



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**RESPUESTA AGRONÓMICA, FISIOLÓGICA Y BIOQUÍMICA
EN FRIJOL EJOTERO A LA APLICACIÓN FOLIAR DE
SILICIO**

Por:

Julio César Anchondo Páez

TESIS APROBADA POR LA


COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS HORTOFRUTÍCOLAS Y
LÁCTEOS

Como requisito parcial para obtener el grado de


MAESTRO EN CIENCIAS

APROBACIÓN


Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Julio César Anchondo Páez la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.




Dr. Esteban Sánchez Chávez
Director de tesis



Dra. Damaris Leopoldina Ojeda Barrios
Co-Directora de tesis



Dra. Celia Chávez Mendoza
Integrante del comité de tesis



Dr. Ezequiel Muñoz Márquez
Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Respuestas Agronómica, Fisiológica y Bioquímica en Frijol Ejotero a la Aplicación Foliar de Silicio" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Julio César Anchando Páez, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Graciela Caire Juvera", written over a horizontal line.

Dra. Graciela Caire Juvera
Directora General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnología, (CONAHCYT) por el apoyo económico otorgado en el programa nacional de becas de posgrado con la clave CVU No. 1152251.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD, A.C.) por el apoyo proporcionado a través de sus instalaciones, profesores e investigadores.

Al Dr. Esteban Sánchez Chávez, por sus acertados comentarios como director de tesis, necesarios para llevar a cabo esta investigación.

A mi comité de tesis integrado por la Dra. Damaris Leopoldina Ojeda Barrios, la Dra. Celia Chávez Mendoza y el M.C. Ezequiel Muñoz Márquez, por sus aportaciones, así como consejos y sugerencias para mejorar mi proyecto de tesis.

Al equipo de trabajo del laboratorio de Fisiología y Nutrición vegetal, por los consejos, enseñanzas y paciencia para la realización de mi proyecto de tesis

A mis padres, hermano y amigos por alentarme a continuar mis estudios y por su apoyo a lo largo de la maestría.

DEDICATORIA

A mis padres, Rosa y José Álvaro, por sus valiosas enseñanzas, consejos y ética de trabajo

A mi hermano, Edgar Alejandro, por su apoyo inquebrantable

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
CONTENIDO	6
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE CUADROS	9
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. ANTECEDENTES	13
2.1. El Silicio en el Metabolismo de las Plantas	13
2.2. Nanopartículas de Dióxido de Silicio	14
2.3. Bioestimulante a base de Silicio Codasil®	15
3. HIPÓTESIS	16
4. OBJETIVOS	17
4.1. Objetivo General	17
4.2. Objetivos Específicos	17
5. MATERIALES Y MÉTODOS	18
5.1. Manejo del Cultivo	18
5.2. Diseño Experimental y Tratamientos	18
5.2.1 Caracterización de los Productos de Silicio Utilizados	19
5.3. Muestreo Vegetal	20
5.4. Análisis Vegetal	20
5.4.1 Biomasa Total, Foliar, Radicular y del Tallo	20
5.4.2 Rendimiento	20
5.4.3 Actividad Enzimática de la Nitrato Reductasa “ <i>In Vivo</i> ”	20
5.4.4. Cuantificación de Aminoácidos Solubles	21
5.4.5. Cuantificación de Proteínas Solubles	22
5.4.6. Pigmentos Fotosintéticos	22
5.4.7. Índice de Clorofila	23
5.4.8 Intercambio Gaseoso (Actividad Fotosintética, Conductancia Estomática, Fluorescencia de la Clorofila, Tasa de Transpiración)	23
5.4.9 Determinación de la Concentración de Si	23
5.4.10 Patrón de Distribución de Si (Hoja, Tallo, Fruto y Raíz)	24
5.5. Análisis estadístico	24

CONTENIDO (Continuación)

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
6.1 Biomasa.....	25
6.1.1 Biomasa Total, Radicular, Foliar y del Tallo	25
6.2 Rendimiento	27
6.3 Actividad Enzimática de la Nitrato Reductasa “ <i>in vivo</i> ”	28
6.4 Aminoácidos Solubles.....	30
6.5 Proteínas Solubles	31
6.6 Pigmentos Fotosintéticos	32
6.7 Índice de Clorofila.....	33
6.8 Intercambio Gaseoso	34
6.8.1 Actividad Fotosintética.....	34
6.8.2 Conductancia Estomática	35
6.8.3 Tasa de Transpiración.....	37
6.8.4 Fluorescencia de la Clorofila.....	38
6.9 Patrón de Distribución de Si Foliar, del Tallo, Radicular y del Fruto.....	39
7. CONCLUSIONES	41
8. RECOMENDACIONES	42
9. REFERENCIAS.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la biomasa total, radicular, foliar y del tallo en peso seco por planta en frijol ejotero cv. Strike.....	27
2. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre el rendimiento en frijol ejotero cv. Strike.....	28
3. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la actividad enzimática de la nitrato reductasa en frijol ejotero cv. Strike	29
4. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la concentración de aminoácidos solubles en frijol ejotero cv.Strike.....	31
5. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la concentración de proteínas solubles en frijol ejotero cv. Strike.....	32
6. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la concentración de pigmentos fotosintéticos en frijol cv. Strike.....	33
7. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre el índice de clorofila en frijol ejotero cv. Strike.....	34
8. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la actividad fotosintética en frijol ejotero cv. Strike.....	35
9. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la conductancia estomática en frijol ejotero cv. Strike.....	36
10. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la tasa de transpiración en frijol ejotero cv. Strike.....	37
11. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre fluorescencia de la clorofila en frijol ejotero cv. Strike.....	39
12. Patrón de distribución de silicio en hoja, tallo, fruto y raíz en frijol ejotero cv. Strike.....	40

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Descripción de tratamientos utilizados en las plantas de frijol ejotero cv. Strike.....	19
2. Composición química de las nano partículas de SiO ₂ y el bioestimulante Codasil® aplicadas en las plantas de frijol ejotero cv. Strike	19

RESUMEN

Actualmente, el crecimiento y productividad de los cultivos se ven afectados por diversos factores y estrés abiótico tales como: la sequía, temperatura, salinidad y deficiencia de nutrientes. En el caso del Silicio (Si) juega un papel importante en mitigar el estrés abiótico. Por consiguiente, en los últimos años han surgido propuestas innovadoras para el abastecimiento de silicio, destacando la aplicación de nanopartículas de silicio debido a sus propiedades fisicoquímicas que facilitan su absorción por parte de la planta y tienen una función como bioestimulante. Por lo que, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la eficacia de la aplicación de nanopartículas de silicio y Codasil® sobre la biomasa, rendimiento, actividad de la enzima nitrato reductasa, concentración de aminoácidos solubles, concentración de proteínas solubles e intercambio gaseoso (actividad fotosintética, conductancia estomática, fluorescencia y tasa de transpiración) en frijol ejotero cv. Strike. El estudio fue realizado bajo condiciones de malla sombra en Delicias, Chihuahua durante el periodo agosto-octubre de 2022. Se empleó un diseño experimental completamente al azar, con dos fuentes de silicio: nanopartículas de dióxido de silicio (SiO₂) y el bioestimulante Codasil® a dosis de 0, 1, 2, y 4 mM, aplicados semanalmente vía foliar. Los resultados obtenidos indican que el tratamiento de nanopartículas de silicio a 1 mM mejoró la biomasa total, foliar y radicular, el rendimiento y la actividad fotosintética; mientras que el Codasil a 1 mM mejoró la biomasa del tallo, el metabolismo nitrogenado, la fluorescencia de la clorofila y redujo la transpiración. Finalmente, se concluye que la aplicación foliar de silicio a dosis bajas (1 mM) puede usarse como un bioestimulante para mejorar el crecimiento y el rendimiento del frijol ejotero cv. Strike libre de estrés .

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris* L., silicio, Codasil, nanotecnología.

ABSTRACT

Crop growth and productivity worldwide are limited by different abiotic stress, which include high temperatures, salinity, drought and nutrient deficiencies. Silicon plays an important role in mitigating abiotic stress. Therefore, in recent years innovative ways for silicon supply have been proposed, where silicon nanoparticles have gained importance due to their physicochemical properties, which allow a better absorption and function as a biostimulant. Hence, the aim of the current investigation was to evaluate the efficiency of silicon nanoparticles and Codasil® on biomass, yield, nitrate reductase enzymatic activity, soluble amino acids contents, soluble protein content and gas exchange parameters (photosynthetic activity, stomatal conductance, chlorophyll fluorescence and transpiration rates) of green beans. This study was realized under shade mesh conditions in Delicias, Chihuahua during august-october of 2022. A completely randomized arrangement was used, with two silicon sources: silicon dioxide nanoparticles (SiO₂) and the biostimulant Codasil® at 1, 2 and 4 mM doses, which were weekly applied through the leaves. The results obtained indicate that the silicon nanoparticles treatment at 1 mM dose improved leaf, root and total biomass, yield and photosynthetic activity; while the Codasil® at 1 mM enhanced chlorophyll fluorescence, aminoacid and protein contents, stem biomass and reduced transpiration rates. Thus, foliar application of silicon at low doses (1 mM) can be used as a biostimulant to increase growth and development of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Strike under stress free conditions.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris* L., silicon, Codasil, nanotechnology

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el crecimiento y productividad de los cultivos a nivel mundial se ha visto limitado por factores de estrés abiótico, lo que provoca inseguridad alimentaria (Del Buono, 2021). Ejemplos de estrés abiótico incluyen la temperatura, salinidad, sequía y deficiencia de nutrientes. Como la acumulación de biomasa y su distribución dentro de las plantas son determinantes no solo para asegurar su supervivencia y competitividad, sino también para obtener buenos rendimientos en los cultivos, una deficiencia nutricional puede traer consecuencias negativas para la producción de biomasa y rendimiento (Flores-López *et al.*, 2020). Si bien no es considerado un elemento esencial para la nutrición vegetal, la deficiencia de silicio (Si) pudiera traer consecuencias negativas para el crecimiento de las plantas especialmente bajo condiciones de estrés debido a su capacidad para aminorar efectos negativos (Pavlovic *et al.*, 2021). Debido a estos beneficios, existe un interés creciente para la utilización de Si para mejorar la producción de los cultivos, con distintas alternativas disponibles para su aplicación.

En ese sentido, el uso de nanopartículas cada vez está ganando mayor importancia porque contribuye al desarrollo de nuevas estrategias sustentables para el crecimiento de los cultivos, gracias a su menor tamaño (10-100 nm), mayor solubilidad y reactividad de la superficie (Qados y Moftah, 2015; Fraceto *et al.*, 2016). El empleo de nanopartículas de Si (NanoSi) ha sido documentado en distintos cultivos, donde el abastecimiento de NanoSi promovió el crecimiento vegetal al acumularse dentro de la planta, así como, generar señales bioquímicas para provocar cambios metabólicos en el sistema antioxidante, en el aparato fotosintético y en la asimilación de nitrógeno (Luyckx *et al.*, 2017). En general, la información de los mecanismos de acción de la aplicación de NanoSi es limitada, ya que los efectos de NanoSi son dependientes de la especie vegetal y se desconocen ciertos aspectos de la interacción del silicio con la planta (Le *et al.*, 2014). Por consiguiente, el objetivo de la presente investigación fue estudiar la eficacia de la aplicación de NanoSi y el Codasil® a base de Si como posibles bioestimulantes que mejoran la acumulación de biomasa, rendimiento, actividad fotosintética y tasa de transpiración en el cultivo del frijol ejotero cv Strike.

2. ANTECEDENTES

2.1. El Silicio en el Metabolismo de las Plantas

El ácido mono silícico (MSA) es la principal forma de silicio (Si) disponible para las plantas, donde la concentración de Si depende de la especie vegetal, variando entre 0.1 a 10% del peso seco de la planta (Mitra, 2015). Takahasi *et al.* (1990) clasificaron a las distintas especies vegetales de acuerdo con su contenido de Si: acumuladores, con una concentración de Si superior al 1.0%, intermedios, con la concentración de Si entre el 0.5% y el 1.0%, y las especies que excluyen al Si con contenidos menores al 0.5%. En consecuencia, algunas especies vegetales son afectadas en menor manera por la fertilización de Si en comparación con otras especies (Coskun *et al.*, 2019). Estas diferencias podrían ser explicadas por la expresión y funcionalidad de los transportadores de Si en las especies vegetales.

Como se mencionó anteriormente, la absorción de Si es dependiente de la especie y de los transportadores de Si. Por ejemplo, en las monocotiledóneas esta absorción es un proceso activo. Se ha demostrado en arroz que la carga y movilización del Si es a través de transportadores como LSi1 que es una canal permeable al Si y transportadores de eflujos (Yamaji *et al.*, 2012; Mitra, 2015). En el caso de las dicotiledóneas, la absorción de MSA es realizada por el proceso de difusión, lo que resulta en concentraciones menores de MSA, especialmente al ser comparados con las monocotiledóneas. Después de ser absorbido y cargado al flujo del xilema, el MSA es traslocado dentro de la planta, depositándose en el lumen, paredes celulares y espacios intercelulares como SiO₂ (Hodson y Evans, 2020). Tal es el caso de la acumulación de Si en la epidermis de la hoja (Sangster *et al.*, 2001).

Una concentración suficiente de MSA en la planta es importante porque el Si proporciona muchos efectos benéficos para las plantas en distintos factores: la fuerza estructural, juega un rol activo en varios procesos fisiológicos, regula la absorción de otros nutrientes, ayuda al crecimiento y desarrollo especialmente en condiciones de estrés abiótico como la sequía, salinidad y altas temperaturas (Savvas y Ntasi, 2015) así como, en el estrés biótico al estimular los mecanismos de defensa y disminuir los daños provocados por insectos y/o roedores al fortificar la planta (Mitra,

2015). Una deficiencia de Si provoca un debilitamiento de la estructura necesaria para el soporte de la planta, así como, perjudica su crecimiento desarrollo y reproducción. Además, la vuelve más susceptible al estrés biótico y abiótico (Laane, 2018). Los beneficios mencionados anteriormente han sido reportados en pepino con déficit hídrico y estrés salino, donde la aplicación de nanopartículas de Si incrementó el tamaño de la planta, así como la cantidad de clorofila y el rendimiento al regular la pérdida de agua a través del control de la apertura estomática debido a la acumulación de Si en dicho órgano (Alsaeedi *et al.*, 2019). Además, el proceso de absorción de nutrientes fue eficientizado para adquirir en mayor cantidad elementos como el potasio, que tiene un papel clave en la tolerancia al estrés abiótico al mantener la homeostasis de iones y el balance iónico (Ul-Allah *et al.*, 2020). De manera similar, la aplicación de Si en plantas de trigo estresadas por calor disminuyeron el daño al crecimiento y desarrollo de la planta, al proteger los pigmentos fotosintéticos de las especies reactivas de oxígeno (EROS) por la regulación del sistema antioxidante y manteniendo el balance iónico y osmótico, compensando la pérdida de rendimiento por la alta temperatura (Mustafa *et al.*, 2021)

2.2. Nanopartículas de Dióxido de Silicio

Las propiedades únicas de los nanomateriales han atraído una atención considerable en la agricultura y seguridad ambiental (Bhat *et al.*, 2021). Por ejemplo, las propiedades fisicoquímicas de las NanoSi son debidos a su menor tamaño (10-100 nm), alta tasa de superficie/peso, alta reactividad de su superficie y su estructura (Qados y Moftah, 2015). Estas propiedades permiten a las NanoSi pasar fácilmente a través de los estomas y poros de la pared celular, afectando el crecimiento y desarrollo de la planta al influenciar diversos procesos metabólicos dentro de la misma, permitiendo aminorar efectos negativos como el estrés abiótico y biótico (Rastogi *et al.*, 2019). Por consiguiente, las NanoSi tienen el potencial para mejorar los cultivos al actuar como pesticidas, herbicidas, fertilizantes, retención de agua y como un medio para entregar diversas macromoléculas como proteínas y nucleótidos y también agroquímicos (Nair *et al.*, 2010; Ghanbari y Ariafar, 2013; Jammohammadi *et al.*, 2016; Magda y Hussein, 2016).

2.3. Bioestimulante a Base de Silicio Codasil®

Los bioestimulantes en plantas son definidos como productos obtenidos de diferentes sustancias orgánicas o inorgánicas, así como, microorganismos y que son capaces de estimular el crecimiento vegetativo, productividad y aminorar los efectos negativos del estrés abiótico (Du Jardin, 2015). Específicamente, elementos minerales (Si), vitaminas, aminoácidos, oligosacáridos, y cantidades traza de hormonas vegetales son las sustancias más comunes utilizados en la composición de los bioestimulantes (Bulgari *et al.*, 2019). La efectividad de los bioestimulantes es debido a su habilidad de inducir respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas para estimular una mayor producción y resistencia al estrés (Povero *et al.*, 2016). En consecuencia, el uso de bioestimulantes es considerado una herramienta agronómica innovadora que cada día está acaparando mayor interés, gracias a su capacidad de aumentar la producción agrícola, lo que permite disminuir el uso de agroquímicos de forma significativa (Rouphael y Colla, 2020). Efectivamente, un factor clave de los bioestimulantes es que son usados en pequeñas cantidades con efectos significativos en los cultivos, lo que también los diferencia de los fertilizantes y otros agroquímicos (Puglia *et al.*, 2021).

3. HIPÓTESIS

Las dosis bajas de nanopartículas de dióxido de Silicio son más efectivas que el bioestimulante Codasil® sobre los parámetros agronómicos, fisiológicos y bioquímicos.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

- Estudiar los efectos de la aplicación vía foliar de silicio sobre las variables agronómicas (biomasa total, radicular, foliar, del tallo y rendimiento del cultivo), fisiológicas (actividad fotosintética, conductancia estomática, transpiración y fluorescencia de la clorofila) y bioquímicas (actividad nitrato reductasa, concentración de proteínas y aminoácidos) del frijol ejotero cv. Strike

4.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de la aplicación nanopartículas de Si y del bioestimulante Codasil® del frijol ejotero cv. Strike en:
 - a) La biomasa y rendimiento
 - b) El intercambio de gases (fotosíntesis, conductancia estomática, fluorescencia y tasa de transpiración) y los pigmentos fotosintéticos y valores SPAD.
 - c) La actividad de la nitrato reductasa, y la concentración de proteínas y aminoácidos.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Manejo del Cultivo

El experimento fue establecido bajo condiciones de malla sombra en Cd. Delicias, Chihuahua (28°11' 36" N, 105° 28' 16" W) durante el periodo de agosto - octubre del 2022. Las semillas utilizadas fueron de frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Strike, las cuales se sembraron en macetas de plástico de 13.4 L de capacidad rellenas con mezcla de sustrato de vermiculita y perlita en una proporción de 2:1 p/p (dos plantas por maceta). La solución nutritiva utilizada fue la de Hoagland modificada por Sánchez *et al.* (2004) para la irrigación de las plantas, la cual está compuesta por 6 mM NH₄NO₃, 1.6 mM K₂HPO₄, 0.3 mM K₂SO₄, 4 mM CaCl₂, 1.4 mM MgSO₄, 5 μM Fe-EDDHA, 2 μM MnSO₄, 0.25 μM CuSO₄ y 0.5 μM H₃BO₃, preparada con agua destilada con un pH de 6.0-6.1 y con conductividad eléctrica de 2 dS m⁻¹. Esta solución fue aplicada a un volumen de 0.5 L por maceta cada tercer día hasta los 30 días después de la germinación del cultivo, donde posteriormente se aplicó un L de solución cada tercer día hasta la cosecha (60 días después de la germinación del cultivo). Los tratamientos fueron asperjados al azar foliarmente a partir de la aparición de las primeras hojas verdaderas, cada siete días en horario vespertino durante un periodo de dos meses.

5.2. Diseño Experimental y Tratamientos

Se utilizó un diseño completamente al azar o de un solo factor (fuente de Si) y 7 tratamientos o niveles que consistieron en la aplicación de las dosis de nanopartículas de silicio (NanoSi) y Codasil al 0, 1, 2 y 4 mM (Cuadro 1). Todos los tratamientos fueron aplicados al azar semanalmente a través de números aleatorios generados en Excel. La unidad experimental fueron dos plantas de frijol por maceta y se utilizaron 6 repeticiones por tratamiento. Las corridas experimentales en el laboratorio también se realizaron de manera aleatoria para cumplir con el supuesto de independencia de los datos.

Cuadro 1. Descripción de tratamientos aplicados en las plantas de frijol ejotero cv. Strike

Tratamiento	Dosis de Silicio aplicado (mM)	Código
Control	0	Control
NanoSiO ₂ + KNO ₃	1	NanoSi1
NanoSiO ₂ + KNO ₃	2	NanoSi2
NanoSiO ₂ + KNO ₃	4	NanoSi4
Codasil®	1	Codasil1
Codasil®	2	Codasil2
Codasil®	4	Codasil4

El modelo estadístico esgrimido es el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \xi_{ij}$$

y_{ij} = observación del i-esimo tratamiento y de la j-esima repetición $i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$ y $j = 1, 2, 3, 4, 5, 6$

μ = media global

τ_i = efecto del tratamiento i-esimo $i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$

ξ_{ij} = Componente del error aleatorio asociado al tratamiento i y la repetición j

5.2.1 Caracterización de los Productos de Silicio Utilizados

A continuación, se describe la composición química de los productos utilizados como fuente de Si en este experimento (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición química de las nanopartículas de SiO₂ y el bioestimulante Codasil® aplicadas en las plantas de frijol ejotero cv. Strike.

Producto de Silicio utilizado	Composición química
Nanopartículas de SiO ₂ + 1 mM de KNO ₃	Tamaño promedio de 70-90 nm Peso Molecular de 60.08 g mol ⁻¹ Densidad: 2.648 g cm ⁻³
Codasil®	SiO ₂ (26.1% p/v) K ₂ O (14.6% p/v). Aminoácidos libres (5.2% p/v).

5.3 Muestreo Vegetal

Las plantas fueron muestreadas al azar para análisis a los 60 días después de la germinación, cuando lograron la madurez fisiológica. Las plantas fueron divididas en hojas, raíz, tallos y frutos para posteriormente ser lavadas con agua corriente y con agua destilada dos veces. Acto seguido, las muestras fueron secadas totalmente para cuantificar su peso

5.4 Análisis Vegetal

5.4.1 Biomasa Total, Foliar, Radicular y del Tallo

La biomasa de cada una de las partes fue evaluada tomando en cuenta las hojas, raíz y tallo de las plantas de frijol. Se utilizó una balanza analítica (AND HR-120, San José, California, USA) para cuantificar el peso y se expresó en gramos planta⁻¹ peso seco (g planta⁻¹ p.s.)

5.4.2 Rendimiento

El rendimiento de la planta se expresó como el promedio del peso de los frutos por planta y se cuantificó en gramos planta⁻¹ peso fresco (g planta⁻¹ p.f.)

5.4.3 Actividad Enzimática de la Nitrato Reductasa “*In Vivo*”

La actividad de la enzima nitrato reductasa (NR) “*in vivo*” (EC 1.6.6.1) se determinó mediante la adaptación de la metodología propuesta por Sánchez *et al.* (2004) y Maurino (1986). Se obtuvieron taleolas de 7 mm de diámetro del limbo foliar del material fresco, pesando entre 0.125-

0.150 g, colocándose en 10 mL del medio de filtración consistente en buffer de fosfato potásico (100 mM, pH 7.5 y propanol al 1% v/v). Posteriormente, las muestras fueron sometidas a un proceso de vacío (0.8 bar) por 10 minutos y en oscuridad. Pasado este tiempo, las muestras se incubaron a 30° C nuevamente en la oscuridad durante 1 h. Después, las muestras fueron sumergidas en un baño de agua a 100° C por 15 min, con el fin de detener la actividad de NR. La determinación de la actividad NR fue realizada con 1 mL de alícuota, 2 mL de sulfanilamida al 1% disuelta en HCl 1.5 M (1 g de sulfanilamida + 20 mL de HCl al 35% disuelto en 100 mL de agua) y 2 mL de NNEDA (N-1-naftil-etilendiamida) al 0.02% disuelta en HCl 0.2 N (20 g de NNEDA disueltos en 100 mL de HCl 0.2 N). Acto seguido, y tras 20 min, las lecturas de las absorbancias fueron realizadas a 540 nm, frente a una curva patrón de NO_2^- entre 0.025-2 $\mu\text{g mL}^{-1}$, a través del método propuesto por Hagelman y Hucklesby (1971). La actividad NR se expresó como $\mu\text{mol de NO}_2^- \text{ formados por g. p.f.}^{-1} * \text{h}^{-1}$

5.4.4. Cuantificación de Aminoácidos Solubles

Para la determinación de aminoácidos se utilizó el método propuesto por Yemm y Cocking (1995) con el reactivo de ninhidrina con ligeras modificaciones. Se pesó aproximadamente 0.5 g de material vegetal y se homogenizó con 5 mL de tampón fosfato 50 mM pH 7.0. El homogenizado se filtró con una malla y posteriormente se centrifugó a 12360 g durante 15 min. El sobrenadante fue utilizado para la cuantificación de los aminoácidos y proteínas solubles. Posteriormente, en un tubo de ensayo se pusieron 100 μL de sobrenadante y se le agregó 1.5 mL del reactivo de ninhidrina. La mezcla se introdujo en un baño maría a 100°C durante 20 min. Se preparó una curva de glicina (de la misma manera que la muestra). Transcurridos los 20 min, se pasaron las muestras y la curva de glicina a un recipiente con hielo. A continuación, se le añadieron 8 mL de propanol al 50% a cada uno de los tubos con muestra y a los tubos de la curva y se dejaron reposando por 30 min. Posteriormente, se procedió a su lectura a una longitud de onda de 570 nm, frente a la curva patrón de glicina. La concentración de aminoácidos y proteínas solubles se expresaron como mg g^{-1} de peso fresco.

5.4.5. Cuantificación de Proteínas Solubles

Las proteínas solubles se determinaron después del homogenizado de 0.5 g de muestra fresca en tampón KH₂PO frío 50 mM a pH 7 y centrifugación de 12360 g, a 4°C durante 15 min. El sobrenadante también se utilizó para la determinación de aminoácidos. El método que se utilizó fue el propuesto por Bradford (1976). Se tomó 1 mL de reactivo de Bradford en un tubo de ensayo y se agregaron 20 µL de albumina de bovino (BSA) de cada uno de los tubos con concentración conocida, correspondientes a cada punto de la curva. Posteriormente, se leyó a una absorbancia de 595 nm frente a la curva patrón. Las proteínas solubles se expresaron como mg g⁻¹ de peso fresco.

5.4.6. Pigmentos Fotosintéticos

Se utilizó el método descrito por Wellburn (1994), basándose en un método colorimétrico, extrayendo los pigmentos del material vegetal mediante un agente químico. Las concentraciones de pigmentos fotosintéticos se expresaron en mg g⁻¹ de peso fresco y se calcularon siguiendo las siguientes fórmulas:

$$Chl a = [15.65(A666) - 7.34 (A653)] \dots [1]$$

$$Chl b = [27.05 (A653) - 11.21 (A666)] \dots [2]$$

$$Carotenos = [(1000 * A470) - 2.86 (Chl a) - 129.2 (Chl b)] / 221 \dots [3]$$

Donde:

Chl a = Clorofila a *A666*= absorbancia a 666 nm *A470*= absorbancia a 470 nm

Chl b = Clorofila b *A653*= absorbancia a 653 nm

5.4.7. Índice de Clorofila

Se cuantificó mediante un método no destructivo, utilizando el lector de clorofila Minolta SPAD 502 (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japón), que puede medir la clorofila sin provocar daños en las hojas. La lectura se consigue proyectando un haz de luz a través de una hoja. Se realizaron cuatro mediciones por planta para un total de 24 lecturas por tratamiento, efectuando las mediciones en partes sin nervaduras. Los resultados se expresaron en unidades SPAD (Shrestha *et al.*, 2012).

5.4.8 Intercambio Gaseoso (Actividad Fotosintética, Conductancia Estomática, Fluorescencia de la Clorofila, Tasa de Transpiración)

Las lecturas de las variables de intercambio gaseoso fueron realizadas con un medidor portátil LICOR 6400 en cada planta, escogiendo hojas sanas y libres de daño. Una concentración 400 $\mu\text{mol/mol}$ de CO_2 fue utilizada para la celda de referencia, mientras que una concentración de 380 $\mu\text{mol/mol}$ de CO_2 fue usada para la celda de muestra. El déficit de presión de vapor del aire en la cámara de muestreo fue menor a 1.5 kPa y la temperatura del bloque que almacena la hoja fue de 30°C. La actividad fotosintética se expresó como $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ y la tasa de transpiración en $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. la conductancia estomática como $\text{mol de CO}_2 \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$, la eficiencia del fotosistema II en F_v'/F_m' y la tasa de transpiración en $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

5.4.9 Determinación de la Concentración de Si

La concentración de Silicio en cada uno de los órganos de las plantas fue cuantificada a través del equipo de Plasma Óptico 700 Series ICP-OES de la compañía Agilent Technologies (Santa Clara, CA, Estados Unidos). La concentración de Si se expresó en mg kg^{-1} de peso seco y se utilizó para determinar su patrón de distribución.

5.4.10 Patrón de Distribución de Si (Hoja, Tallo, Fruto y Raíz)

El patrón de distribución de Si se determinó en base a la concentración de Si presente en cada uno de los órganos de las plantas. La concentración de Si fue expresada en porcentaje (%).

5.4. Análisis estadístico

A los datos obtenidos se les comprobó la normalidad utilizando la prueba de Shapiro-Wilks, también se evaluó la homogeneidad de varianzas a través de la prueba de Bartlett y la independencia de los datos se garantizó con la aleatorización durante todo el experimento (muestreo, aplicación de tratamientos y análisis). Una vez cumplidos los supuestos anteriores se procedió a realizar un análisis de varianza de un solo factor y al detectarse diferencias significativas entre tratamientos se aplicó una prueba de separación medias mediante el método de LSD, usando el software estadístico SAS (SAS Inst. Inc. Cary, NC). Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas utilizando un nivel de significancia del 95%. Los datos presentados son los valores medios \pm error estándar (ES.).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Biomasa

6.1.1 Biomasa Total, Radicular, Foliar y del Tallo

La acumulación de biomasa es el producto final de la fotosíntesis de la planta, donde la distribución de biomasa a los órganos reproductivos son esenciales para obtener mayores rendimientos (Plenet *et al.*, 2000; Gao *et al.*, 2009). En el presente experimento, la aplicación de las dosis de 1 y 4 mM tanto de NanoSi como de Codasil® tuvieron efectos benéficos sobre la acumulación de biomasa total. El tratamiento NanoSi4 presentó la mayor acumulación de esta variable con respecto al control (sin aplicación de Si), con un incremento del 16 %, aunque no se encontraron diferencias significativas con NanoSi1, Codasil1 y Codasil4 (Figura 1). Diversos autores han reportado el incremento de biomasa al aplicar Si en una variedad de condiciones, como la sequía y salinidad en cultivos como fresa, habas y algodón (Avestan *et al.*, 2019; Desoky *et al.*, 2021). Esto debido a que la aplicación de Si influencia en varios procesos fisiológicos de la planta como la fotosíntesis, absorción de nutrientes, transpiración y refuerzo del sistema antioxidante (Khoshgoftarmanesh *et al.*, 2014; Rady *et al.*, 2019; Mukarram *et al.*, 2021). El aumento de la eficiencia y/o regulación de estos procesos se traduce en la mayor acumulación de biomasa para la planta.

Con respecto a la biomasa radicular, resaltar que la raíz es el principal órgano por el cual el agua y los nutrientes son absorbidos por las plantas además de actuar como sensor para detectar alteraciones en el ambiente que las rodea (Mase *et al.*, 2021). En el presente estudio, la aplicación de NanoSi1 exhibió un incremento de la biomasa radicular de un 63 % con respecto al control y el cual fue superior a los demás tratamientos con excepción del tratamiento Codasil2, con quien no se encontraron diferencias significativas (Figura 1). Estos resultados coinciden con lo reportado en experimentos realizados en soya bajo sombreado, donde la aplicación foliar de silicio aumento la biomasa radicular (Hussain *et al.*, 2021). Este incremento es debido a una mayor capacidad de absorción de nutrientes como N, P, K⁺ y Ca²⁺. Además, es posible que el Si regule la formación de raíces adventicias y una mayor acumulación de biomasa al influenciar la señalización de óxido nítrico y de especies reactivas de oxígeno. Más aún, el aumento tanto de la longitud como la

superficie radicular podrían haber contribuido a una mejor absorción de nutrientes y de agua en plántulas de tomate bajo estrés hídrico, lo que produce una mayor acumulación de biomasa tanto total como radicular (Zhang *et al.*, 2017).

En relación con la biomasa foliar, la hoja es el órgano más importante de la planta para transferir la energía solar a energía útil para la producción de biomasa a través de la fotosíntesis (Huang *et al.*, 2019). En el presente estudio, el tratamiento NanoSi4 fue quien presentó la mayor acumulación de biomasa foliar, con un aumento del 38% con respecto al control, aunque no fue significativamente diferente a los demás tratamientos, a excepción del tratamiento NanoSi2 y el control (Figura 1). Estos resultados coinciden con lo reportado por distintos autores, los cuales señalan que la acumulación de Si en la epidermis de las hojas forma una cutícula de doble capa que reduce la pérdida de agua a través de la transpiración (Gong *et al.*, 2003). Además, en el caso de habas se encontró que la aplicación de NanoSi mejoró de manera significativa la absorción de otros nutrientes como N, P, K⁺ y Ca²⁺ e incrementó el contenido de agua de la planta al reducir la transpiración y aumentar la presión de turgencia (Romero-Aranda *et al.*, 2006; Desoky *et al.*, 2021). El conjunto de estas mejoras en absorción de nutrientes, menor pérdida de agua junto con un aparato fotosintético más eficiente a través de una mayor asimilación de carbono, hojas más erectas que interceptan de una mejor manera a la luz y menor pérdida de energía por calor gracias a un atrapamiento de fotones y cadena de transporte de electrones más eficiente (Mukarram *et al.*, 2021), permiten mejorar las actividades fisiológicas de las células de la planta, lo que se traduce en una mayor acumulación de biomasa total, que a su vez permite una mayor acumulación de biomasa foliar.

Con respecto al tallo, este proporciona soporte estructural y transporta agua, nutrientes y carbohidratos, así mismo realiza funciones de defensa, almacenamiento de foto asimilados y lleva a cabo actividad fotosintética (Laughling, 2014; Simkin *et al.*, 2020). El tratamiento Codasil1 presentó la mayor acumulación de biomasa en el tallo comparado con el control, con un aumento del 56% respecto a este último tratamiento (Figura 1). Estos resultados coinciden con lo reportado por Hussain *et al.*, (2021) en trabajos realizados con soya, en donde el tallo de esta planta incrementó de manera significativa la acumulación de azúcares solubles, lo que fortalece la fuerza mecánica de este organo en condiciones de sombreado y de luz normales. Además, el silicio al precipitarse como SiO₂ en las estructuras biológicas (pared celular), ejerce una acción de protección al formarse una barrera física en el tallo, como lo reportó Karmollachaab y Gharineh (2015), donde la aplicación de 1 mM de K₂SiO₄ incrementó la acumulación de Si en el tallo de

plantas de trigo. El producto Codasil® no solo contiene Si, sino también está compuesta de K_2O , lo que permite una mejor absorción de nutrientes y mantener la presión de turgencia, lo que eficientiza los procesos fisiológicos de la planta, permitiendo una mejor acumulación de biomasa y su distribución alrededor de la planta.

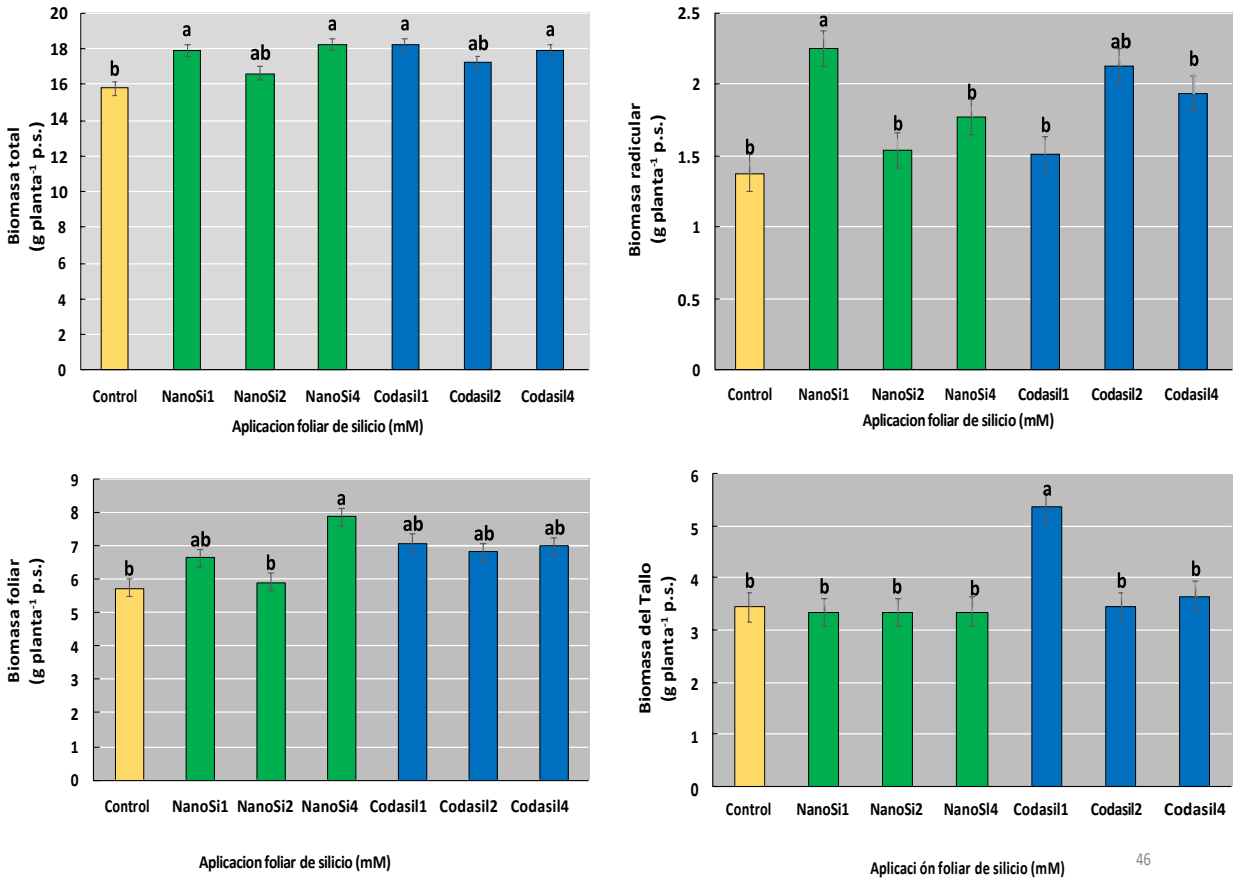


Figura 1. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la biomasa total, radicular, foliar y del tallo en peso seco por planta en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes representan diferencias estadísticas significativas entre tratamientos(LSD $p \leq 0.05$).

6.2 Rendimiento

El rendimiento de los cultivos es determinado por múltiples factores como el genotipo, medio ambiente y sus interacciones (Khaki y Wang, 2019). En el presente estudio, la aplicación de

NanoSi y Codasil mejoraron los rendimientos, con excepción del tratamiento Codasil1 y 2. El tratamiento NanoSi2 mostró el mayor rendimiento, con un aumento del 36 % con respecto al control (Figura 2). Esto es debido al efecto que tiene el silicio sobre el balance nutricional y las actividades fisiológicas de la planta lo que mejora su crecimiento y, por ende, su rendimiento (Laane, 2018). Efectivamente, estudios en soya, vid, habas y fresas han mostrado la influencia del silicio al estimular procesos fisiológicos como la fotosíntesis, regulación de la transpiración y resistencia al estrés tanto biótico como abiótico lo que aumenta el rendimiento (Cruz, 2018; Desoky *et al.*, 2021; Hussain *et al.*, 2021; Rashad *et al.*, 2021).

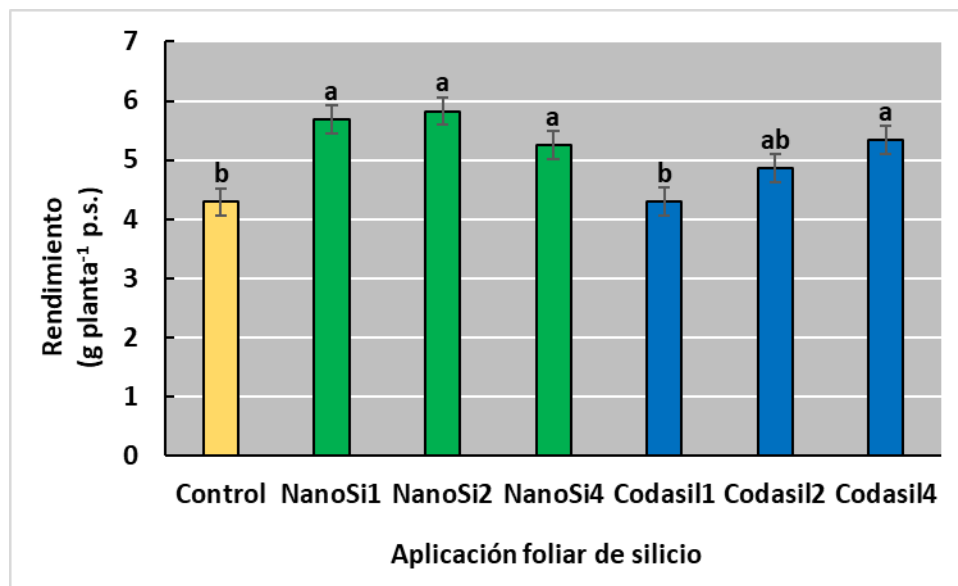


Figura 2. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre el rendimiento en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes representan diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$).

6.3 Actividad Enzimática de la Nitrato Reductasa “*in vivo*”

La enzima nitrato reductasa (EC 1.7.1.1) es esencial para la asimilación de nitrógeno para las plantas superiores y regula directamente la reducción de los nitratos (Chamizo-Ampudia *et al.*, 2017; Imran *et al.*, 2019) donde normalmente la actividad de la nitrato reductasa es proporcional a la cantidad de nitratos presentes, es decir, a mayor concentración de nitratos, es mayor la

actividad enzimática de la nitrato reductasa (Signore *et al.*, 2020). En el presente trabajo, la aplicación de Codasil2 incrementó la actividad de la enzima nitrato reductasa en 191% en comparación con el control (Figura 3), aunque no presentó diferencias significativas con el resto de los tratamientos. Estos resultados coinciden con lo reportado en plántulas de maíz y en pepino bajo estrés de nitratos, donde la aplicación de Si mejoró los efectos del N en las plantas al ser absorbidos en mayor cantidad, lo que a su vez incrementó la actividad de la nitrato reductasa y por tanto, tuvo una mayor actividad metabólica (Gou *et al.*, 2020; da Silva *et al.*, 2021). Además, la aplicación de bioestimulantes con moléculas bioactivas como aminoácidos podrían tener un efecto positivo en la reducción de nitratos al regular a la baja los genes de los transportadores de nitratos, así como, incrementar los niveles de transcripción de los genes relacionados en la ruta metabólica del nitrógeno (Liu *et al.*, 2012). Sin embargo, la adición de nanopartículas de silicio a dosis más altas (2 y 4 mM) junto con la adición de 1 mM de KNO₃, disminuyeron la actividad de la nitrato reductasa. Con respecto a esta disminución, es posible que exista un límite en la concentración de nitratos que regula la actividad de la enzima nitrato reductasa (Chen *et al.*, 2004).

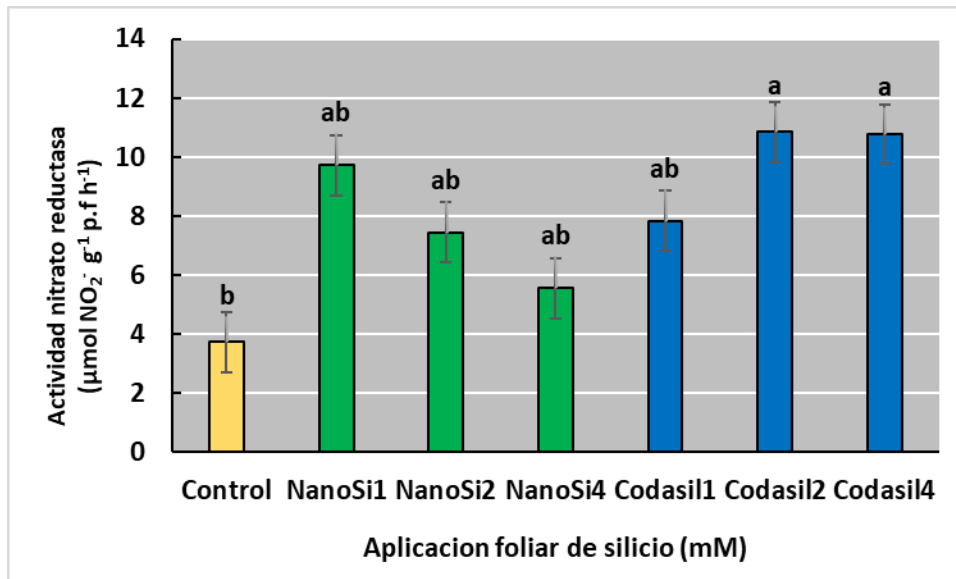


Figura 3. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la actividad enzimática de la nitrato reductasa en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes representan diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$).

6.4 Aminoácidos Solubles

Los aminoácidos, además de estar involucradas en la síntesis de proteínas, cumplen con una variedad de funciones, las cuales incluyen: precursores de hormonas, como factores de señalización en los procesos fisiológicos, reguladores de la absorción de nitrógeno, desarrollo de la raíz y en el metabolismo antioxidante (Calvo *et al.*, 2014; Teixeira *et al.*, 2017; Rouphael *et al.*, 2018). En el presente estudio, el tratamiento Codasil2 presentó un incremento de la concentración de aminoácidos solubles del 28% con respecto al control, aunque esta diferencia no fue significativa en comparación con el resto de los tratamientos, a excepción del tratamiento Codasil4 (Figura 4). La aplicación foliar de aminoácidos podría influenciar la absorción y asimilación de nitrógeno al regular las enzimas encargadas de la asimilación nitrogenada (Halpern *et al.*, 2015). Por ejemplo, la aplicación de aminoácidos (L-metionina, L-triptofano y L-glicina) en lechuga funcionan como moléculas transductores de señales de diversos procesos fisiológicos benéficos para la planta. (Khan *et al.*, 2019). Dentro de este grupo de aminoácidos, la L-metionina induce una mejor absorción de azufre y nitrógeno al ser aplicados en bajas cantidades (Santi *et al.*, 2017). Cabe destacar que una alta concentración de L-metionina podrían ser causantes de estrés para la planta (Yakhin *et al.*, 2017), lo que explicaría la tendencia a la baja de la concentración de aminoácidos al incrementar las dosis de Codasil al alterar procesos como la fotosíntesis y provocar desórdenes fisiológicos al interferir en el metabolismo normal de los aminoácidos (Woltz y Jackson., 1961) De manera similar, la aplicación de NanoSi a dosis mayores podrían tener un efecto negativo en la acumulación de aminoácidos.

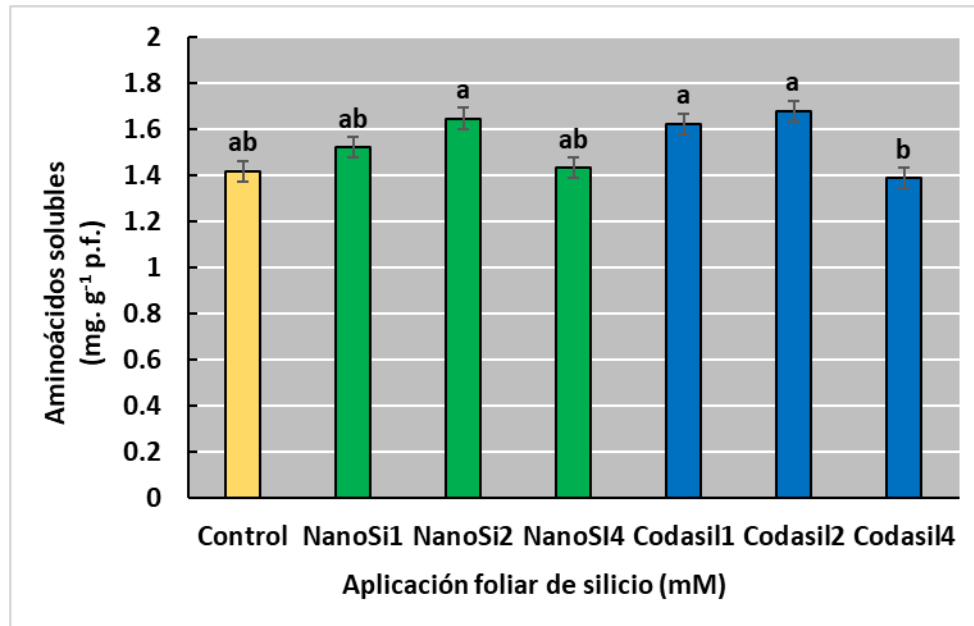


Figura 4. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la concentración de aminoácidos solubles en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes representan diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$).

6.5 Proteínas Solubles

La función de una proteína es determinada por el número y la secuencia de los aminoácidos que la constituyen y por tanto, son moléculas de gran complejidad y diversidad enorme, lo que las hace aptas para cumplir con una multitud de funciones (Schillberg *et al.*, 2019). En el presente estudio, la concentración de proteínas solubles fue mayor en el tratamiento Codasil1, con un incremento del 38%, con respecto al control (Figura 5). Sin embargo, el tratamiento Codasil1 no fue diferente de manera significativa con el tratamiento NanoSi4, NanoSi2 y Codasil2. Estos resultados coinciden con lo reportado en investigaciones realizadas en trigo y arroz, donde la aplicación tanto de Si en forma convencional como en nanopartículas de Si mejoraron el contenido de proteínas solubles (Cuong *et al.*, 2017; Helal *et al.*, 2022), este aumento de la concentración de proteínas solubles es debido a la traslocación de diferentes nutrientes, como el nitrógeno, lo que mejora el metabolismo nitrogenado y la síntesis de proteínas en las plantas. De igual forma, la acumulación de estas proteínas podría ser debido al efecto del silicio en la síntesis de proteínas específicas y en el funcionamiento de la síntesis de ARNm y ADN (Soundarajan *et al.*, 2014).

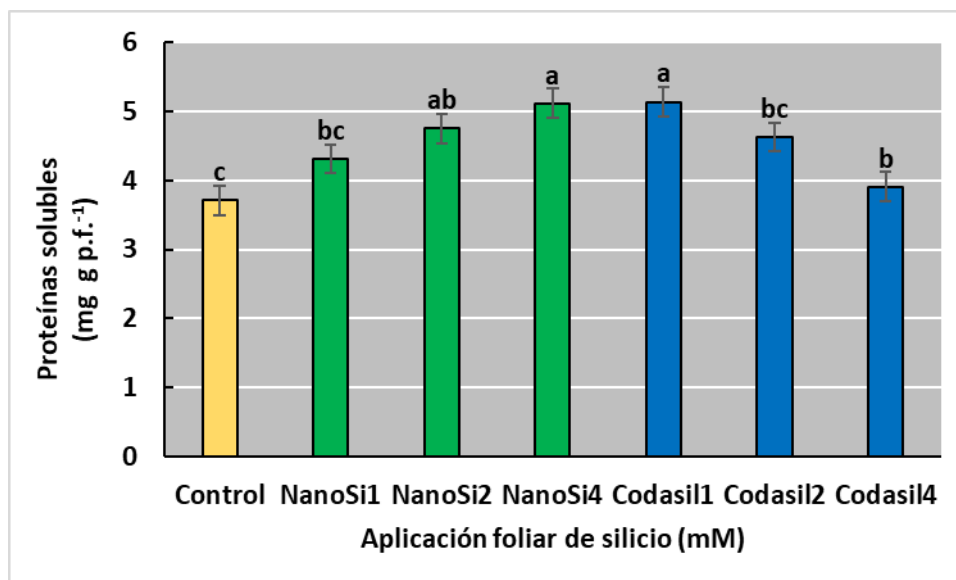


Figura 5. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la concentración de proteínas solubles en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes representan diferencias estadísticas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$).

6.6 Pigmentos Fotosintéticos

La clorofila es el principal pigmento para llevar a cabo la fotosíntesis y está involucrada en el proceso de absorción de luz, transferencia, distribución y transformación, lo que permite mejorar la salud de la hoja y el rendimiento de los cultivos (Zhang *et al.*, 2017; Hafez *et al.*, 2021). En el presente estudio, la concentración de clorofila total fue mayor en el tratamiento NanoSi1, con un incremento del 48.33% con respecto al control (Figura 6). Estos resultados coinciden con lo reportado en sorgo bajo deficiencia de hierro (Teixeira *et al.*, 2020) donde la aplicación de silicio incrementó la concentración de clorofila al facilitar la absorción de Fe, elemento que juega un rol importante en la síntesis de clorofila. Del mismo modo, el Si disminuye la concentración de malonaldehído en las hojas y raíces, lo que restringe la degradación de la clorofila. Más aun, el Si aumento la concentración de clorofila en hojas de cebada jóvenes al intensificar la actividad de las enzimas antioxidantes, resultando en una menor acumulación de EROS (Nikolic *et al.*, 2019).

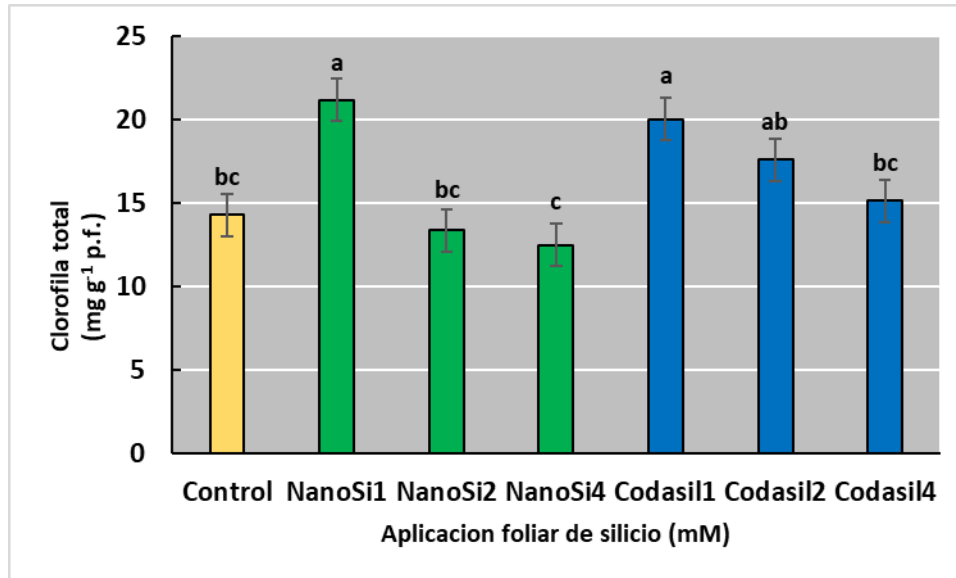


Figura 6. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la concentración de clorofila total en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes representan diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$).

6.7 Índice de Clorofila

El SPAD es uno de los instrumentos más utilizados para determinar de manera indirecta y no destructiva el contenido de nitrógeno de las plantas en tiempo real (Pinzón-Sandoval *et al.*, 2023). Además, también permite la medición del índice de clorofila de las plantas. En el presente estudio, los índices de clorofila fueron en aumento desde la primera medición el día 19 de septiembre de 2022 hasta la última medición el día 4 de octubre de 2022 en todos los tratamientos, destacando con la mayor cantidad de valores SPAD en el tratamiento Codasil1 con un incremento del 5% en comparación con el control considerando la última fecha (Figura 7). Estos resultados coinciden con lo reportado en trabajos realizados con caña de azúcar bajo estrés hídrico, donde la aplicación de Si mediante el riego incrementó el índice de clorofila y los pigmentos fotosintéticos de las plantas (Verma *et al.*, 2020). Esto es posible debido a la capacidad del Si de mejorar la eficiencia de los pigmentos fotosintéticos del estrés oxidativo, además de las enzimas fotosintéticas como ribulosa-bifosfato- carboxilasa y gliceraldehido-3-fosfato funcionando de una manera más eficiente (Gong *et al.*, 2003). Como se mencionó anteriormente, los valores SPAD determinan en el contenido de nitrógeno en la planta, donde una mayor eficiencia de absorción de N, debido a la

acción del Si sobre las enzimas presentes en la ruta metabólica del nitrógeno. Además, la adición de los aminoácidos presentes en el bioestimulante Codasil también tienen influencia en las enzimas encargadas de la absorción y asimilación de nitrógeno permitiendo este aumento del índice de clorofila en las plantas (Halpern *et al.*, 2015).

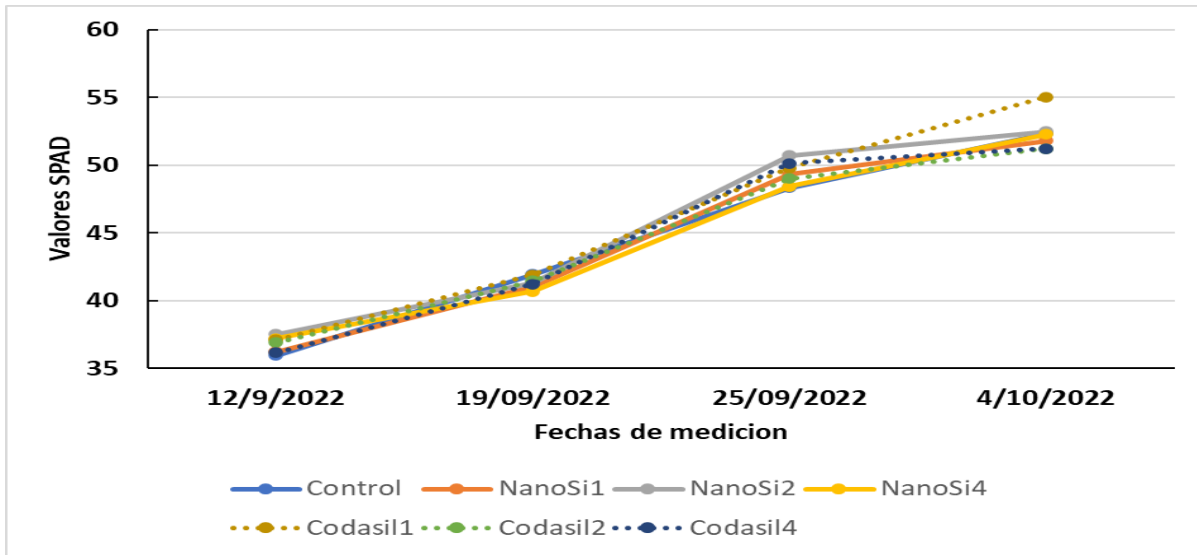


Figura 7. Tendencia de la aplicación foliar de silicio sobre el índice de clorofila durante cuatro fechas de medición: 12 de septiembre de 2022 (prefloración), 19 de septiembre de 2022 (floración), 25 de septiembre de 2022 (llenado de frutos) y 4 de octubre de 2022, maduración de frutos.

6.8 Intercambio Gaseoso

6.8.1 Actividad Fotosintética

La fotosíntesis es la principal forma por la cual la planta obtiene energía para su crecimiento y desarrollo (Liu *et al*, 2019). Es por ello, que cualquier alteración del proceso fotosintético afecta la disponibilidad de carbono, así como la acumulación de especies reactivas de oxígeno (EROS). En el presente estudio, la aplicación foliar de silicio fue benéfica para la actividad fotosintética,

donde el tratamiento de NanoSi1 fue quien mostró la mayor actividad comparada con el control, con un aumento del 50.42% respecto a este último (Figura 8). Estos resultados coinciden con lo reportado por Mahmoud *et al.* (2022) en papas, donde la aplicación de nanopartículas de Si resultaron en una mejor conductancia estomática y en un mayor aumento del contenido de clorofila en las hojas, lo que permite el incremento de CO₂ intracelular, una mejor absorción de luz y un mejor rendimiento cuántico del fotosistema II. Además, el sistema antioxidante de las plantas es fortalecido al acelerar la actividad antioxidante enzimática (SOD, POD y CAT) y no enzimáticas (ácido ascórbico y GSH), limitando el daño celular por peroxidación de lípidos (Iqbal *et al.*, 2019). Otro beneficio reportado, es el aumento del tamaño de los cloroplastos y el incremento del número de grana en las hojas (Xie *et al.*, 2014), lo que aumenta la eficiencia de la actividad fotosintética.

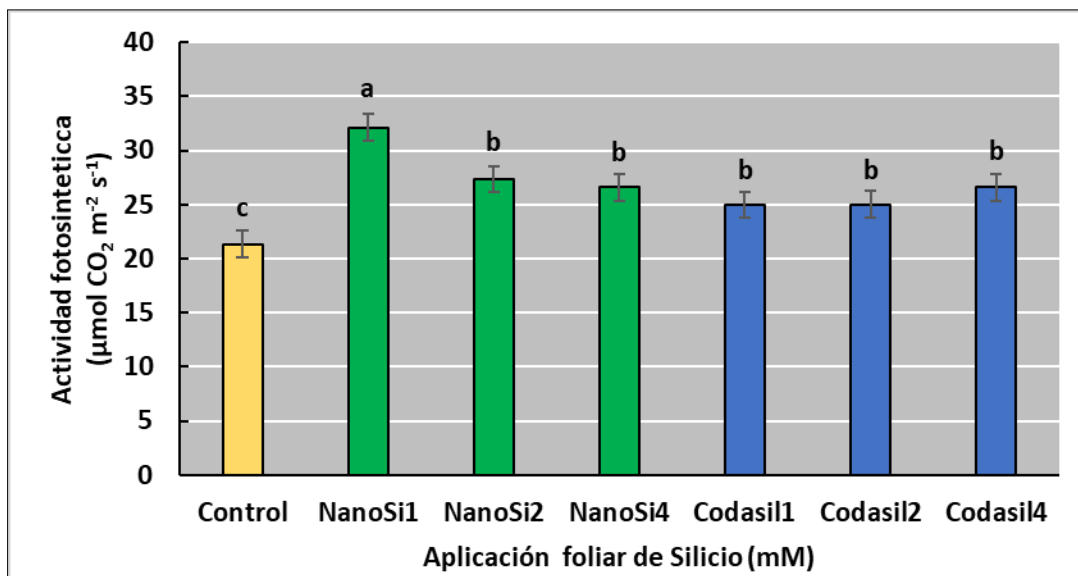


Figura 8. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la actividad fotosintética en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes representan diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$).

6.8.2 Conductancia Estomática

La conductancia estomática modula la difusión de gases entre la hoja y la atmosfera, regulando la

asimilación de CO₂, pérdida de agua y el enfriamiento por evaporación (Lin *et al.*, 2015). Los estomas están en un ciclo continuo de apertura y cierre en respuesta a señales externas e internas, como la luz o por parte de hormonas (Faralli *et al.*, 2019) para mantener un equilibrio entre la asimilación de CO₂ y la pérdida de agua por transpiración. En el presente estudio, el tratamiento de NanoSi1 fue superior a los demás tratamientos con excepción del control, con el cual no presentó diferencias significativas (Figura 9). Estos resultados, coinciden con lo reportado en habas (Desoky *et al.*, 2021) y *Cymbopogon flexuosus* (Mukarram *et al.*, 2023). Esta conductancia estomatal mejorada podría ser debido a un cambio en la plasticidad y elasticidad de la pared celular lo que facilita el paso de CO₂ entre el medio ambiente y la planta (Vaculik *et al.*, 2015). Además, la aplicación de silicio exógena podría mejorar la conductancia estomática al aumentar la sensibilidad de los estomas al flujo K⁺, elemento que también está relacionado con la apertura y cierre de los estomas, reduciendo la pérdida de agua y aumentando la absorción de CO₂ (Vandegeer *et al.*, 2021).

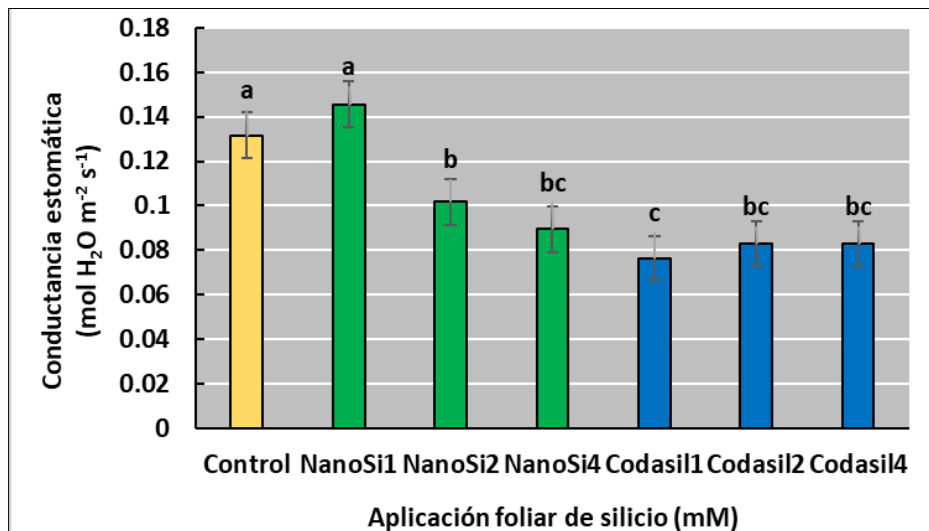


Figura 9. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la conductancia estomática en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes representan diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$).

6.8.3 Tasa de Transpiración

La transpiración se refiere al movimiento del agua a través de plantas vivas. Las tasas de transpiración están controladas por los efectos combinados de impulsores biofísicos (temperatura, déficit de presión de vapor de agua y radiación neta) y la conductancia estomática (Kirschbaum y McMillan, 2018). En el presente estudio, el tratamiento Codasil1 mostró las menores tasas de transpiración comparados con los otros tratamientos (Figura 10). Este tratamiento redujo en un 32 % la tasa de transpiración comparado con el control. Esto es posible al disminuir la transpiración por los estomas, así como, mantener la presión de turgencia al mismo tiempo que aumenta la absorción de K^+ . Ciertamente, el K^+ está involucrado en la regulación osmótica, en el funcionamiento de las acuaporinas y el mantenimiento de la turgencia celular (Hasanuzzaman *et al.*, 2018). Es por ello que un movimiento más eficiente del agua junto con una mejor absorción de nutrientes mejora el desempeño en todas las actividades fisiológicas de las células vegetales (Desoky *et al.*, 2021).

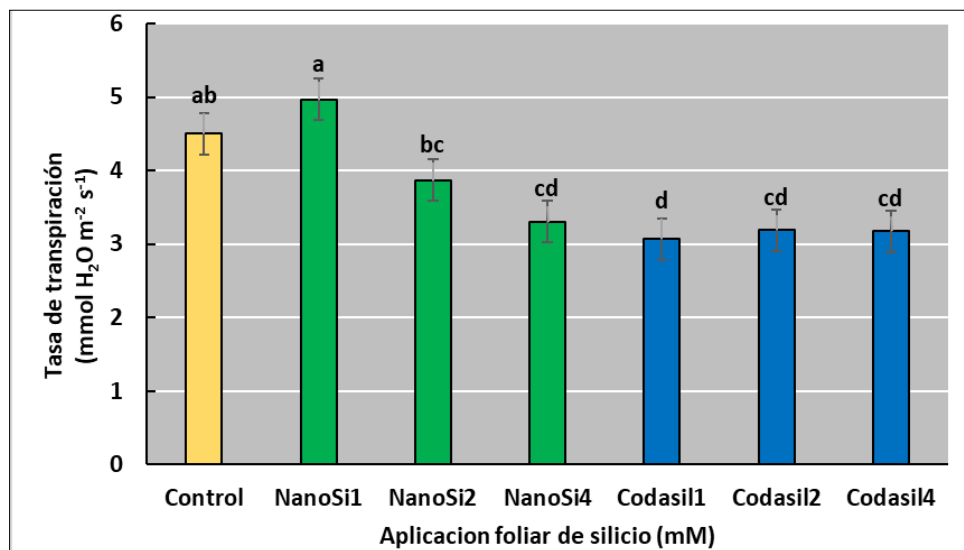


Figura 10. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre la tasa de transpiración en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes presentan diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$).

6.8.4 Fluorescencia de la Clorofila

La energía lumínica absorbida por la clorofila de las hojas puede tener distintos destinos: Puede ser usado para impulsar la fotosíntesis, la energía puede ser disipada como calor o puede ser reemitida como luz (fluorescencia). Estos procesos ocurren simultáneamente, de tal manera que el aumento de eficiencia en uno resulta en la disminución del rendimiento de los otros dos. Es así que, al medir el rendimiento de la fluorescencia de la clorofila, se puede obtener información de la eficiencia de la fotosíntesis y de la disipación de calor (Moreno *et al.*, 2008). La tasa F_v'/F_m' es un indicador sensible del desempeño fotosintético de la planta, donde una disminución de este índice representa una reducción de la eficiencia del fotosistema II, en especial por la fotoinhibición (Guidi *et al.*, 2019). En el presente estudio, el tratamiento Codasil1 presentó la mejor relación F_v'/F_m' , con un incremento del 21% en comparación con el control, aunque no fue significativamente diferente con el tratamiento NanoSi1 ni con NanoSi4 (Figura 11). Estos resultados, coinciden con lo reportado en fresas y *Cymbopogon flexuosus* bajo estrés salino y pepino bajo estrés salino y altas temperaturas, donde la aplicación de NanoSi mejoró el índice F_v/F_m , optimizando el proceso fotosintético de la planta (Avastan *et al.*, 2021; Shalaby *et al.*, 2021; Mukarram *et al.*, 2023). Un alto contenido de clorofila junto con una fluorescencia optimizada gracias a una homeostasis celular mejorada podría apoyar aún más al proceso fotosintético.

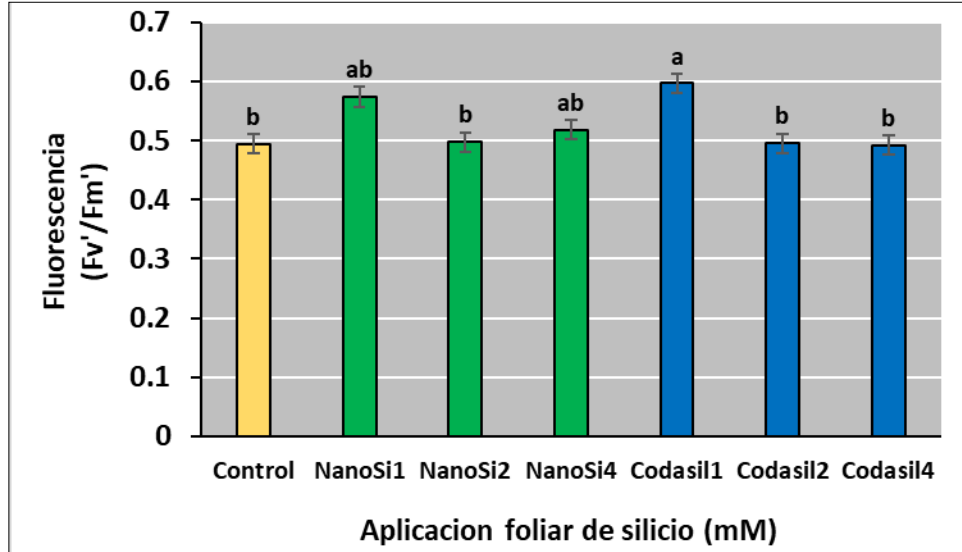


Figura 11. Efecto de la aplicación foliar de silicio sobre fluorescencia de la clorofila en frijol ejotero cv. Strike. Las letras diferentes representan diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD $p \leq 0.05$).

6.9 Patrón de Distribución de Si Foliar, del Tallo, Radicular y del Fruto

Conocer la distribución de los nutrientes en la planta, permite aplicarlos de una mejor manera en cada etapa fenológica del cultivo, cumpliendo con las necesidades de desarrollo de las hojas, tallos, frutos y raíces, donde dichas condiciones varían de acuerdo con la estructura de la planta (Salazar-Jara *et al.*, 2016). En el presente estudio, los tratamientos de NanoSi mostraron la siguiente distribución de Si en la planta de frijol ejotero: el 44.39% fue en hoja, 17.66% en tallo, 27.46% en fruto y 10.50% en raíz.

Con respecto a los tratamientos de Codasil, se puede observar una tendencia similar en la distribución de Si a través de la planta (Figura 12). Los tratamientos de Codasil presentaron la siguiente distribución: el 33.36% en hoja, 10.85% en tallo, 31.24% en fruto y 25% en raíz. La distribución de Si en ambos tratamientos (NanoSi y Codasil) sugiere que este elemento tiende a concentrarse en las hojas, lo que coincide con lo reportado en experimentos hechos en alfalfa y caña de azúcar (Meng *et al.*, 2020; Verma *et al.*, 2020). Además, según Mandlik *et al.* (2020), el contenido de Si es menor en órganos de absorción como la raíz y mayor en órganos que transpiran como las hojas, indicando que el acaparamiento de Si es fuertemente influenciado por la corriente

de evapotranspiración de la planta. Esta acumulación en las hojas permite la formación de una capa de Si en la cutícula de las hojas, donde cumplen un rol importante en la protección de la planta ante diversos tipos de estrés (Mitani-Ueno y Ma, 2021).

Con respecto al contenido de Si en los frutos, en el presente estudio este elemento se acumuló en mayor cantidad en el fruto después que las hojas. Esta acumulación podría ser gracias a factores como la estimulación y depósito de celulosa y hemicelulosa en el fruto, lo que sugiere que el Si participa en la formación de la pared celular (Glazowska *et al.*, 2020). Aunado a lo anterior, el Si también pudiera jugar un papel clave en la estabilización de la pared celular al protegerla de enzimas degradativas como β -galactisidosa, pectina, metilesterasa y poligalacturinas (Karagiannis *et al.*, 2021).

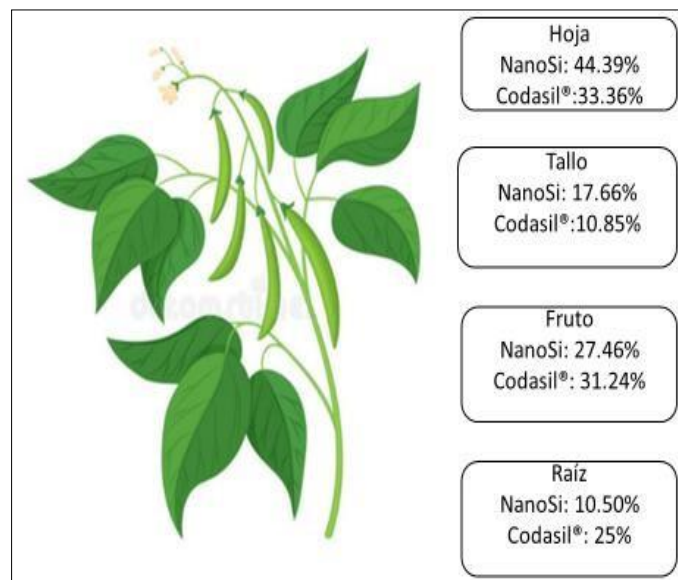


Figura 12. Distribución de Si en hoja, tallo, fruto y raíz en función de la aplicación foliar de nanopartículas de Si y el bioestimulante Codasil® en frijol ejotero cv. Strike.

7. CONCLUSIONES

La aplicación foliar de Si a través de NanoSi y el bioestimulante Codasil® fue benéfica, ya que incremento la acumulación de biomasa y el rendimiento, al influenciar procesos del intercambio gaseoso como la actividad fotosintética, conductancia estomática, las tasas de transpiración y la fluorescencia de la clorofila, así como la acumulación de pigmentos fotosintéticos y de los valores SPAD. Aunado a lo anterior, la aplicación de Si estimulo el metabolismo nitrogenado de la planta, resultando en una mayor actividad de la nitrato reductasa, que a su vez permite una mayor acumulación de aminoácidos y proteínas. Esto se traduce en una mejor asimilación de nitrógeno.

Basándose en estos resultados, el abastecimiento de Silicio a dosis bajas (1 mM) funcionó como un bioestimulante, favoreciendo el intercambio de gases y la asimilación de nitrógeno dentro de la planta lo cual estimuló el crecimiento y rendimiento del frijol ejotero.

Finalmente, los resultados de este trabajo de investigación permitieron comprender mejor los efectos de la aplicación de Silicio a través de las nanopartículas de dióxido de Silicio y el bioestimulante Codasil® en la fisiología de la planta de frijol ejotero.

8. RECOMENDACIONES

El uso de la nanotecnología es una técnica innovadora que está generando cada vez mayor interés, ya que las propiedades de las nanopartículas de los distintos elementos confieren varias ventajas con respecto a sus pares convencionales, al actuar como bioestimulantes. Aun así, es necesario realizar pruebas en campo y con distintos cultivos para determinar de manera más precisa el modo de acción de dichas nanopartículas, en este caso el Si, para comprobar su eficacia en condiciones no controladas. Además, se recomienda realizar estudios moleculares y genéticos para elucidar los mecanismos de acción de las nanopartículas en la fisiología vegetal de los distintos cultivos presentes actualmente.

9. REFERENCIAS

- Avestan, S., Ghasemnezhad, M., Esfahani, M., Byrt, C. S. (2019). Application of nano-silicon dioxide improves salt stress tolerance in strawberry plants. *Agronomy*. 9(5), 246.
- Avestan, S., Ghasemnezhad, M., Esfahani, M., Barker, A. V. (2021). Effects of nanosilicon dioxide on leaf anatomy, chlorophyll fluorescence, and mineral element composition of strawberry under salinity stress. *J. Plant Nutr.* 44(20), 3005-3019.
- Bhat, J. A., Rajora, N., Raturi, G., Sharma, S., Dhiman, P., Sanand, S., Deshmukh, R. (2021). Silicon nanoparticles (SiNPs) in sustainable agriculture: Major emphasis on the practicality, efficacy and concerns. *Nanoscale Adv.* 3(14), 4019-4028.
- Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72: 248–254
- Bulgari, R., Franzoni, G., Ferrante, A. (2019). Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. *Agronomy*. 9(6), 306.
- Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil.* 383, 3-41.
- Chamizo-Ampudia A, Sanz-Luque E, Llamas A, Galvan A, Fernandez E. (2017). Nitrate reductase regulates plant nitric oxide homeostasis. *Trends Plant Sci.* 22, 163–174.
- Che, J., Yamaji, N., Shao, J. F., Ma, J. F., Shen, R. F. (2016). Silicon decreases both uptake and root-to-shoot translocation of manganese in rice. *J. Exp. Bot.* 67(5), 1535-1544.
- Chen, B. M., Wang, Z. H., Li, S. X., Wang, G. X., Song, H. X., and Wang, X. N. (2004). Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. *Plant Sci.* 167, 635–643.
- Coskun, D., Deshmukh, R., Sonah, H., Menzies, J. G., Reynolds, O., Ma, J. F. (2019). The controversies of silicon's role in plant biology. *New Phytol.* 221, 67–85.
- Cruz Hipolito, J. P. (2018). Respuesta agronómica y fisiológica de la fresa (*Fragaria x ananassa Duch.*) a la aplicación de silicio (Master's thesis).
- Cuong, T. X., Ullah, H., Datta, A., Hanh, T. C. (2017). Effects of silicon-based fertilizer on growth, yield and nutrient uptake of rice in tropical zone of Vietnam. *Rice Sci.* 24(5), 283-290.
- da Silva, E. S., de Mello Prado, R., Soares, A. D. A. V. L., de Almeida, H. J., dos Santos, D. M. M. (2021). Response of corn seedlings (*Zea mays* L.) to different concentrations of nitrogen in absence and presence of silicon. *Silicon.* 13, 813-818.
- Desoky, E. S. M., Mansour, E., El-Sobky, E. S. E., Abdul-Hamid, M. I., Taha, T. F., Elakkad, H. A., Yasin, M. A. (2021). Physio-biochemical and agronomic responses of faba beans to exogenously applied nano-silicon under drought stress conditions. *Front.Plant Sci.* 12.
- Del Buono, D. (2021). Can biostimulants be used to mitigate the effect of anthropogenic climate change on agriculture? It is time to respond. *Sci. Total Environ.* 751:141763
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Sci.*

- Hort. 196, 3-14.
- Faralli, M., Matthews, J., Lawson, T. (2019). Exploiting natural variation and genetic manipulation of stomatal conductance for crop improvement. *Curr. Opin. Plant Biol.* 49, 1-7.
- Fraceto, L. F., Grillo, R., de Medeiros, G. A., Scognamiglio, V., Rea, G., Bartolucci, C. (2016). Nanotechnology in agriculture: which innovation potential does it have? *Front. Environ. Sci.* 4:20.
- Flores-López, R., Casimiro-Marín, M., Sotelo-Ruiz, E., Rubio-Covarrubias, O., López-Delgado, H. (2020). Fertilización NPK, distribución de biomasa y número de minitubérculos de papa en invernadero. *Rev. Mexicana. cienc. agri.* 11(8), 1827-1838.
- Gao, X.L., Sun, J.M.; Gao, J.F., Feng, B.L., Wang, P.K., Chai, Y. (2009) Accumulation and transportation characteristics of dry matter after anthesis in different mung bean cultivars. *Acta Agron. Sin.*, 35, 1715–1721.
- Ghanbari, M., Ariafar, S. (2013). The effect of water deficit and zeolite application on Growth Traits and Oil Yield of Medicinal Peppermint (*Mentha piperita* L.). *Int. j. med. aromat.* 3(1), 32-39.
- Głazowska, S., Baldwin, L., Mravec, J., Bukh, C., Hansen, T.H., Jensen, M.M., Fangel, J. U., Willats, W.G.T., Glasius, M., Felby, C., Schjoerring, J.K. (2018). The impact of silicon on cell wall composition and enzymatic saccharification of *Brachypodium distachyon*. *Biotechnol. Biofuels.* 11, 1–18.
- Gong, H. J., Chen, K. M., Chen, G. C., Wang, S. M., and Zhang, C. L. (2003). Effects of silicon on growth of wheat under drought. *J. Plant Nutr.* 26, 1055–1063.
- Gou, T., Yang, L., Hu, W., Chen, X., Zhu, Y., Guo, J., Gong, H. (2020). Silicon improves the growth of cucumber under excess nitrate stress by enhancing nitrogen assimilation and chlorophyll synthesis. *Plant Physiol. Biochem.* 152, 53-61.
- Guidi, L., Lo Piccolo, E., Landi, M. (2019). Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species? *Front. Plant Sci.* 10, 174.
- Hafez, E.M., Osman, H.S., Gawayed, S.M., Okasha, S.A.; Omara, A.E.D., Sami, R., Abd El-Monem, A.M., Abd El-Razek, U.A. (2021). Minimizing the Adversely Impacts of Water Deficit and Soil Salinity on Maize Growth and Productivity in Response to the Application of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Silica Nanoparticles. *Agronomy.* 11, 676.
- Hageman, R. H., Hucklesby, D. P. (1971). Nitrate reductase from higher plants. *Methods in enzymology.* 23, 491-503. Academic Press.
- Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Muller, T., Yermiyahu, U. (2015). The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. *Adv. Agron.* 130, 141-174.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Nahar, K., Hossain, M., Mahmud, J., Hossen, M., Masud, A., Moumita, Fujita M. (2018). Potassium: a vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. *Agronomy.* 8, 31.
- Helal, N. M., Khattab, H. I., Emam, M. M., Niedbała, G., Wojciechowski, T., Hammami, I., Hassan, H. M. (2022). Improving yield components and desirable eating quality of two

- wheat genotypes using Si and NanoSi particles under heat stress. *Plants*. 11(14), 1819.
- Hodson, M. J., Evans, D. E. (2020). Aluminium–silicon interactions in higher plants: an update. *J. Exp. Bot.* 71(21), 6719-6729.
- Huang, W., Ratkowsky, D. A., Hui, C., Wang, P., Su, J., Shi, P. (2019). Leaf fresh weight versus dry weight: which is better for describing the scaling relationship between leaf biomass and leaf area for broad-leaved plants? *Forests*. 10(3), 256.
- Hussain, S., Mumtaz, M., Manzoor, S., Shuxian, L., Ahmed, I., Skalicky, M., Liu, W. (2021). Foliar application of silicon improves growth of soybean by enhancing carbon metabolism under shading conditions. *Plant Physiol. Biochem.* 159, 43-52.
- Imran, M., Sun, X., Hussain, S., Ali, U., Rana, M. S., Rasul, F., Hu, C. X. (2019). Molybdenum-induced effects on nitrogen metabolism enzymes and elemental profile of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) under different nitrogen sources. *Int. J. Mol. Sci.* 20(12), 3009.
- Iqbal, N., Hussain, S., Raza, M. A., Yang, C. Q., Safdar, M. E., Brestic, M., Liu, J. (2019). Drought tolerance of soybean (*Glycine max* L. Merr.) by improved photosynthetic characteristics and an efficient antioxidant enzyme activity under a split-root system. *Front. Physiol.* 10, 786.
- Janmohammadi, M., Amanzadeh, T., Sabaghnia, N., Ion, V. (2016). Effect of nano-silicon foliar application on safflower growth under organic and inorganic fertilizer regimes. *Bot. Lith.* 22(1), 53-64.
- Jaworski E.G. (1971). Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43(6): 1274-1279.
- Karagiannis, E., Michailidis, M., Skodra, C., Molassiotis, A., Tanou, G. (2021). Silicon influenced ripening metabolism and improved fruit quality traits in apples. *Plant Physiol. Biochem.* 166, 270-277.
- Karmollachaab, A., Gharineh, M. H. (2015). Effect of silicon application on wheat seedlings growth under water-deficit stress induced by polyethylene glycol. *Iran Agric. Res.* 34(1), 31-38.
- Khaki, S., Wang, L. (2019). Crop yield prediction using deep neural networks. *Front. Plant Sci.* 10, 621.
- Khan, S., Yu, H., Li, Q., Gao, Y., Sallam, B. N., Wang, H., Jiang, W. (2019). Exogenous application of amino acids improves the growth and yield of lettuce by enhancing photosynthetic assimilation and nutrient availability. *Agronomy*. 9(5), 266.
- Kirschbaum, M.U.F., McMillan, A.M.S. (2018) Warming and Elevated CO₂ Have Opposing Influences on Transpiration. Which is more Important? *Curr. For. Rep.* 4, 51–71.
- Khoshgoftarmanesh, A. H., Khodarahmi, S., and Haghghi, M. (2014). Effect of silicon nutrition on lipid peroxidation and antioxidant response of cucumber plants exposed to salinity stress. *Arch. Agron. Soil Sci.* 60, 639–653.
- Laane, H. M. (2018). The effects of foliar sprays with different silicon compounds. *Plants*. 7(2), 45.
- Laughlin, D. C. (2014). The intrinsic dimensionality of plant traits and its relevance to community assembly. *J. Ecol.* 102(1), 186-193.

- Le, V. N., Rui, Y., Gui, X., Li, X., Liu, S., Han, Y. (2014). Uptake, transport, distribution and bio-effects of SiO₂ nanoparticles in Bt-transgenic cotton. *J. Nanobiotechnol.* 5, 12–50.
- Lin, Y. S., Medlyn, B. E., Duursma, R. A., Prentice, I. C., Wang, H., Baig, S., Wingate, L. (2015). Optimal stomatal behaviour around the world. *Nat. Clim. Change.* 5(5), 459-464.
- Luyckx, M., Hausman, J. F., Lutts, S., Guerriero, G. (2017). Silicon and plants: current knowledge and technological perspectives. *Front. Plant Sci.* 8, 411.
- Liu, B., Soundararajan, P., Manivannan, A. (2019). Mechanisms of silicon-mediated amelioration of salt stress in plants. *Plants.* 8(9), 307.
- Liu, X. Q., Lee, K. S. (2012). Effect of mixed amino acids on crop growth. *Agri. Sci.* 1, 119-158.
- Magda, S., Hussein, M. M. (2016). Determinations of the effect of using silica gel and nano-silica gel against *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato fields. *J Chem Pharm Res.* 8(4), 506-512.
- Mahmoud, A. W. M., Samy, M. M., Sany, H., Eid, R. R., Rashad, H. M., Abdeldaym, E. A. (2022). Nanopotassium, nanosilicon, and biochar applications improve potato salt tolerance by modulating photosynthesis, water status, and biochemical constituents. *Sustainability.* 14(2), 723.
- Mandlik, R., Thakral, V., Raturi, G., Shinde, S., Nikolić, M., Tripathi, D.K., Sonah, H., Deshmukh, R. (2020). Significance of silicon uptake, transport, and deposition in plants. *J. Exp. Bot.* 71, 6703–6718.
- Mase, K., Tsukagoshi, H. (2021). Reactive oxygen species link gene regulatory networks during *Arabidopsis* root development. *Front. Plant Sci.* 12, 660274.
- Maurino S.G., Echevarria C., Mejias J.A., Vargas M.A., Maldonado J.M. (1986). Properties of the in vivo nitrate reductase assay in maize, soybean, and spinach leaves. *J. Plant Physiol.* 124(1-2): 123-130.
- Meng, Y., Yin, Q., Yan, Z., Wang, Y., Niu, J., Zhang, J., Fan, K. (2020). Exogenous silicon enhanced salt resistance by maintaining K⁺/Na⁺ homeostasis and antioxidant performance in alfalfa leaves. *Front. Plant Sci.* 11, 1183.
- Moreno, S. G., Vela, H. P., Alvarez, M. O. S. (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica.* 27(4), 119-129.
- Mitani-Ueno, N., Ma, J. F. (2021). Linking transport system of silicon with its accumulation in different plant species. *Soil Sci Plant Nutr.* 67(1), 10-17.
- Mitra G., N. (2015). Regulation of nutrient uptake by plants. New Dehli: Springer. DOI, 10, 978-81
- Mukarram, M., Khan, M. M. A., Corpas, F. J. (2021). Silicon nanoparticles elicit an increase in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats) agronomic parameters with a higher essential oil yield. *J. Hazard. Mater.* 412, 125254.
- Mukarram, M., Khan, M. M. A., Kurjak, D., Lux, A., Corpas, F. J. (2023). Silicon nanoparticles (SiNPs) restore photosynthesis and essential oil content by upgrading enzymatic antioxidant metabolism in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) under salt stress. *Front. Plant Sci.* 14.

- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y., Kumar, D. S. (2010). Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Sci.* 179(3), 154-163.
- Nikolic, D. B., Nestic, S., Bosnic, D., Kostic, L., Nikolic, M., Samardzic, J. T. (2019). Silicon alleviates iron deficiency in barley by enhancing expression of strategy II genes and metal redistribution. *Front. Plant Sci.* 10, 416.
- Pavlovic, J., Kostic, L., Bosnic, P., Kirkby, E. A., Nikolic, M. (2021). Interactions of silicon with essential and beneficial elements in plants. *Front. Plant Sci.* 12, 697592.
- Pinzón-Sandoval, E. H., Balaguera-López, H. E., Almanza-Merchán, P. J. (2023). Evaluation of SPAD Index for Estimating Nitrogen and Magnesium Contents in Three Blueberry Varieties (*Vaccinium corymbosum* L.) on the Andean Tropics. *Horticulturae.* 9(2), 269.
- Plénet, D.; Mollier, A.; Pellerin, S. (2000). Growth analysis of maize field crops under phosphorus deficiency. II. Radiation-use efficiency, biomass accumulation and yield components. *Plant Soil.* 224, 259–272
- Povero, G., Mejia, J. F., Di Tommaso, D., Piaggese, A., Warrior, P. (2016). A systematic approach to discover and characterize natural plant biostimulants. *Front. Plant Sci.* 7, 435.
- Puglia, D., Pezzolla, D., Gigliotti, G., Torre, L., Bartucca, M. L., Del Buono, D. (2021). The opportunity of valorizing agricultural waste, through its conversion into biostimulants, biofertilizers, and biopolymers. *Sustainability.* 13(5), 2710.
- Qados, A. A., Moftah, A. E. (2015). Influence of silicon and nano-silicon on germination, growth and yield of faba bean (*Vicia faba* L.) under salt stress conditions. *Am. J Exp. Agric.* 5(6), 509-524.
- Rady, M. M., Elrys, A. S., El-Maati, M. F. A., Desoky, E.S. M. (2019). Interplaying roles of silicon and proline effectively improve salt and cadmium stress tolerance in *Phaseolus vulgaris* plant. *Plant Physiol. Bioch.* 139, 558-568.
- Rashad, Y. M., El-Sharkawy, H. H., Belal, B. E., Abdel Razik, E. S., Galilah, D. A. (2021). Silica nanoparticles as a probable anti-oomycete compound against downy mildew, and yield and quality enhancer in grapevines: Field evaluation, molecular, physiological, ultrastructural, and toxicity investigations. *Front. Plant Sci.* 12, 763365.
- Rastogi, A., Tripathi, D. K., Yadav, S., Chauhan, D. K., Živčák, M., Ghorbanpour, M., Brestic, M. (2019). Application of silicon nanoparticles in agriculture. *Biotech.* 9, 1-11.
- Romero-Aranda, M. R., Jurado, O., and Cuartero, J. (2006). Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. *J. Plant Physiol.* 163, 847–855.
- Rouphael, Y., Colla, G. (2018). Synergistic biostimulatory action: Designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. *Front. Plant Sci.* 9, 1655.
- Rouphael, Y., Colla, G. (2020). Biostimulants in agriculture. *Front. Plant Sci.* 11, 40.
- Salazar-Jara, F. I., Juárez-López, P., Bugarín-Montoya, R., Alejo-Santiago, G., García-Paredes, J., Cruz-Crespo, E. (2016). Extracción de macronutrientos en chile (*Capsicum annuum* L.) tipo húngaro. *Rev. Mexicana. cienc. agri.* 7(8), 2055–2061.
- Sánchez, E., Rivero, R. M., Ruiz, J. M., Romero, L. (2004). Changes in biomass, enzymatic activity

- and protein concentration in roots and leaves of green bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) under high NH_4NO_3 application rates. *Sci. Hortic.* 99(3-4): 237–248.
- Sangster AG, Hodson MJ, Tubb HJ (2001) Silicon deposition in higher plants. In: Datonoff LE, Snyder GH, Korndorfer Gh (eds) *Silicon in agriculture*. Elsevier Science, New York, pp 85-114.
- Santi, C., Zamboni, A., Varanini, Z., Pandolfini, T. (2017). Growth stimulatory effects and genome-wide transcriptional changes produced by protein hydrolysates in maize seedlings. *Front. Plant Sci.* 8, 433.
- SAS. (2004). The SAS[®] System for Windows[®] (Ver. 9.0).
- Savvas, D., Ntatsi, G. (2015). Biostimulant activity of silicon in horticulture. *Sci. Hort.* 196, 66-81.
- Schillberg, S., Raven, N., Spiegel, H., Rasche, S., Buntru, M. (2019). Critical analysis of the commercial potential of plants for the production of recombinant proteins. *Front. Plant Sci.* 10, 720.
- Shalaby, T. A., Abd-Alkarim, E., El-Aidy, F., Hamed, E. S., Sharaf-Eldin, M., Taha, N., Dos Reis, A. R. (2021). Nano-selenium, silicon and H_2O_2 boost growth and productivity of cucumber under combined salinity and heat stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 212, 111962.
- Shrestha, S., Brueck, H., Asch, F. (2012). Chlorophyll index, photochemical reflectance index and chlorophyll fluorescence measurements of rice leaves supplied with different N levels. *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.* 113, 7-13.
- Signore, A., Bell, L., Santamaria, P., Wagstaff, C., Van Labeke, M. C. (2020). Red light is effective in reducing nitrate concentration in rocket by increasing nitrate reductase activity and contributes to increased total glucosinolates content. *Front. Plant Sci.* 11, 604.
- Simkin, A. J., Faralli, M., Ramamoorthy, S., Lawson, T. (2020). Photosynthesis in non-foliar tissues: implications for yield. *Plant J.* 101(4), 1001-1015.
- Soundararajan, P., Sivanesan, I., Jana, S., Jeong, B. R. (2014). Influence of silicon supplementation on the growth and tolerance to high temperature in *Salvia splendens*. *Hortic Environ, Biotechnol.* 55, 271-279.
- Takahasi E., Ma JF, Miyake Y. (1990). The possibility of silicon as an essential element for higher plants. *Comments on Agricultural and Food Chemistry.* 2:99-122.
- Teixeira, W. F., Fagan, E. B., Soares, L. H., Umburanas, R. C., Reichardt, K., Neto, D. D. (2017). Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Front. Plant Sci.* 8, 327.
- Teixeira, G. C. M., de Mello Prado, R., Oliveira, K. S., D'Amico-Damião, V., da Silveira Sousa Junior, G. (2020). Silicon increases leaf chlorophyll content and iron nutritional efficiency and reduces iron deficiency in sorghum plants. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 20, 1311-1320.
- Vandeger, R. K., Zhao, C., Cibils-Stewart, X., Wuhner, R., Hall, C. R., Hartley, S. E., Johnson, S. N. (2021). Silicon deposition on guard cells increases stomatal sensitivity as mediated by K^+ efflux and consequently reduces stomatal conductance. *Physiol. Plant.* 171(3), 358-370.
- Vaculík, M., Pavlovič, A., Lux, A. (2015). Silicon alleviates cadmium toxicity by enhanced

- photosynthetic rate and modified bundle sheath's cell chloroplasts ultrastructure in maize. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 120, 66–73.
- Verma, K. K., Anas, M., Chen, Z., Rajput, V. D., Malviya, M. K., Verma, C. L., Li, Y. R. (2020). Silicon supply improves leaf gas exchange, antioxidant defense system and growth in *Saccharum officinarum* responsive to water limitation. *Plants*. 9(8), 1032.
- Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Front. Plant Sci.* 7, 2049.
- Yamaji N, Chiba Y, Mitani-Ueno N, Ma J.F. (2012) Functional characterization of a silicon transporter gene implicated in silicon distribution in barley. *Plant Physiol.* 160 (3): 1491-1497.
- Yemm E.W., Cocking E.C., Ricketts R.E. (1995). The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst*. 80(948): 209-214.
- Wellburn AR. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b as well total carotenoids, using various solvents with spectrophotometer of different resolution. *J. Plant Physiol.* 144: 307-313.
- Woltz, S. S., Jackson, C. R. (1961). Production of yellow strapleaf of chrysanthemum & similar disorders by amino acid treatment. *Plant Physiol.* 36(2), 197.
- Xie, Z., Song, F., Xu, H., Shao, H., Song, R. (2014). Effects of silicon on photosynthetic characteristics of maize (*Zea mays* L.) on alluvial soil. *Sci. World J.*, 2014.
- Zhang, W., Xie, Z., Lang, D., Cui, J., Zhang, X. (2017). Beneficial effects of silicon on abiotic stress tolerance in legumes. *J. Plant Nutr.* 40(15), 2224-2236.