

## Efecto de la nanobiofortificación con hierro en el rendimiento y compuestos bioactivos en pepino

Reyna Roxana Guillén-Enríquez<sup>1</sup>  
Lamberto Zuñiga-Estrada<sup>2</sup>  
Damaris Leopoldina Ojeda-Barrios<sup>3</sup>  
Tomas Rivas-García<sup>4</sup>  
Radamés Trejo-Valencia<sup>5</sup>  
Pablo Preciado-Rangel<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México-*Campus* Instituto Tecnológico de Torreón. Antigua Carretera Torreón-San Pedro km 7.5, Torreón, Coahuila, México. (reguillen@outlook.com). <sup>2</sup>Campo Experimental Las Huastecas-INIFAP. Carretera Tampico-Mante km 55, Villa Cuauhtémoc, Tamaulipas, México. CP. 89610. (Izunigae@hotmail.com). <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agrotecnológicas-Universidad Autónoma de Chihuahua- *Campus* Universitario I. Chihuahua, México. CP. 31350. (dojeda@uach.mx). <sup>4</sup>CONACYT-Universidad Autónoma Chapingo. Carretera Federal México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, México. CP. 56230. (tomas.rivas@conacyt.mx). <sup>5</sup>Tecnológico Nacional de México-*Campus* Instituto Tecnológico de Minatitlán. Blvd. Institutos Tecnológicos S/N, Col. Buena Vista Norte, Minatitlán, Veracruz, México. CP. 96848. (radamestv@hotmail.com).

§Autor para correspondencia: ppreciador@yahoo.com.mx.

### Resumen

El hierro (Fe) es un micronutriente indispensable para los seres vivos. No obstante, y a pesar de que es uno de los metales más abundantes en la corteza terrestres, existe baja disponibilidad para los cultivos, provocando un déficit en la alimentación de alrededor de dos millones de personas en el mundo. La nanobiofortificación puede mitigar esta deficiencia ya que su aplicación en los cultivos mejora la biosíntesis de compuestos bioactivos y propicia su bioacumulación. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación foliar de nanopartículas de Fe (NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) sobre el rendimiento y la biosíntesis de compuestos bioactivos en frutos de pepino. Cuatro tratamientos fueron aplicados vía foliar: 0, 50, 75 y 100 mg L<sup>-1</sup> de NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. La aspersión foliar con NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> mejoró el rendimiento y la biosíntesis de compuestos bioactivos en frutos de pepino, al aumentar 38.99% el rendimiento, 30.18% la biosíntesis de compuestos y un incremento de 23.26% de Fe en frutos. La aspersión foliar de NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> es una alternativa para incrementar la producción agrícola disminuyendo la deficiencia de Fe, al mismo tiempo, mejorando la biosíntesis de compuestos bioactivos con el fin de garantizar la seguridad alimentaria y nutricional.

**Palabras clave:** *Cucumis sativus* L., compuestos bioactivos, nanopartículas.

Recibido: junio de 2022

Aceptado: agosto de 2022

## Introducción

El hierro (Fe) es un micronutriente indispensable para los seres vivos; en las plantas participa en la fotosíntesis, respiración, procesos enzimáticos, conversión del estado de oxidación, ciclo celular, transporte y almacenamiento de oxígeno, síntesis de hormonas y ADN (Zhou y Tan, 2017). A pesar de que en la corteza terrestre se encuentran altas concentraciones de Fe, existen deficiencias de este elemento en los cultivos ya que no siempre está en formas disponibles para las plantas (Konate *et al.*, 2018).

Lo anterior causa que los alimentos de origen vegetal presenten baja concentración de este oligoelemento generando problemas de salud a dos millones de personas en el mundo, siendo la anemia la principal patología nutricional (43% niños, 40% mujeres embarazadas y 33% mujeres no embarazadas) (Lowry *et al.*, 2019). La ingesta diaria para prevenir déficit de Fe es de 0.27 a 10 mg día<sup>-1</sup> para niños y 11 a 27 mg día<sup>-1</sup> para adultos (Abbasifar *et al.*, 2020). Las alternativas utilizadas para mitigar esta situación incluyen el uso de suplementos de Fe y productos fortificados, los cuales no han logrado reducir el déficit de este oligoelemento, debido principalmente al costo de los productos (Tripathi y Mishra, 2020).

La utilización de nanopartículas metálicas, han demostrado incrementos en la germinación, resistencia al estrés, aumento en la absorción de nutrimentos y crecimiento de la planta (Yusefi-Tanha *et al.*, 2020). Además, disminuyen la contaminación y degradación del suelo provocado por el uso excesivo de fertilizantes químicos (Wang *et al.*, 2018). Las nanopartículas de Fe (NPs Fe) pueden incrementar la producción y la calidad de los cultivos (Hu *et al.*, 2017) ya que son altamente efectivos al ser asperjados en las plantas, reduciendo así el impacto de los productos químicos en el ambiente (Sega *et al.*, 2019).

Rui *et al.* (2016) afirma que las NPs de Fe pueden sustituir a los fertilizantes de Fe en plantas de *Arachis hypogaea*. Diversos estudios demuestran que las de NPs de óxido de hierro (NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) incrementan la biomasa y el rendimiento hasta un 48% en plantas de *Glycine max* (Sheykhbaglou *et al.*, 2010). Así como, los azúcares, proteínas y clorofila en *Cucumis melo L* (Wang *et al.*, 2016), también incrementa el nivel de fitohormonas en *Oryza sativa* (Li *et al.*, 2021). Algunos estudios han reportado la interesante participación del Fe en la generación de radical hidroxil (OH) a través de la reacción de Fenton que causa daño en las plantas (Konate *et al.*, 2018).

También afecta el contenido de Malondialdehído (MDA), actividad de las enzimas antioxidantes incluyendo superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y peroxidasa (POD), así como, en otros compuestos bioactivos en la planta (Moradbeygi *et al.*, 2020). Actualmente se ha reportado el efecto positivo de aspersión foliar de las NPs de Fe en el crecimiento, desarrollo y producción calidad de algunos cultivos; no obstante, muchas rutas metabólicas no se han comprendido en su totalidad (Xiong *et al.*, 2017).

Por lo que, es necesario realizar mayores investigaciones para comprender el efecto de las NPs en la producción agrícola (Shakoor *et al.*, 2022), debido a que su efecto depende de la especie química utilizada, la concentración, tamaño de NPs, biosíntesis, la vía y etapa de aplicación (Lu *et al.*, 2020). Por otro parte, el cultivo de pepino (*Cucumis sativus L.*), ocupa 10% de la superficie total de los invernaderos en México (Valencia *et al.*, 2018). Además, sus frutos contienen diversas

propiedades organolépticas, los cuales son una fuente de minerales, fibra, vitaminas y compuestos con actividad antioxidante (Preciado-Rangel *et al.*, 2019). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación foliar de NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en el rendimiento y calidad nutracéutica en el cultivo de pepino.

## **Materiales y métodos**

### **Sitio de estudio y material vegetativo**

El experimento fue establecido en un invernadero ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN)-Unidad Laguna. Se usaron semillas de pepino de la variedad Poinsett 76 (Southern Start Seeds), de crecimiento indeterminado. El cultivo fue establecido por siembra directa en bolsas negras de polietileno con capacidad de 10 L, el sustrato utilizado fue arena y perlita en relación 80:20. El cultivo se guío a un solo tallo, el riego y la nutrición fue con la solución nutritiva (SN) Steiner (1961), la cual presentaba una conductividad eléctrica de 2 dS m<sup>-1</sup> y un pH de 5.5.

### **Caracterización de las nanopartículas**

Las nanopartículas de óxido de hierro (NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), fueron donadas por la Compañía Mexicana Investigación y Desarrollo de Nanomateriales SA de CV. Las NPs utilizadas fueron sintetizadas por método químico húmedo en la forma de nanopartículas de óxido de hierro (maghemita:  $\gamma$ -Fe<sub>3</sub>O<sub>3</sub>), el tamaño de las nanopartículas tiene un promedio menor a 50 nm, un nivel de pureza de 99.7% y una densidad de 5.81 g cm<sup>-3</sup> (Gutiérrez-Ruela *et al.*, 2021).

### **Diseño experimental y tratamientos**

El diseño experimental utilizado fue unos bloques al azar. Los tratamientos consistieron en la aplicación foliar de NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0, 50,75 y 100 mg L<sup>-1</sup>) con seis repeticiones. La aplicación foliar de las NPs fue realizada en cuatro ocasiones en las primeras horas de la mañana cada 15 días después de la siembra. La cosecha de los frutos fue realizada a partir de los 70 días después de la siembra. Se evaluaron el rendimiento, la calidad comercial y nutracéutica, adicionalmente se cuantifico la acumulación de Fe en los frutos.

### **Variables evaluadas**

Los frutos de diez plantas de cada tratamiento fueron cosechados, contabilizándose el peso, longitud y diámetro de los frutos. Posteriormente, de cada tratamiento se seleccionaron al azar ocho frutos para el análisis de la calidad comercial y nutracéutica.

### **Biomasa, rendimiento, sólidos solubles totales y firmeza**

El rendimiento (RE), se determinó cosechando el total de frutos por planta, utilizando una balanza digital (VE-CB2000, Velab), expresando el rendimiento en kilogramos por planta. La firmeza del fruto (FF) se midió utilizando un penetrómetro (FHT200, Extech instruments) con el émbolo de ocho mm en cuatro frutos de cada repetición, los frutos fueron colocados en una

superficie plana y dura, se hicieron tres penetraciones, mismas que fueron promediadas registrándose como fuerza máxima de compresión (N). Los sólidos solubles de los frutos (SST), fueron cuantificados en tres frutos por repetición para realizar una muestra compuesta, se colocaron tres gotas del jugo en un refractómetro (MASTER-53 $\alpha$ , ATAGO<sup>®</sup>) para promediarse y se obtuvo la lectura expresada como Brix.

### **Índice de clorofila**

El índice de contenido relativo de clorofila se midió a los 30 días después del trasplante usando el equipo Minolta SPAD-502. Se tomaron cinco hojas completamente expandidas (sin daños físicos y evitando las nervaduras) de cada planta y cuatro plantas por tratamiento en las etapas de floración y cosecha. Los resultados fueron expresados en unidades de SPAD.

### **Pigmentos fotosintéticos**

Los pigmentos fotosintéticos se determinaron de acuerdo con la metodología reportada por Palacio-Márquez *et al.* (2021). Se tomaron muestras foliares durante la floración de siete mm de diámetro, evitando las nervaduras, se pesaron 0.125 g en tubos de ensayo. Después, se agregaron 10 ml de metanol y se dejó reaccionar por 24 h en la oscuridad. Finalmente, se leyó a una absorbancia de 666, 653 y 470 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (VE-5100UV, VELAB). Los resultados se expresaron en mg g<sup>-1</sup> de peso fresco (PF) y calculados con las siguientes fórmulas: Chla= [15.65(A666)-7.34(A653)]. Chlb= [27.05(A653) -11.21(A666)].

### **Preparación de extractos para la calidad nutracéutica**

La extracción de las muestras para la determinación de Fenoles totales, Flavonoides y actividad antioxidante se realizó siguiendo la metodología reportada por (Cardeño, 2007), 2 g de muestra fresca fueron homogenizados con 10 ml de etanol al 80% (v:v). Se agregó la muestra homogenizada en tubos de ensayo y se agitaron durante 30 s en Vortex, se dejaron reposar durante 24 h en un agitador rotatorio (HZ-300) a 70 rpm y a temperatura ambiente. Las extracciones se realizaron por tratamiento y triplicado cada repetición.

### **Compuestos bioactivos**

#### **Fenoles totales**

El contenido fenólico se determinó mediante una modificación del método colorimétrico de Folin-Ciocalteau (Singleton *et al.*, 1999). 50  $\mu$ l, se diluyeron en 3 ml de H<sub>2</sub>O destilada, después se agregaron 250  $\mu$ l de Folin-Ciocalteau, se usó un vortex por 30 s y se dejaron reaccionar por 3 min. Subsecuentemente, 750  $\mu$ l de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.5%) y se agregaron 950  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O destilada. Se cuantificaron por triplicado por repetición en el espectrofotómetro (VE-5100UV, Velab) con la absorbancia a 765 nm, se preparó una solución estándar de ácido gálico, los resultados se expresaron en mg equivalentes GA 100 g<sup>-1</sup> de peso fresco (PF).

## Flavonoides totales

Los flavonoides totales se determinaron mediante un método colorimétrico reportado (Singleton *et al.*, 1999). Se tomaron 250  $\mu\text{l}$  de extracto, se mezclaron con 1.25 ml de agua destilada y 75  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaNO}_2$  (5%). Se dejaron reposar 5 min, se agregaron 150  $\mu\text{l}$  de  $\text{AlCl}_3$  (10%) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE UU). Después se agregaron 500  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaOH}$  1M, 275  $\mu\text{l}$  de agua destilada y se agitó vigorosamente. Las muestras se cuantificaron por triplicado por repetición en el espectrofotómetro (Velab, VE-5100UV) con la absorbancia a 510 nm, se preparó una solución estándar de quercetina. Los resultados se expresaron en  $\text{mg QE g}^{-1}$  PF.

## Actividad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó utilizando el método de  $\text{DPPH}^+$  (Aldrich) *in vitro* según Brand-Williams *et al.* (1995). Una solución de  $\text{DPPH}^+$  (Aldrich) en etanol fue preparada a una concentración de  $0.025 \text{ mg ml}^{-1}$ . 50  $\mu\text{l}$  del extracto se mezcló con 1.95  $\mu\text{l}$  de la solución de  $\text{DPPH}^+$ , después se dejó en reposo por 30 min. Se cuantificaron por triplicado por repetición en el espectrofotómetro (VE-5100UV, VELAB) con la absorbancia a 517 nm. Los resultados se expresaron  $\mu\text{M}$  equivalente de Trolox  $100 \text{ g}^{-1}$  PF.

## Vitamina C

La vitamina C (ácido ascórbico) se determinó por el método de acuerdo con Hernández-Hernández *et al.* (2019). 10 g de pulpa se trituro con 10 ml de ácido clorhídrico (2%), después se filtró y se aforo con 100 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada. Se tomaron 10 ml de la solución filtrada y se tituló utilizando una solución de 2,6 diclorofenolindofenol ( $1 \times 10^{-3}$  N). La concentración se expresa en  $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$  PF.

## Proteínas totales

Para la determinación de la proteína total, 3 g de muestra fresca fueron homogenizados en un mortero colocado sobre hielo, agregando 0.1 g de polivinilpolipirrolidona (PVP) y 3 ml de una solución de sodio-potasio (100 mM, pH 7 y 0.1 mM de EDTA) como buffer de extracción, después se centrifugó a 1 200 rpm a  $5^\circ\text{C}$  por 5 min. El sobrenadante fue usado para determinar la proteína total por medio del método de Bradford (1976) usando albúmina de suero bovino como estándar. Los resultados se expresaron en  $\text{mg g}^{-1}$  PF.

## Contenido foliar de hierro

El contenido se determinó mediante una digestión ácida. Se pesó 0.5 g de tejido foliar y 1 g de pulpa seca en un crisol de porcelana, después, se colocaron en una mufla horno (Thermo Scientific, Thermolyne) por 4 h a  $600^\circ\text{C}$ , las cuales se empezaron a contar a partir de la temperatura de  $200^\circ\text{C}$ . Al término del tiempo, se pre-calcaron las muestras en un mechero, finalmente se le añadió 5 ml de  $\text{HCl}$  a una concentración de 20% y se filtró usando papel filtro ultrafino (Whatman) en matraces volumétricos de 50 ml aforando con agua desionizada. La concentración de hierro se midió con un espectrofotómetro de plasma óptico inductivamente acoplado (ICP-OES) serie 700 Agilent Technologies. Los resultados se expresaron en  $\text{mg kg}^{-1}$  de materia seca (MS).

## Análisis estadístico

Los datos de las variables respuesta fueron analizados mediante análisis de varianza y comparación de medias con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) utilizando el paquete estadístico Statistical Analysis System Institute (SAS) versión 9.3.

## Resultados y discusión

### Rendimiento

La aspersión foliar de NPs  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  afectó el rendimiento y la calidad de los frutos de pepino (Cuadro 1). Con la aplicación de  $75 \text{ mg L}^{-1}$ , se logró la mayor longitud del fruto, SST y RE superando en 38.99% al control. Drostkar *et al.* (2016) aplicaron NPs Fe en el cultivo de *Cicer arietinum* como resultado se observó un incremento en el RE en comparación con los tratamientos sin la aplicación de NPs. Los resultados anteriores se explican por el tamaño de la nanopartícula el cual facilita su absorción, así como, su concentración adecuada para el metabolismo de la planta (Kandpal *et al.*, 2014).

**Cuadro 1. Rendimiento, longitud de fruto, firmeza, sólidos solubles totales, SPAD, clorofila y proteína total en frutos de pepino, debido a la aplicación foliar de NPs  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ .**

NPs $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Rendimiento ( $\text{kg ha}^{-1}$ )	Longitud del fruto (cm)	Firmeza (N)	SST ( $^{\circ}\text{Brix}$ )	SPAD	Clorofila total ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Proteína total ( $\text{mg ml}^{-1}$ )
0	2.18 c	16.76 c	0.21 c	3 c	29.93 c	30.32 c	0.023 c
50	2.55 b	20.11 a	0.38 a	4.16 ab	35.01 b	39.07 b	0.027 bc
75	3.03 a	20.66 a	0.3 b	4.68 bc	37.76 b	42.99 b	0.036 ac
100	2.3 b	18.71 b	0.25 b	3.83 abc	40.98 a	48.73 a	0.039 a

Valores con letras iguales en cada columna son estadísticamente similares (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

Por consiguiente, el RE y crecimiento del fruto podría verse afectado por las NPs alterando sus actividades biológicas provocando las variaciones (Kanwar *et al.*, 2019). Por lo tanto, son necesarios mayores estudios para poder explicar los efectos fisiológicos que tiene el uso de NPs metálicas, al mismo tiempo, es importante optimizar la dosis de NPs Fe considerando el impacto que tiene este elemento en la nutrición y desarrollo del cultivo (Yuan *et al.*, 2018; Shakoor *et al.*, 2022).

### Calidad comercial de frutos

El mayor tamaño de los frutos de pepino fue obtenido con la aplicación foliar de  $75 \text{ mg L}^{-1}$  de NPs  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , superando en 23.26% al tratamiento sin aplicación de NPs (Cuadro 1). Nuestros resultados fueron similares dentro de los rangos para la comercialización. El tamaño adecuado de los frutos de pepino para su comercialización fluctúa entre los 20 a 25 cm, no debe ser inferior a 15 cm de longitud, mientras que el diámetro ecuatorial debe ser de 5 a 5.7 no excediendo los 6 (Valencia *et al.*, 2018).

En cambio con una dosis superior de NPs ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ), disminuye el tamaño de los frutos, esto podría ser debido a la biodisponibilidad y alta solubilidad de las NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , la cual mientras la dosis de NPs sea mayor, la absorción y facilidad de transporte de los nutrientes en la planta podría ser menor (Moradbeygi *et al.*, 2020). Respecto a la firmeza y los SST, estos fueron afectados positivamente por la aspersión foliar de NPs  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (Cuadro 1), obteniendo la mayor firmeza en el fruto con  $50 \text{ mg L}^{-1}$  y en SST con la dosis de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ . De acuerdo con Valencia *et al.* (2018), el promedio de  $4.76^\circ\text{Brix}$  es el estándar adecuado para la calidad del fruto de pepino.

El incremento del contenido de TSS según Rawat *et al.* (2017) es debido a la aplicación foliar de NPs  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  lo cual induce a una mejor eficiencia en la regulación de la enzima Rubisco afectando en un incremento el contenido de clorofila, por ende, aumentando la foto-asimilación en los frutos por el rango de fotosíntesis obteniendo un mejor crecimiento y bioacumulación.

### Valores SPAD y clorofila total

La aspersión foliar de NPs Fe, afectó significativamente el índice de clorofila y la clorofila total. Con la aplicación de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  superó 35.24% en valores SPAD y 60.71% en la clorofila total en comparación al tratamiento control (Cuadro 1). Se ha reportado por Rui *et al.* (2016) un incremento en las unidades SPAD, al incrementar la dosis de NPs  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  y por Wang *et al.* (2019) un aumento en el contenido de clorofila total con la aplicación de NPs Fe, lo que significa según la dosis aplicada se puede corregir rápidamente la deficiencia de Fe en plantas. También, Sharma *et al.* (2012) reportó un incremento del contenido de clorofila en *B. juncea* tratadas con  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de NPs metálicas.

Es evidente que el Fe tiene influencia directa en la concentración de clorofila y esta se ve afectada según la concentración de NPs (Kanwar *et al.*, 2019). No obstante, se ha demostrado que la tendencia del contenido de clorofila a través de las etapas se encuentra en un constante decrecimiento-incremento-intercambio (Wang *et al.*, 2019). Entonces, según Rawat *et al.* (2017) dependiendo de la concentración, etapa de la planta y el tiempo de aplicación se promueve la concentración de compuestos como el contenido de clorofila.

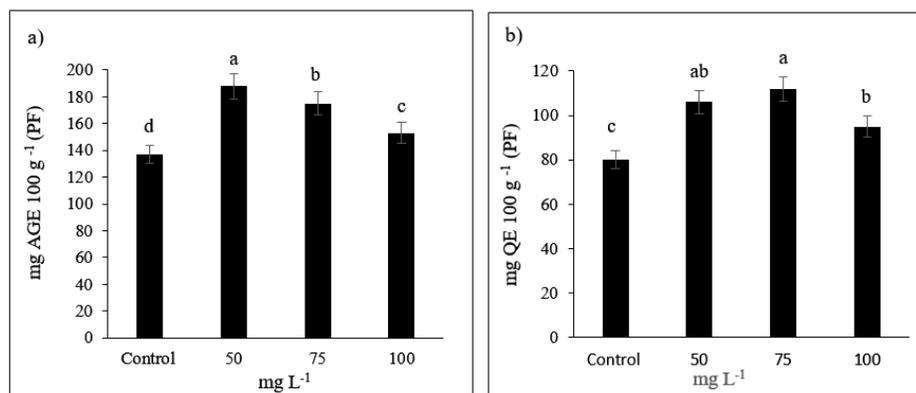
### Proteínas totales

La aspersión foliar de NPs  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , afectó significativamente el contenido de proteínas totales (Cuadro 1). Con la dosis de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  se superó 69% a los valores obtenidos sin la aplicación de NPs  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Se ha reportado en *Pisum sativum* con la aplicación de NPs Fe, en comparación del tratamiento control (Gutiérrez-Ruelas *et al.*, 2021). Las proteínas solubles totales son producidas por las plantas para adaptarse al ambiente (Shang *et al.*, 2013), a su vez se producen cuando existe un estrés ambiental aumentando la concentración de proteínas o antioxidantes, estos últimos son claves para eliminar los radicales libres (Wang *et al.*, 2019).

### Compuestos bioactivos

Con la aplicación foliar de NPs  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  se obtuvo un incremento en la biosíntesis de compuestos bioactivos (Figura 1). Los compuestos fenólicos y flavonoides, son reconocidos por los beneficios en la salud humana (Elkhatim *et al.*, 2018). En el presente estudio, la mayor concentración de compuestos fenólicos fue lograda con las dosis de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  superando 27.12 % al control (Figura

1a). Mientras que los flavonoides obtuvieron la mayor concentración con 75 mg L<sup>-1</sup> superando un 30.18% al control (Figura 1b). Similares resultados son reportados en investigaciones por Mogazy *et al.* (2022) en *Fragaria ananassa* y en *Cucumis melo* L (Wang *et al.*, 2019). En *Arachis hypogaea* se reporta una mayor actividad antioxidante (Rui *et al.*, 2016); sin embargo, altas concentraciones de NPs Fe, reducen los antioxidantes no enzimáticos.



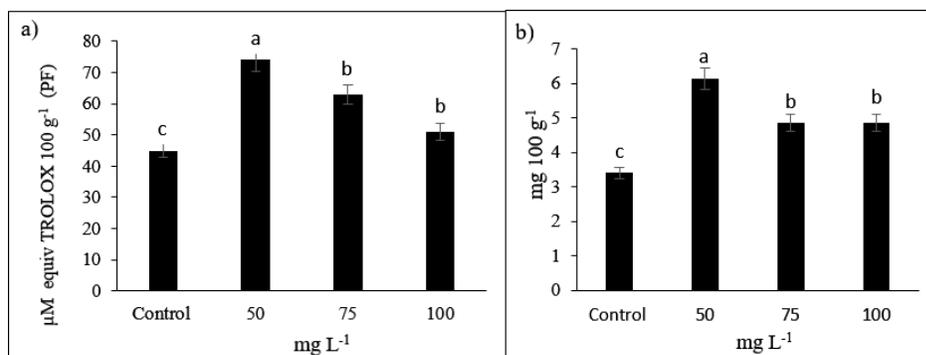
**Figura 1. Efecto del NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sobre el contenido de compuestos fenólicos (a) y flavonoides (b) en frutos de pepino.** Las columnas con letras diferentes difieren estadísticamente entre ellas (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

Los anteriores resultados se pueden explicar mediante el funcionamiento regulador del hierro en: 1) catalizador de la sobreproducción de ROS tal como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por Haber-Weiss, por consiguiente, afectando a la línea de defensa enzimática (CAT, POD y SOD) y en la reacción de Fenton (Mosa *et al.*, 2018); 2) formación de MDA, peroxidación lipídica (Konate *et al.*, 2018); y 3) interacción en la cera cuticular debido a la aplicación foliar de NPs de Fe, así como, también los genes involucrados en la síntesis de cera intracelular y el transporte (Hu *et al.*, 2017).

La respuesta de los cultivos a las NPs de Fe depende de la dosis ya que esta puede afectar diversas rutas metabólicas (Yuan *et al.*, 2018). Otros reportes indican que el efecto positivo de las NPs de Fe es más evidente cuando existe un estrés (Moradbeygi *et al.*, 2020). Por lo tanto, se considera que el Fe es un elemento de regulación en cultivos dependiente de la dosis permitiendo mecanismos de adaptación metabólica y fisiológica mientras no pase su límite de toxicidad, ya que funciona como una respuesta al estrés oxidativo causado por los radicales bajo las condiciones de estrés (Hasanuzzaman *et al.*, 2020).

### Capacidad antioxidante y vitamina C

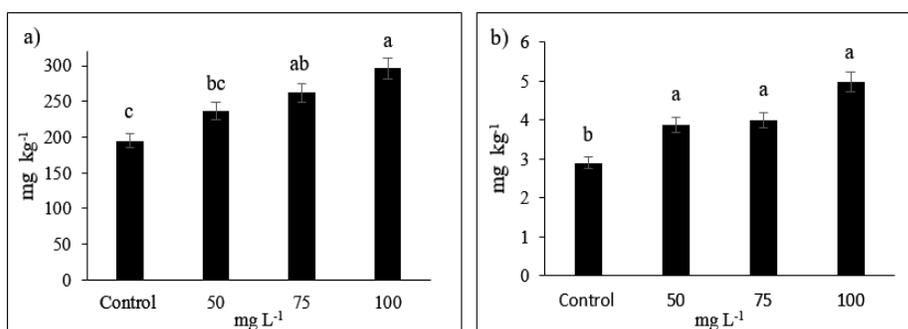
La aspersión foliar de NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> afectó positivamente la capacidad antioxidante y el ácido ascórbico (Figura 2). La mayor concentración de capacidad antioxidante se obtuvo con la aplicación de 50 mg L<sup>-1</sup> de NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> superior en 39.18% al control, con esta misma dosis se obtuvo el mayor contenido de vitamina C superando un 50% al contenido en los frutos del control. Wang *et al.* (2019) reportaron un incremento de 46.95% el contenido de vitamina C. Las NPs Fe producen un estrés oxidativo, lo que activa una serie de mecanismos antioxidantes estimulando la formación de ROS (Konate *et al.*, 2018).



**Figura 2. Efecto del NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sobre la actividad antioxidante (a) y el contenido de ácido ascórbico (b) en frutos de pepino.** Las columnas con letras diferentes difieren estadísticamente entre ellas (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

### Contenido de Fe

La aspersión foliar de NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, aumentó significativamente el contenido foliar de Fe en el cultivo de pepino (Figura 3). La mayor concentración de Fe en hojas y en fruto se encontró con la dosis de 100 mg L<sup>-1</sup>, superando en 52.3% y 71.37% al control. Se reporta que la aspersión foliar de 100 mg L<sup>-1</sup> NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en *Citrus maxima* incrementó 44.7% el contenido de Malondialdehído (Hu *et al.*, 2017), el contenido de Fe en 103% en *Raphanus sativus* (Shakoor *et al.*, 2022).



**Figura 3. Contenido mineral de hierro foliar (a) y fruto (b) con la aplicación de NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.** Las columnas con letras diferentes difieren estadísticamente entre ellas (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

Por consiguiente, los resultados anteriores se deben a que la mayoría de las NPs están atrapadas en la cera superficial promoviendo la formación de racimos y aglomerados (Hu *et al.*, 2017). Por lo cual, la aspersión de NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> afecta el desarrollo de la planta, estos se asocian a la aplicación de la dosis y su integración a su sistema vía foliar (Lu *et al.*, 2020). La nanobiofortificación del cultivo de pepino es una alternativa para complementar la nutrición humana al incrementar el contenido de Fe en los frutos, el cual puede ser utilizado por humanos para la producción de energía, utilización/transporte de oxígeno y proliferación celular (Lynch *et al.*, 2018).

Las dosis utilizadas podrían aportar a satisfacer los requerimientos diarios de 7.8-10 mg día<sup>-1</sup> para infantes, adolescentes de 11-15 mg día<sup>-1</sup> y adultos de 10-20 mg día<sup>-1</sup> (Blanco-Rojo y Vaquero, 2018). Evitando riesgos cardiovasculares, enfermedades crónicas, disminuyendo los casos de anemia y mortalidad (Blanco-Rojo y Vaquero, 2018).

## Conclusiones

La aplicación foliar con NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> mejoró el rendimiento, el contenido de compuestos bioactivos y su bioacumulación, así como el contenido de Fe en frutos de pepino. El mayor rendimiento y biosíntesis de compuestos bioactivos fue logrado con los tratamientos de 50 y 75 mg L<sup>-1</sup> de NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 50, mientras que con 100 mg L<sup>-1</sup> se logró la mayor concentración de Fe en hojas y frutos. La aspersión foliar de NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> es una alternativa para incrementar la producción y la biosíntesis de compuestos bioactivos, además de propiciar su bioacumulación de Fe en frutos de pepino.

## Agradecimientos

Reyna Roxana Guillén Enríquez agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) el apoyo económico para continuar su preparación en el Doctorado en Ciencias del Agua y Suelos en el Instituto Tecnológico de Torreón (ITT). Así como, también la asistencia técnica del laboratorio y el asesoramiento. Al mismo tiempo, agradece la colaboración con Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) y al Departamento de Agroecología por las facilidades brindadas para el desarrollo del presente estudio.

## Literatura citada

- Abbasifar, A.; Shahrabadi, F. and ValizadehKaji, B. 2020. Effects of green synthesized zinc and copper nano-fertilizers on the morphological and biochemical attributes of basil plant. *J. Plant Nutr.* 43(8):1104-1118.
- Blanco, R. R. and Vaquero, M. P. 2018. Iron bioavailability from food fortification to precision nutrition. A review. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 51(1):126-138.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72(1-2):248- 254.
- Brand, W. W.; Cuvelier, M. E. and Berset, C. L. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28(1):25-30.
- Cardeño, Á. V.; Molina, M. C.; Miranda, I.; García, G. T.; Morales, J. M. and Stashenko, E. E. 2007. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*. *Scientia et Technica.* 13(33):205-207.
- Drostkar, E. Talebi, R. and Kanouni, H. 2016. Foliar application of Fe, Zn and NPK nano-fertilizers on seed yield and morphological traits in chickpea under rainfed condition. *J. Res. Ecol.* 4(2):221-228.
- Elkhatim, K. A.; Elagib, R. A. and Hassan, A. B. 2018. Content of phenolic compounds and vitamin C and antioxidant activity in wasted parts of Sudanese citrus fruits. *Food Sci. Nutr.* 6(5):1214-1219.
- Gutiérrez, R. N. J.; Palacio, M. A.; Sánchez, Ch. E.; Muñoz, M. E.; Chávez, M. C.; Ojeda, B. D. L. and Flores, C. M. A. 2021. Impact of the foliar application of nanoparticles, sulfate and iron chelate on the growth, yield and nitrogen assimilation in green beans. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca.* 49(3):12437-12437.
- Hasanuzzaman, M.; Bhuyan, M. B.; Raza, A.; Hawrylak, N. B.; Matraszek, G. R.; Mahmud, J.; Nahar, K. and Fujita, M. 2020. Selenium in plants: boon or bane? *Environ. Exp. Bot.* 178(10):1-41.

- Hu, J.; Guo, H.; Li, J.; Wang, Y.; Xiao, L. and Xing, B. 2017. Interaction of  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles with *Citrus maxima* leaves and the corresponding physiological effects via foliar application. *J. Nanobiotechnol.* 15(1):1-12.
- Kandpal, N. D.; Sah, N.; Loshali, R.; Joshi R. and Prasad, J. 2014. Co-precipitation method of synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles. *J. Sci. Industrial Res.* 73(2):87-90.
- Konate, A.; Wang, Y.; He, X.; Adeel, M.; Zhang, P.; Ma, Y.; Ding, Y.; Zhang, J.; Yang, J.; Kizito, S.; Rui, Y. and Zhang, Z. 2018. Comparative effects of nano and bulk-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> on the growth of cucumber (*Cucumis sativus* L). *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 165(9):547-554.
- Li, M.; Zhang, P.; Adeel, M.; Guo, Z.; Chetwynd, A. J.; Ma, C.; Bai, T.; Hao, Y. and Rui, Y. 2021. Physiological impacts of zero valent iron, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles in rice plants and their potential as Fe fertilizers. *Environ. Pollution.* 269(1):116134-116146.
- Lowry, G. V.; Avellan, A. and Gilbertson, L. M. 2019. Opportunities and challenges for nanotechnology in the Agri-Tech Revolution. *Nature Nanotechnol.* 14(6):517-522.
- Lu, K.; Shen, D.; Liu, X.; Dong, S.; Jing, X.; Wu, W. and Mao, L. 2020. Uptake of iron oxide nanoparticles inhibits the photosynthesis of the wheat after foliar exposure. *Chemosphere.* 259(1):127445-127453.
- Mogazy, A. M.; Mohamed, H. I. and Mahdy, O. M. 2022. Calcium and iron nanoparticles: a positive modulator of innate immune responses in strawberry against botrytis cinerea. *Process Biochem.* 115(1):128-145.
- Moradbeygi, H.; Jamei, R.; Heidari, R. and Darvishzadeh, R. 2020. Investigating the enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense by applying iron oxide nanoparticles in *dracocephalum moldavica* L. plant under salinity stress. *Sci. Hortic.* 272(1):109537-109545.
- Mosa, K. A.; Naggar, M.; Ramamoorthy, K.; Alawadhi, H.; Elnaggar, A.; Wartanian, S.; Ibrahim, E. and Hani, H. 2018. Copper nanoparticles induced genotoxicity, oxidative stress, and changes in superoxide dismutase (SOD) gene expression in cucumber (*Cucumis Sativus* L.) *Frontiers Plant Sci.* 9(7):1-13.
- Preciado, R. P.; Valenzuela, G. A. A.; Pérez, G. L. A.; González, S. U.; Ortiz, D. S. A.; Buendía, G. A.; Edgar, O. y Rueda, P. 2022. La biofortificación foliar con hierro mejora la calidad nutracéutica y la capacidad antioxidante en lechuga. *Terra Latinoam.* 40(1):1-7.
- Rawat, M.; Nayan, R.; Negi, B.; Zaidi, M. G. H. and Arora, S. 2017. Physio-biochemical basis of iron-sulfide nanoparticle induced growth and seed yield enhancement in *B. Juncea*. *Plant Physiol. Biochem.* 118(1):274-284.
- Rui, M. Ma, C. Hao, Y. Guo, J. Rui, Y. Tang, X. and Sperotto, R. A. 2016. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*). *Frontiers Plant Sci.* 7(9):1-10.
- Sega, D.; Ciuffreda, G.; Mariotto, G.; Baldan, B.; Zamboni, A. and Varanini, Z. 2019. FePO<sub>4</sub> nanoparticles produced by an industrially scalable continuous-flow method are an available form of P and Fe for cucumber and maize plants. *Scientific Reports.* 9(1):1-13.
- Shakoor, N.; Adeel, M.; Zain, M.; Zhang, P.; Arslan, M.; Farooq, T.; Zhou, P.; Azeem, I.; Rizwan, M.; Guo, K.; Jilani, G.; Ahmar, S.; Maqbool, S. and Ming, X. 2022. Iron-based nanoparticles enhances its nutritional quality by triggering the essential elements. *NanoImpact.* 25(1):100388-100393.
- Shang, F. F.; Zhao, X. P.; Chang, W. U.; Li, Y. W. U.; Hou, Q. and Wang, Q. 2013. Effects of chlorpyrifos stress on soluble proteins and some related metabolic enzyme activities in different crops. *J. China Agricultural University.* 18(4):105-110.

- Singleton, V. L.; Orthofer, R. and Lamuela, R. R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299(14):152-178.
- Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*. 15(1):134-154.
- Tripathi, A. and Mishra, S. 2020. An estimation of price effects of making food fortification mandatory in India. *Food and Nutrition Bulletin*. 41(3):355-366.
- Valencia, R. T.; Acosta, L. S.; Hernández, M. F.; Rangel, P. P.; Robles, M. Á. G., Cruz, R. C. A. and Vázquez, C. V. 2018. Effect of seaweed aqueous extracts and compost on vegetative growth, yield, and nutraceutical quality of cucumber fruit. *Agronomy*. 8(11):1-13.
- Wang, J.; Ren, T.; Wang, F.; Han, Y.; Liao, M.; Jiang, Z. and Liu, H. 2016. Effects of dietary cadmium on growth, antioxidants and bioaccumulation of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) and influence of dietary vitamin C supplementation. *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 129(1):145-153.
- Wang, X. P.; Li, Q. Q.; Pei, Z. M. and Wang, S. C. 2018. Effects of zinc oxide nanoparticles on the growth, photosynthetic traits, and antioxidative enzymes in tomato plants. *Biologia Plantarum*. 62(4):801-808.
- Wang, Y.; Wang, S.; Xu, M.; Xiao, L.; Dai, Z. and Li, J. 2019. The impacts of  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles on the physiology and fruit quality of muskmelon (*Cucumis melo*) plants. *Environ. Pollution*. 249(1):1011-1018.
- Xiong, T.; Dumat, C.; Dappe, V.; Vezin, H.; Schreck, E.; Shahid, M. and Sobanska, S. 2017. Copper oxide nanoparticle foliar uptake, phytotoxicity, and consequences for sustainable urban agriculture. *Environ. Sci. Technol*. 51(9):5242-5251.
- Yuan, J.; Chen, Y.; Li, H.; Lu, J.; Zhao, H.; Liu, M. and Glushchenko, N. N. 2018. New insights into the cellular responses to iron nanoparticles in *Capsicum annuum*. *Scientific Reports*. 8(1):1-9.
- Yusefi, T. E.; Fallah, S.; Rostamnejadi, A. and Pokhrel, L. R. 2020. Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) as a novel nanofertilizer: influence on seed yield and antioxidant defense system in soil grown soybean (*Glycine max* cv. Kowsar). *Sci. Total Environment*. 738(1):140240-140259.
- Zhou, Z. D. and Tan, E. K. 2017. Iron regulatory protein (IRP) iron responsive element (IRE) signaling pathway in human neurodegenerative diseases. *Molecular Neurodegeneration*. 12(1):1-12.