, H., Alhaj, Y., Holford, P., Shao, H., Qi, Q., Zaffar, M. y Wu, Tianow. (2021). *Zinc oxide nanoparticles: potencial effects on soil properties, crop produccion, food processing, and food quality*. *Environmental Science and Pollution Research*,
- Strekalovskaya, E., Perfilova, A. y Krutovsky K. (2024). *Zinc oxide nanoparticles in the “soil–bacterial community–plant” system: Impact on the stability of soil ecosystems*. *Agronomy*, 14(7), 1588. <https://doi.org/10.3390/agronomy14071588>.

- Suchanek, WL y Riman, RE (2006). *Hydrothermal Synthesis of Advanced Ceramic Powders*, 45, 184–193. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/ast.45.184>.
- Suresh, D., Nethravathi, P. C., Udayabhanu, & Nagabhushana, H. (2015). *EGCG-assisted green synthesis of ZnO nanoparticles and their photoluminescence, antibacterial and antioxidant activities*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 1463–1471. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.10.054>.
- Tripathi, D. K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D. K., Y Dubey, N. K. (2018). *Nanomaterials in Plants, Algae and Microorganisms: Concepts and Controversies: Volume 2*. Academic Press.
- Usman, M., Farooq, M., Wakeel, A., Nawaz, A., Cheema, S.A. y Sanaullah, M. (2020) *Nanotechnology in agriculture; Current status, challenges, and future opportunities*. *Science of the Total Environment*, 721, artículo 137778.
- Vallejos, S., Pířurov, N., Gracia, I., Sotelo-Vazquez, C., echal, J., Blackman, C., Parkin, I., & Can, C. (2016). *ZnO rods with exposed {100} facets grown via a self-catalyzed vapor–solid mechanism and their photocatalytic and gas sensing properties*. *Applied materials and interfaces*, volume 4, <https://doi.org/10.1021/acsami.6b12992>.
- Velsquez, C. L., Khatib, S. K., Y Gonzlez, F. L. (2015). *Nanoprculas: fundamentos y aplicaciones*.
- Wang, R., Gao, L., & Chen, Y. (2013). *A simple route to synthesize flower-like ZnO nanostructures and their photocatalytic performance*. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 16(4), 1037–1043. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2013.02.001>.
- Wang, S., Fang, R., Yuan, X., Chen, J., Mi, K., Wang, R., Zhang, H. y Zhang, H. (2023). *Foliar spraying of ZnO nanoparticles enhanced the yield, quality, and enrichment of rice grains*. PubMed.
- Wu, Y., Rong, X., Zhang, C., Zhang, R., He, T., Yu, Y., Zhao, Z., Yang, J., & Han, R. (2020). *Response of the intertidal microbial community structure and metabolic profiles to zinc oxide nanoparticle exposure*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(7), 2253, <https://doi.org/10.3390/ijerph17072253>.
- Yonggang, G. & Mohammadamin, M.(2025).*Cutting-edge nanotechnology: unveiling the role of zinc oxide nanoparticles in combating deadly gastrointestinal tumors*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2025.1547757>.
- Zhang, H., Zheng, T., Wang, Y., Ting y Chi. Q. (2024). *Multifaceted impacts of nanoparticles on plant nutrient absorption and soil microbial communities*. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1497006, <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1497006>.