



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**EFFECTO DEL ÓXIDO DE GRAFENO DOPADO DE NITRÓGENO
EN EL FORRAJE VERDE HIDROPÓNICO DE MAÍZ (*Zea mays*)
AMARILLO.**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

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

P r e s e n t a

Jorge Levi Arellano Huerta

La Paz, Baja California Sur, mayo de 2025.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 17:09 horas del día 25 del Mes de Marzo del 2025, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Efecto del óxido de grafeno dopado de nitrógeno en el forraje verde hidropónico de maíz (*Zea mays*) amarillo"

Presentada por el alumno:

Jorge Levi Arellano Huerta

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Agricultura sustentable**

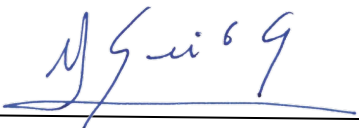
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA



Dr. Luis Hernández Adame
Director /Co-Director de Tesis

Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo
Co-Director/ Co-Tutor

Dr. Luis Guillermo Hernández Montiel
Co-Tutor

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



La Paz, Baja California Sur, a 25 de marzo de 2025.

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

Herramienta antiplagio:
iThenticate

10% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

Filtros utilizados:
Bibliografía, texto citado,
coincidencias pequeñas
(menos de 10 palabras),
abstracto/resumen,
Métodos y materiales

Filtrado del informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Coincidencias pequeñas (menos de 10 palabras)
- ▶ Abstracto
- ▶ Métodos y materiales

Porcentajes de similitud:
10%
Se muestra captura de
pantalla

Fuentes principales

- 10% Fuentes de Internet
- 3% Publicaciones
- 0% Trabajos presentados (Trabajos de estudiantes)

Banderas de integridad

0 indicadores de integridad para revisión

No se encontraron manipulaciones de texto sospechosas.

Director-Co/Directores

Nombre y Firma

Dr. Luis Hernández Adame

Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo

Estudiante

JORGE LEVI ARELLANO HUERTA

Personal técnico de asesoría en el análisis

Ana María Talamantes Cota

Conformación de Comités

Comité Tutorial

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

Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo
Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Co-Directora de Tesis

Dr. Luis Guillermo Hernández Montiel
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Co-Tutor de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dr. Luis Hernández Adame
Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo
Dr. Luis Guillermo Hernández Montiel

Jurado de Examen

Dr. Luis Hernández Adame
Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo
Dr. Luis Guillermo Hernández Montiel

Suplente

Dra. Paola Magallón Servín

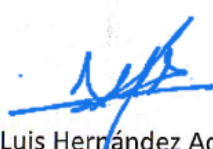
Resumen

Este estudio investiga los efectos del óxido de grafeno dopado de nitrógeno (NOG) en el forraje verde hidropónico de maíz (*Zea mays*), con el objetivo de comprender su impacto en diversos parámetros y evaluar su potencial para incrementar la productividad agrícola de manera sostenible. Se llevó a cabo un experimento en condiciones controladas, donde se aplicaron diferentes concentraciones de NOG a plantas de maíz, evaluando su efecto en la germinación, crecimiento y composición bioquímica. Los resultados mostraron que las plantas tratadas con NOG presentaron una mayor acumulación de proteínas y un crecimiento más robusto en comparación con los controles, lo que sugiere que el NOG puede actuar como un nanofertilizante eficaz. Además, se observó una mejora en la hidratación y resistencia a condiciones de estrés, lo que resalta su potencial para optimizar prácticas agrícolas en un contexto de sostenibilidad. Este estudio contribuye de manera general a la agricultura sustentable al demostrar que la agronanotecnología puede ser una herramienta clave para enfrentar los desafíos actuales del sector agrícola. Las implicaciones de estos hallazgos son significativas, ya que ofrecen nuevas perspectivas sobre el uso de nanomateriales en la mejora de cultivos, promoviendo una agricultura más eficiente y respetuosa con el medio ambiente.

Palabras clave: óxido de grafeno, nanomateriales, agricultura sustentable, forraje verde hidropónico, productividad agrícola, nanofertilizantes.

ORCID ID: 0009-0000-7163-2169

Vo. Bo Co-Directores de Tesis



Dr. Luis Hernández Adame



Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo

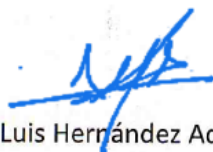
Summary

This study investigates the effects of nitrogen-doped graphene oxide (NOG) on hydroponic green fodder maize (*Zea mays*), aiming to understand its impact on various parameters and evaluate its potential to sustainably enhance agricultural productivity. An experiment was conducted under controlled conditions, where different concentrations of NOG were applied to maize plants, assessing its effect on germination, growth, and biochemical composition. The results showed that plants treated with NOG exhibited higher protein accumulation and more robust growth compared to the controls, suggesting that NOG may function as an effective nanofertilizer. Additionally, improved hydration and resistance to stress conditions were observed, highlighting its potential to optimize agricultural practices in a sustainability-focused context. This study contributes to sustainable agriculture by demonstrating that agronanotechnology can be a key tool in addressing current challenges in the agricultural sector. The implications of these findings are significant, as they offer new perspectives on the use of nanomaterials to improve crop production, promoting a more efficient and environmentally friendly agriculture.

Keywords: graphene oxide, nanomaterials, sustainable agriculture, hydroponic green fodder, agricultural productivity, nanofertilizers.

ORCID ID: 0009-0000-7163-2169

Vo. Bo Co-Directores de Tesis



Dr. Luis Hernández Adame



Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo

Dedicatoria

“Puede que lo que hacemos no traiga siempre felicidad, pero si no hacemos nada, no habrá felicidad”

-Albert Camus-

Agradecimientos

Al entonces Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), ahora Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por otorgar la beca No. 1243697 para realizar mis estudios de posgrado. Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. S.C., (CIBNOR) y a la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos por permitirme llevar a cabo mis estudios de Maestría en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales. Al Consejo Sudcaliforniano de Ciencia y Tecnología por el apoyo del proyecto CAR-25-2024 para el desarrollo de materiales avanzados con enfoque al sector agrícola.

A mi Co-Director de tesis, el Dr. Luis Hernández Adame, por su confianza, apoyo constante, y muchísima paciencia, la cual contribuyo no solo en mi formación como maestro en ciencias, sino también, como parte de mi desarrollo personal.

A la Dra. Alma Gabriela Palestino Escobedo, por su apoyo y constancia en mi formación académica.

A mi Co-Tutor el Dr. Luis Guillermo Hernández Montiel, por su guía, paciencia, apoyo jarocho y esfuerzo en mi formación como maestro en ciencias.

Al personal académico de Posgrado por todas las facilidades otorgadas para mi desarrollo académico. Así como al Dr. Isaac Mata Cruz del Instituto de Física de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por facilitar la muestra de óxido de grafeno que fue usada en este trabajo y al Dr. Miguel Ángel Ruiz Gómez del CINVESTAV-Mérida por su apoyo en el análisis de las muestras de las nanopartículas.

Al M.C. José Manuel Melero Astorga, a la Dra. Norma Angélica Ochoa Álvarez, al Dr. Luis Daniel Moreno Figueroa, a la Dra. Martha H. Bedolla Torres y a María Sofía Ramos Galván, por su apoyo en la parte experimental, su gran esfuerzo en mi formación académica y desarrollo personal.

Al personal del Laboratorio de Fisiotecnia Vegetal, en especial a la Dra. María Del Carmen Mercado Guido y la M. en C. Magdalena López García por apoyo en la parte experimental durante la germinación y análisis de resultados. Igualmente, al Laboratorio de Bioquímica Analítica y al

Laboratorio de Bioquímica, a la M. en C. Jessica Guadalupe Elías Castelo y M. en C. Roberto Hernández Herrera por la capacitación y asesorías en el uso de equipos para realizar mi experimento.

A mi Madre que siempre ha confiado y apoyado en mis decisiones. Muchas de las cosas que he aprendido a la distancia sin duda han sido gracias a ella.

A todos mis compañeros y amigos de la maestría por sus consejos y momentos de alegría brindados, los cuales siempre llevare en mi corazón. Especialmente muchas gracias a Eloy, Jair, Víctor, Josh, Natalia, Adriana y Daniela por hacer más llevadera la vida paceña y brindar alegría a los días.

A la Lic. en Biotecnología Silvia Patricia Peralta Avitia por brindarme su amistad y recordarme que siempre hay tiempo para todo.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	vi
Lista de figuras	viii
Lista de tablas	ix
Abreviaturas	x
1.INTRODUCCIÓN	1
1.1 Nanotecnología	1
1.2 Nanopartículas	2
1.3 Técnicas de caracterización	3
1.3.1 Difracción de rayos X (XRD)	4
1.3.2 Espectroscopia de absorción Uv-Vis	5
1.3.3 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)	5
1.3.4 Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS)	6
1.3.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM)	7
1.4 Óxido de grafeno	8
1.5 Forraje verde hidropónico	10
1.5.1 Forraje Verde Hidropónico de Maíz (FVHM)	11
1.6 Agronotecnología	13
2.ANTECEDENTES	15
3.JUSTIFICACIÓN	17
4.HIPÓTESIS	18
5.OBJETIVOS	19
5.1 Objetivo general	19
5.2 Objetivos particulares	19
6.MATERIAL Y MÉTODOS	20
6.1 Obtención de GO	20
6.2 Síntesis de NGO	20
6.3 Caracterización del GO y NGO	21
6.4 Preparación de soluciones stock de y NOG	21
6.5 Diseño experimental	21
6.5.1 Preparación de las semillas para etapa de germinación	21
6.6 Preparación de las semillas para FVHM	22
6.7 Preparación de muestras para determinar parámetros morfométricos y nutricionales	23
6.7.1 Etapa de germinación	23
6.7.2 Etapa de FVH	25
6.8 Análisis estadístico	25
7.RESULTADOS	26
7.1 Espectroscopia de absorción UV-Vis	26
7.2 Espectroscopia FTIR	26
7.3 Espectroscopia XRD	27

7.4 Espectroscopia XPS	29
7.5 Microscopia electrónica de barrido.....	29
7.6 Etapa de germinación	31
7.7 Evaluación de la longitud, área y superficie proyectada de semillas germinadas	32
7.8 Evaluación de carbohidratos, proteínas y lípidos en semillas germinadas	35
7.9 Evaluación de carbohidratos, proteínas y lípidos en FVHM.....	38
7.10 Evaluación del peso fresco y peso seco de FVHM.....	44
7.11 Relación entre biomasa y composición bioquímica	48
8.DISCUSIÓN.....	50
8.1 Espectroscopia UV-Vis	50
8.2 Espectroscopia FTIR.....	50
8.3 Espectroscopia XRD	51
8.4 Espectroscopia XPS.....	52
8.5 Microscopia electrónica de barrido.....	53
8.6 Etapa de germinación	54
8.6.1 Germinación de semillas de maíz.....	54
8.6.2 Longitud, área y superficie proyectada	55
8.6.3 Evaluación de la concentración de carbohidratos, proteínas y lípidos en etapa de germinación.....	56
8.6.4 Evaluación de la concentración de carbohidratos, proteínas y lípidos en FVHM.....	58
8.6.5 Evaluación del peso fresco y peso seco en FVHM.....	60
9.CONCLUSIONES	61
10.LITERATURA CITADA.....	62

Lista de figuras

Figura 1. Clasificación de las NP de acuerdo con su procedencia.	2
Figura 2. Ley de Bragg.	4
Figura 3. Ley de Beer-Lambert.	5
Figura 4. Tipos de vibraciones moleculares inducidas por luz IR.	6
Figura 5. Fundamento de la técnica XPS.	7
Figura 6. Diagrama esquemático que representa los fundamentos de SEM.	8
Figura 7. Diferencias principales en los distintos tipos de estructuras grafémicas; a) óxido de grafeno, b) óxido de grafeno reducido y c) óxido de grafeno dopado de nitrógeno.	9
Figura 8. Germinado de maíz producido por forraje verde hidropónico.	12
Figura 9. Algunas de las aplicaciones más importantes de la agronanotecnología.	14
Figura 10. Arreglo experimental del sistema de recirculación para obtener el dopaje de N en las estructuras de GO.	20
Figura 11. Láminas de NGO; A) NGO antes del secado, B) NGO después del secado.	21
Figura 12. Arreglo experimental para: A) la etapa de germinación en cajas Petri y B) etapa de producción de FVHM en recipiente de los tratamientos con NOG, OG y control fueron los siguientes: C1 = Agua, C2 = Solución de Hoagland, T1 = OG con 0.5 mg/mL, T2 = OG.	22
Figura 13. Fotografía de una caja Petri con semillas de maíz utilizadas en los experimentos de germinación.	23
Figura 14. Arreglo experimental para la producción de FVHM.	23
Figura 15. Espectrografía UV – vis de óxido de grafeno (GO), óxido de grafeno reducido (ROG) y óxido de grafeno dopado de nitrógeno (NOG).	26
Figura 16. Espectros FTIR de GO, ROG Y NOG.	27
Figura 17. Patrones XRD para muestras de óxido de grafeno (GO), óxido de grafeno reducido (ROG) y óxido de grafeno dopado de nitrógeno (NOG).	28
Figura 18. Composición elemental de la muestra de NOG.	29
Figura 19. Láminas de NOG; A) Magnitud: 25000, B) Magnitud 5000, C) Magnitud: 50000	31
Figura 20. Porcentaje de semillas germinadas.	31
Figura 21. Longitud promedio de raíces de semillas maíz.	33
Figura 22. Área proyectada promedio de las raíces de maíz.	33
Figura 23. Superficie proyectada de raíces de semillas de maíz.	34
Figura 24. Concentración de carbohidratos total.	35
Figura 25. Concentración de proteínas totales.	36
Figura 26. Concentración de lípidos totales.	38
Figura 27. Concentración de carbohidratos en FVHM.	40
Figura 28. Concentración de proteínas en FVHM.	41
Figura 29. Concentración de lípidos en FVHM.	42
Figura 30. Peso fresco de FVHM.	45
Figura 31. Peso seco de FVHM.	46
Figura 32. Diferencia entre el peso fresco y el peso seco de FVHM.	47
Figura 33. Semillas de maíz tratadas con OG y NOG a diversas concentraciones.	56

Lista de tablas

Tabla 1. Clasificación de nanopartículas por su estructura	3
---	---

Abreviaturas

μg	Microgramo
B.C.S.	Baja California Sur
C	Carbono
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Nitrato de calcio tetrahidratado
CaCl_2	Cloruro de calcio
Cd	Cadmio
cm	Centímetro
$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de cobre (II) heptahidratado
FeSO_4	Sulfato de hierro (II)
FTIR	Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier
FVH	Forraje verde hidropónico
FVHM	Forraje verde hidropónico de maíz
GO	Óxido de grafeno
H	Hidrogeno
h	Horas
H_3BO_3	Ácido trioxobórico (III)
IR	Luz infrarroja
K_2HPO_4	Fosfato dipotásico
KNO_3	Nitrato de potasio
KSO_4	Sulfato de potasio
L	Litro
mg	Miligramo
MgSO_4	Sulfato de magnesio
ml	Mililitro
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Cloruro de manganeso (II) tetrahidratado
Nitrógeno	Nitrógeno
$\text{NaMoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Molibdato de sodio hidratado
NGO	Óxido de grafeno dopado de nitrógeno
nm	Nanómetros
NP	Nanopartículas
O	Oxígeno
rGO	Oxido de grafeno reducido
ROS	Especies reactivas al oxígeno
RX	Rayos X
SEM	Microscopia electrónica de barrido
TCA	Ácido Tricloroacético
UV-vis	Espectroscopia ultravioleta visible
XPS	Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X
XRD	Difracción de rayos X
$\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de zinc pentahidratado

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Nanotecnología

La nanotecnología es un área emergente de la ciencia que tiene un impacto significativo en varias actividades cotidianas, el conocimiento de los procesos biológicos, químicos y físicos a nivel atómico y molecular, se convierten poco a poco en investigaciones multidisciplinarias las cuales representan una oportunidad para enfrentar retos en el campo científico-tecnológico, especialmente en la medicina y agricultura (Mejias *et al.*, 2009).

Esta novedosa rama de las ciencias tiene sus inicios a principios de los años 50 cuando el Dr. Richard Feynman anticipo por primera vez algunos de los conceptos que darían la base para el desarrollo de estas tecnologías, sin embargo, no es hasta el año de 1974, cuando el Profesor de la Universidad de Ciencias de Tokio *Prof. Norio Taniguchi*, publica un artículo, el cual lleva por título: *“Nanotecnología; consiste en el procedimiento de separación, consolidación y formación de materiales átomo por átomo o molécula por molécula”*, siendo así, inspiración clave para continuar con la publicación de otros artículos que complementan con estudios más completos en esta nueva área (Quintili, 2012).

De esta manera, en la actualidad, podemos definir a la nanotecnología como la ciencia que se encarga de diseñar, caracterizar, producir y aplicar la materia en la escala nanométrica, de tal modo que es en esta escala donde podemos encontrar partículas atómicas o moleculares, cuya unidad de medida se encuentra en el nanómetro, el cual representa la mil millonésima parte de un metro (10^{-9} m), por lo que en otras palabras, el rango que abarca el estudio de estas partículas es de 1 a 100 nanómetros (nm) (Záyago-Lau y Foladori, 2010).

No obstante, uno de los principales retos que existen actualmente, es el diseño de estas nanopartículas, debido a que la obtención de estas afectará directamente las características físicas y químicas inherentes a su origen, además de los efectos que tendrá en el uso que se le desee dar.

1.2 Nanopartículas

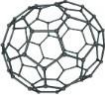
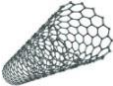
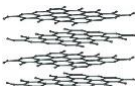
Como se menciona con anterioridad, el objetivo principal de la nanotecnología es el de sintetizar pequeñas estructuras llamadas nanopartículas (NP), las cuales son partículas muy pequeñas formadas por átomos iguales o de diferente naturaleza y en donde al menos una de sus dimensiones se encuentra por debajo de los 100 nm (Velásquez *et al.*, 2015).

De manera general, las NP son clasificadas en dos principales grupos: 1) NP orgánicas cuya característica principal deriva en que su estructura está compuesta principalmente por átomos de C, H, O y N, o bien, que derivan de algún ser biológico como las cápsides virales; 2) NP inorgánicas formadas estructuralmente por uno o más de los elementos químicos restantes en la tabla periódica (a excepción de los gases) y de donde derivan las NP metálicas, óxidos metálicos, sulfuros, cerámicos, entre otros. Otra subclasificación de las NP puede ser de acuerdo con su procedencia (Fig. 1), ya sea de origen natural o antropogénica y dimensiones (Tabla 1) que pueden ser 0D, 1D, 2D Y 3D.



Figura 1. Clasificación de las NP de acuerdo con su procedencia.

Tabla 1. Clasificación de nanopartículas por su estructura.

Estructura	Nanopartícula
0D cero dimensional ¹ 	Fullerenos Partículas coloidales Nanoclusters
1D uni – dimensional ² 	Nanofibras Nanotubos Nanovarillas
2D bi – dimensional ³ 	Monocapas Nanorrecubrimientos Películas multicapas
3D tri – dimensional ⁴ 	Policristales Nanobobinas Nanoflores

Notas: ^{1,2,3 y 4} Imágenes creadas por Michael Ströck. GNU Free Documentation License.

1.3 Técnicas de caracterización

Las características físicas y químicas de las NP se obtienen por diferentes técnicas ópticas y de espectroscopía empleadas en la ciencia de materiales. Algunas de estas técnicas incluyen la espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), la difracción de rayos X (XRD), espectroscopia UV-vis (UV-vis), espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) y microscopia electrónica de barrido (SEM). Todas estas técnicas permiten identificar las propiedades ópticas, magnéticas, eléctricas, químicas, estructura cristalina, distribución de tamaño, composición elemental, morfología, característica superficial etc.

De este modo, la caracterización no solo valida las clasificaciones establecidas, sino que también facilita una categorización más precisa de las nanopartículas, optimizando su aplicación en diversos campos como la medicina, la electrónica o la agricultura.

Para este trabajo se emplearon algunas técnicas de caracterización con las cuales se validaron las características fisicoquímicas esperadas. Las técnicas utilizadas fueron las siguientes:

1.3.1 Difracción de rayos X (XRD)

Una de las técnicas más usadas para la caracterización de materiales cristalinos es mediante la difracción de rayos X (XRD), en la cual, es posible determinar la estructura, fase, textura, distancia interlaminar, el grado de cristalinidad y otros parámetros físicos de la estructura cristalina (Campos, 2013; Bunaciu *et al.*, 2015). Esta técnica se basa en la incidencia de un haz de rayos X el cual es dirigido sobre el material, que puede ser polvo o sólido, en donde se relaciona la longitud de onda del haz incidente de rayos X (radiación $k\alpha$ emitida por el cobre $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) con la distancia interatómica y el ángulo de incidencia de este haz sobre la muestra que analiza.

Su principio fundamental se basa en la ley de Bragg, que consiste básicamente en la proyección de haces de rayos X (RX) que viajan entre los planos cristalográficos y se difractan por los átomos que componen el material. En resumen, estos haces inciden sobre el material y son reflejados desde planos adyacentes A y B dentro del cristal; para su correcta difracción necesitan estar en fase con el ángulo de incidencia θ respecto a cada plano. Si el haz reflejado no está en fase con el ángulo del haz incidente, se cancelarán los haces reflejados.

Un esquema representativo de este fenómeno se muestra en la (Fig. 2), donde n es un número entero, λ es la longitud de onda de los rayos x, d es la distancia entre los planos de la red cristalina y θ es el ángulo entre los rayos incidentes y los planos de dispersión Matemáticamente este fenómeno se representa de acuerdo con la ecuación 1.

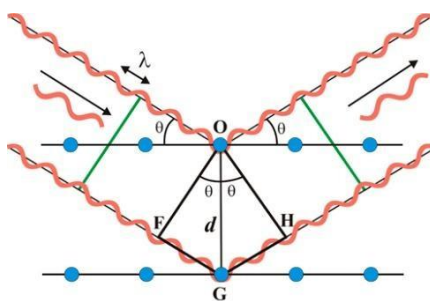


Figura 2. Ley de Bragg.

$$n\lambda = 2d \sin(\theta) \quad (1)$$

1.3.2 Espectroscopia de absorción Uv-Vis

La espectroscopía de absorción de Ultravioleta-Visible, se basa en la medida de la transmitancia (T) o de la absorbancia (A) de disoluciones, las cuales, dentro de la muestra tienen un camino óptico b que presenta una concentración c del analito absorbente (García, 2013). Lo anterior lo podemos representar gracias a la ecuación de Beer-Lambert (Ecuación 2):

$$A = -\log T = \frac{\log I_0}{I} = \epsilon bc \quad (2)$$

Donde I e I_0 son las intensidades medias e incidentes, respectivamente. ϵ es el coeficiente de extinción o absortividad molecular (Fig. 3). Con esta técnica es posible determinar de manera cualitativa y cuantitativa una gran variedad de materiales o moléculas de acuerdo con sus propiedades ópticas y que además se encuentren comprendidas entre los 190 nm y 780 nm, aunque se puede expandir hasta los 1000 nm (López Y Cuenca, 2017).

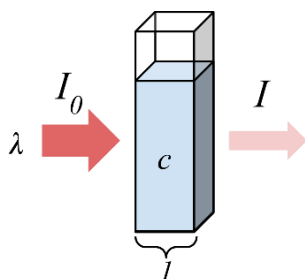


Figura 3. Ley de Beer-Lambert.

Los espectros de Uv-Vis, generalmente están compuestos de bandas bien definidas que representan la absorción de luz por el material. Internamente en el analito, la radiación incidente causa que los electrones cambien desde su estado fundamental a un estado excitado el cual se representa gráficamente con picos de absorción que están relacionados con las propiedades ópticas de los compuestos que se analizan (López y Cuenca, 2017).

1.3.3 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

El principio de esta técnica de espectroscopía se basa en medir la excitación de los grupos funcionales y moleculares de la muestra que son expuestos a un haz de luz infrarroja (IR). La luz IR, se divide en tres regiones, el IR cercano que comprende aproximadamente de los 1400-4000 cm^{-1} , el IR medio 4000-400 cm^{-1} y el IR lejano 400-10 cm^{-1} .

Cuando la luz IR entra en contacto con los materiales, genera diferentes vibraciones en los enlaces moleculares, estas vibraciones son como la huella digital de las moléculas ya que dependiendo de su estructura y enlaces, su vibración se genera en una región específica del espectro de IR. Estas vibraciones pueden clasificarse como vibraciones de tensión o flexión; estas tensiones, generan deformaciones de enlaces como se muestra en la Fig. 4 (Barraza-Garza *et al.*, 2013).

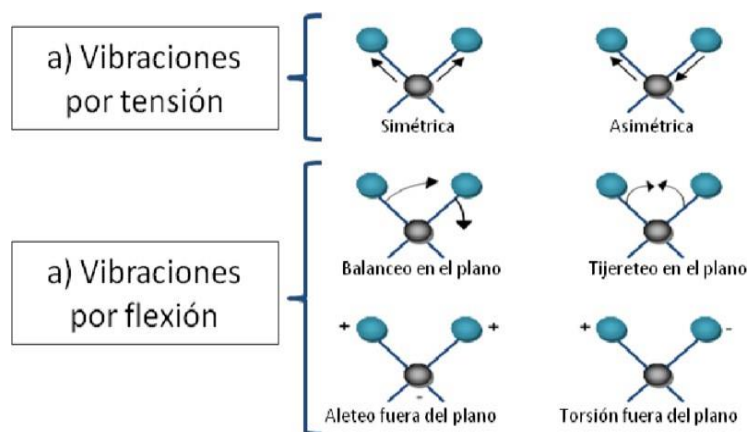


Figura 4. Tipos de vibraciones moleculares inducidas por luz IR.

Estas deformaciones en los enlaces generan movimientos simétricos y asimétricos, que son vibraciones únicas para cada compuesto y son medidos dentro del infrarrojo medio el cual abarca desde los 4000 a 650 cm^{-1} (Barraza-Garza *et al.*, 2013).

1.3.4 Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS)

Esta técnica de espectroscopía se basa en la incidencia ocasionada por un fotón de energía ($h\nu$) ocurrida sobre los átomos situados sobre la superficie de la muestra (Fig. 5), lo que provoca a través del efecto fotoeléctrico, la emisión de fotoelectrones con energía de ligadura proporcional a la energía del fotón incidente de acuerdo con la ecuación 3:

$$E_B = h\nu - E_K - W \quad (3)$$

En donde $h\nu$ es la energía de los fotones, E_K se traduce como la energía cinética producida por el fotoelectrón y W es la función de trabajo del espectrofotómetro, dando como resultado una energía de ligadura E_B .

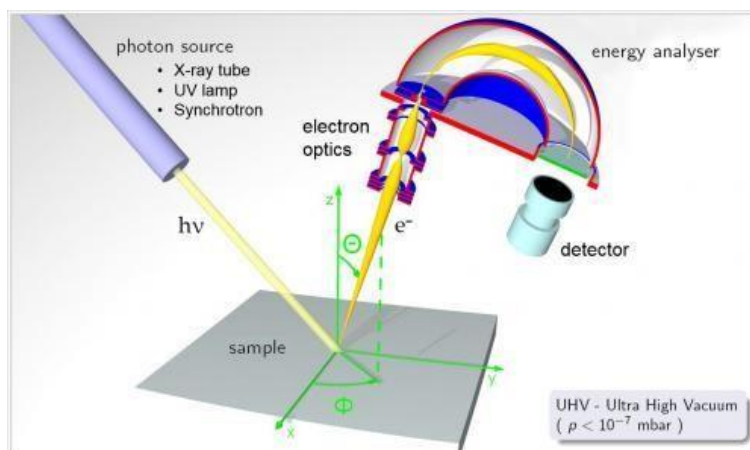


Figura 5. Fundamento de la técnica XPS.

Este tipo de análisis permite conocer : A) Composición elemental de la muestra, identificando los elementos químicos presentes en la superficie haciendo una cuantificación de las proporciones relativas de cada elemento que se encuentra en esta; B) Estados de oxidación, determinando la química de superficie y su reactividad; C) Interacciones químicas, la cual proporciona información sobre la naturaleza de los enlaces químicos entre los átomos en la superficie de la muestra así como sus modificaciones químicas y D) Contaminantes e impurezas.

1.3.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La microscopia electrónica de barrido, por sus siglas en inglés (*Scanning Electron Microscopy*), es una técnica basada en la generación de imágenes a partir de electrones emitidos por un cátodo generalmente formado de tungsteno, los cuales pasan por una columna en la que se ha hecho un vacío, interactuando con la superficie de la muestra.

Este haz produce electrones secundarios los cuales son captados por un detector donde cada electrón dará origen a varios fotones, dichos fotones son dirigidos hasta un fotomultiplicador y cada fotón dará origen a un fotoelectrón, dando una serie de dinodos con diferencias de potencial. Es decir, los electrones secundarios son amplificados y detectados por diversos sensores los cuales darán información sobre la muestra escaneada.

Finalmente, los electrones secundarios producidos son dirigidos hacia un tubo de rayos catódicos sobre cuya pantalla se producirá la imagen resultante, tal como se muestra en la Fig. 6.

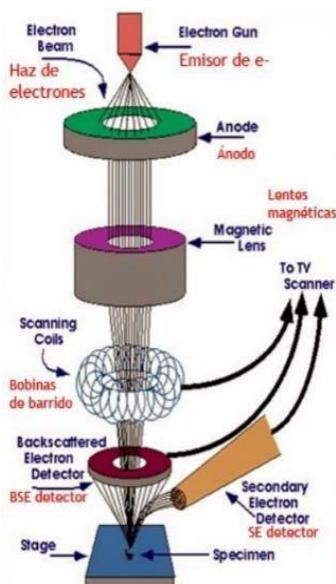


Figura 6. Diagrama esquemático que representa los fundamentos de SEM.

1.4 Óxido de grafeno

El grafeno fue descrito en el año 2004 por *Andre Geim* y *Konstantin Novoselov*, los cuales aislaron las primeras muestras de este material a partir del grafito mediante un proceso de exfoliación mecánica (Moliner, 2016); este nanomaterial presenta una estructura bidimensional constituida por una sola capa de átomos de carbono en hibridación sp^2 , la cual forma una red hexagonal (o comúnmente denominada como panal de abeja) que le concede propiedades de transporte electrónico singulares, alta resistencia mecánica e hidrofobicidad (Muñoz, 2016; Colom *et al.*, 2020).

La obtención del grafeno se da por diferentes métodos de producción, que incluyen la deposición química en fase vapor, exfoliación micromecánica, molienda de bolas, exfoliación electroquímica y crecimiento epitaxial a partir de carburo de silicio, entre otros (Urcuyo *et al.*, 2021).

Gracias a estas técnicas podemos conseguir un grafeno “ideal” en que el ordenamiento estructural sea perfecto, sin embargo, en la realidad se obtienen grafenos “defectuosos” con los cuales podemos obtener muestras que poseen grupos funcionales oxigenados anclados sobre la red grafémica que incluyen hidroxilos, ácidos carboxílicos, entre otros (Urcuyo *et al.*, 2021); de estos materiales uno de los más interesantes por sus diversas aplicaciones es el óxido de grafeno (GO).

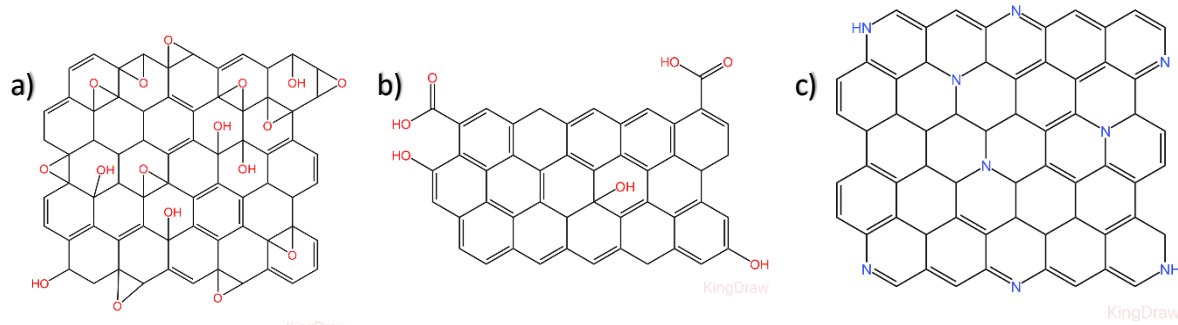


Figura 7. Diferencias principales en los distintos tipos de estructuras grafémicas; a) óxido de grafeno, b) óxido de grafeno reducido y c) óxido de grafeno dopado de nitrógeno.

El GO es un compuesto no estequiométrico que consiste en una red de átomos de carbono con hibridación sp^2 similar a la del grafeno como se muestra en la Fig. 7, pero con la diferencia que este incluye una gran cantidad de grupos funcionales intercalados que contienen oxígeno. Esta característica lo diferencia de otros alótropos como el óxido de grafeno reducido (rGO), debido a que este último posee una menor cantidad de grupos oxígeno unidos a su red en comparación con el GO (Esteve-Adell *et al.*, 2020).

Estos grupos ricos en oxígeno pueden ser de mucha utilidad para el GO ya que le permiten poder ser dopado con otros elementos de interés como lo es el nitrógeno, el cual se encuentra enlazado solamente a átomos de carbono en la red grafémica dándole características importantes para el desarrollo de tecnología relacionado con aplicaciones en el medio ambiente, biomedicina, y recientemente en la agricultura (Chen *et al.*, 2018; Colom *et al.*, 2020; Esteve-Adell *et al.*, 2020).

El uso del GO en la agricultura ha emergido como una tecnología avanzada con un gran potencial para mejorar la producción de cultivos, incluyendo el forraje verde hidropónico (FVH), debido a

su gran superficie activa y propiedades de transporte de electrones, el uso de esta NP puede mejorar la absorción de nutrientes esenciales por las plantas y aumentar la eficiencia del uso de agua en los sistemas hidropónicos.

En la producción de FVH, esto se traduce en un crecimiento más rápido y uniforme, mejor calidad nutricional y una mayor resistencia a factores de estrés, como la salinidad o la sequía. Además, su capacidad para interactuar con otros fertilizantes o nanomateriales podría optimizar el suministro de nutrientes en el ciclo de cultivo.

Este enfoque innovador no solo mejora la productividad, sino que también promueve una agricultura más sostenible y eficiente, alineada con las demandas crecientes de la producción de alimentos para el ganado.

1.5 Forraje verde hidropónico

El forraje verde hidropónico (FVH) es un forraje fresco que se obtiene de la germinación de granos o leguminosas en una solución nutritiva sin necesidad de utilizar suelo agrícola (Rodríguez, 2007). En México es una metodología agrícola alterna a los métodos convencionales muy utilizada que brinda mayor facilidad en la producción de alimento para animales. El uso de este sistema ha brindado diferentes investigaciones varios niveles, desde laboratorio o invernadero, hasta estudios en campo.

En los sistemas convencionales, el uso excesivo de fertilizantes químicos puede generar la lixiviación de nutrientes hacia el suelo y cuerpos de agua, lo que provoca contaminación por nitratos y otros compuestos, además de la degradación de la calidad del suelo. En contraste con la implementación de sistemas hidropónicos, estos resultan ser más eficientes en el uso de nutrientes, ya que estos se disuelven en el agua de forma controlada y son directamente absorbidos por las plantas, reduciendo significativamente las pérdidas y la contaminación ambiental.

Además, en la hidroponía, los nutrientes se pueden reciclar, lo que disminuye el desperdicio y maximiza la eficiencia del sistema. Esta diferencia en el manejo de nutrientes hace que la

hidroponía sea una opción más sostenible y ecológica frente a la agricultura convencional.

Existen varios sistemas para generar FVH; en los últimos años este sistema ha cobrado mayor importancia y aplicación a nivel mundial, siendo así que el FVH se ha usado como un sistema alimenticio aún más eficiente que el forraje convencional (Técnico M, 2002).

De las principales características que hacen destacar al FVH entre otros tipos de producción de germinados, son su alto rendimiento y la calidad que tienen cuando finaliza el ciclo de cultivo, estas propiedades se ven influidas por factores como: la calidad de la semilla, variedad, tiempo de remojo, temperatura, humedad, suministro de nutrientes, profundidad, densidad de siembra y la presencia de hongos.

Para poder asegurar la calidad de estos germinados, es deseable que la semilla no contenga más del 12% de humedad; debe de estar libre de impurezas o semillas rotas y contaminadas con hongos, ni presentar contaminantes como insecticidas o fungicidas. Las semillas utilizadas por mencionar algunas para la producción de FVH pueden ser maíz, trigo, avena, cebada (Zagal *et al.*, 2016).

1.5.1 Forraje Verde Hidropónico de Maíz (FVHM)

Una de las plantas más utilizadas con fines forrajeros ha sido el maíz (*Zea mays*) (Fig. 8), por su elevado valor nutritivo y altos rendimientos, lo cual permite que, en diversos medios de producción hidropónicos, se generen elevados y constantes volúmenes de FVH de maíz, produciendo alimento a la mitad del costo convencional de forrajes cultivados a campo abierto (Amador y Boschini, 2000; Elizondo y Boschini, 2001 Y 2002).



Figura 8. Germinado de maíz producido por forraje verde hidropónico.

FVHM es un alimento nutritivo muy apetecido por diferentes tipos de ganado y usado en todas sus edades. La producción de maíz hidropónico permitiría una mejor utilización del balance nutricional gracias a la acción enzimática que se realiza en la fermentación ruminal (Rodriguez *et al.*, 2012; Chavarría Tórrez Y Castillo Castro, 2018).

El maíz hidropónico, por su contenido en humedad, reemplaza ventajosamente a la leche en la alimentación de ganado y su presentación en forma de bloques o 'muffins' constituye un alimento excepcional.

Otro ejemplo es en la industria avicultora, donde el maíz hidropónico pregerminado como FVH es una fuente rica de proteínas, vitaminas, minerales y otros nutrientes, convirtiéndose en un potente suplemento en la cría de aves de engorde, ponedoras, parrilleros, etc., especialmente en regiones en las que el factor climático no permita o dificulte la obtención de buenas fuentes de alimento natural.

El FVHM muestra de esta manera, un gran potencial para la alimentación de animales de ganado dado el gran contenido en proteínas, vitaminas y minerales. La complementación de este tipo de alimento en la ingesta natural de los animales favorecería la ingesta de proteínas aportadas, con aminoácidos esenciales como la valina, serina, treonina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, alanina, etc., las cuales, son de mejor calidad nutricional. Además, se mantendría un estado sanitario mejor por la acción de antioxidantes, polifenoles y otros componentes que disminuyen la formación de radicales libres, permitiéndoles a los cultivos, una

mayor resistencia a enfermedades infecciosas producidas por bacterias, hongos, etc. (Villalba Chulco, 2024; Castellanes, 2023; Cisneros *et al.*, 2023; Bernabe, 2021).

En la actualidad, los avances en biotecnología y la nanotecnología, han posibilitado una mayor precisión en la mejora de producción vegetal, lo que permitirá contar en el futuro con plantas que tengan características específicas mejoradas como aporte al rendimiento y calidad de nutrientes.

La integración de la agronanotecnología en la producción de FVH ofrece perspectivas prometedoras para optimizar aún más este sistema de cultivo. El uso de nanofertilizantes y nanopartículas podría mejorar la eficiencia en la absorción de nutrientes por las plantas, promoviendo un crecimiento más rápido y una mayor calidad nutricional del forraje.

Además, la nanotecnología podría contribuir al uso más eficiente del agua y la reducción de contaminantes en los sistemas hidropónicos, aumentando la sostenibilidad y reduciendo el impacto ambiental. A futuro, la combinación de estas tecnologías tiene el potencial de transformar la producción de forraje, haciéndola más rentable, sostenible y adaptable a las necesidades crecientes del sector agrícola y pecuario.

1.6 Agronanotecnología

Los nanomateriales han demostrado ser una importante herramienta para mejorar la productividad de la tierra y diversos cultivos. La implementación de estos puede ofrecer importantes aplicaciones en la prevención, detección y recuperación de suelos contaminados, en la mejora de los sitios de retención y liberación de nutrientes, en la generación de nuevos nutrimentos y agroquímicos, en la manipulación controlada de hormonas, reguladores del crecimiento, estimuladores de la resistencia a plagas y estrés, y en el diseño de nuevos marcadores genéticos (Lira-Salvida *et al.*, 2021; Tripathi *et al.*, 2018).

Principales usos de la agronanotecnología

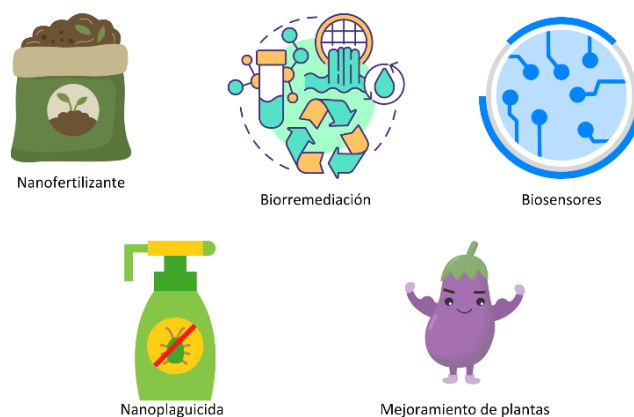


Figura 9. Algunas de las aplicaciones más importantes de la agronanotecnología.

Es así como surge la agronanotecnología, con la cual, podemos estudiar el impacto que tienen las NP en el campo de la agricultura (Fig. 9), consolidándose como una herramienta clave para enfrentar los desafíos actuales de la agricultura (Tripathi *et al.*, 2018).

Comparado con el cultivo tradicional, el uso de las técnicas proporcionadas gracias a la agronanotecnología contribuye a un modelo de agricultura más eficiente, rentable y respetuoso con el medio ambiente, lo que la posiciona como una tecnología esencial para el futuro de la producción agrícola a nivel global.

2. ANTECEDENTES

Como se ha mencionado anteriormente, el uso de las NP en la agricultura ha sido de gran relevancia debido a la capacidad que tienen para entregar de manera más eficientes los nutrientes que las plantas necesitan. Entre estas, el GO ha emergido como una solución prometedora gracias a su estructura única y propiedades físicas y químicas, las cuales se traducen en un potencial transportador de agroquímicos.

Algunas de las investigaciones que se mencionan a continuación han demostrado que el GO y sus alótropos, pueden llegar a mejorar la germinación de semillas y promover el crecimiento de raíces, lo que convierte a esta NP en una importante herramienta nanotecnológica para el desarrollo de una nueva agricultura.

Uno de los ejemplos más recientes es el descrito por He *et al.* (2018), en el cual, se evalúan los efectos de GO y GO + cadmio (Cd^{2+}) en la germinación de semillas de arroz y los efectos en el crecimiento de plántulas de maíz, para ello, utilizaron diferentes concentraciones de GO (0, 100, 500 y 1500 mg/L) y Cd^{2+} (0, 5 y 20 mg/L).

Los resultados más sobresalientes de esta investigación mencionan que a mayor concentración de GO y Cd, el porcentaje de germinación, la longitud de la raíz, la longitud de la yema y el peso fresco de los brotes y raíces disminuyen cuando se evalúan por separado, sin embargo, cuando GO y Cd se evalúan en conjunto, los efectos inhibidores desaparecen pues parece ser que GO tiene la capacidad de absorber al Cd aumentando el crecimiento de la raíz y de la yema, obteniendo resultados similares cuando el GO es evaluado por separado.

Estos resultados pueden sugerir que el GO sirve como un sistema para remover metales pesados, disminuyendo los efectos negativos que estos pudieran tener sobre los sistemas biológicos esto debido a los grupos funcionales superficiales que contienen oxígenos y los enlaces π - π de la red grafénica. Los procesos de germinación se ven alterados a mayor concentración de GO debido a una respuesta al estrés inducido por este, resultando en un exceso de especies reactivas al oxígeno (ROS) que afecta la biosíntesis, el catabolismo del ácido abscísico y la producción de giberelinas, ya que estas se ven relacionadas con la germinación y emergencia de la radícula. En cuando a la longitud de la raíz y de la yema, el crecimiento se ve inhibido debido a la posible

acumulación de GO en los pelos radiculares y células epidérmicas. Finalmente, el crecimiento de las plántulas es inhibido por la interacción de los grupos amino de las células con GO.

De manera similar, Chen *et al.* (2018) comparan el efecto que tiene GO sobre un cultivo de avena cuando se produce en un sistema hidropónico y uno de manera convencional. Los resultados más significativos son cuando se observan inhibición del crecimiento en los cultivos hidropónicos en concentraciones de 0.2 mg/mL y superiores.

Resultados similares son descritos en concentraciones de 0.4 mg/ml para cultivo en suelo. Concluyendo que GO inhibió de manera más significativa el crecimiento en el sistema hidropónico comparado con el cultivo en suelo de avena, el cual está asociado al estrés oxidativo producido por las altas concentraciones de GO en los diferentes tipos de cultivo.

He *et al.* (2017) utilizan un medio altamente húmedo en el cual, evalúan el efecto que tiene el OG como transportador de agua cuando se germinan semillas de espinaca, concluyendo que gracias a los enlaces sp^2 y sp^3 presentes en la estructura del GO, permiten que el agua pueda moverse fácilmente en la matriz del suelo y ser mejor absorbida por las semillas y raíces de la planta, aumentando de este modo el porcentaje de germinación y el aumento en peso y longitud de las plántulas después de 30 días. Estos efectos se reportan cuando la concentración de GO es 50 $\mu\text{g/mL}$ en comparación con 0 y 200 $\mu\text{g/mL}$.

Qiao *et al.* (2024) mencionan que en la concentración media (1.0 mg/L) de GO la altura, el diámetro y el área foliar de *V. angularis* aumentan significativamente en comparación con los datos obtenidos del grupo control, de igual manera parámetros como la longitud, superficie y número de puntos de la raíz se ven con aumentos positivos, siendo esta concentración la que obtuvo mejores resultados en comparación con las demás concentraciones las cuales fueron 0.01 mg/L, 0.10 mg/L, 10.00 mg/L y 100.00 mg/L.

Es así como podemos decir que uno de los principales objetivos de estas evaluaciones es la de encontrar y suministrar la dosis optima, en la cual, los efectos benéficos de GO se hagan presentes. De igual manera se observa la capacidad que tiene GO de formar nuevos enlaces con otros elementos o el agua, capaces de aumentar los efectos positivos que ya tiene por sí solo.

3. JUSTIFICACIÓN

El uso de diversas NP ha demostrado ser una herramienta prometedora en múltiples áreas tecnológicas, destacándose especialmente en la agricultura, donde varios estudios han mostrado efectos positivos en parámetros morfométricos y nutricionales de plantas, lo que resulta en mejoras en la productividad agrícola. En este contexto, el estudio del GO y su variante modificada químicamente con grupos funcionales ricos en nitrógeno (óxido de grafeno dopado de nitrógeno NGO) adquiere una relevancia especial. Estas NP no solo presentan una alta afinidad por las plantas, sino que también pueden influir positivamente en los procesos fisiológicos y morfológicos, promoviendo una mayor absorción de nutrientes, un desarrollo radicular más robusto y una mayor eficiencia en el uso del agua. Además, los efectos de estas NP en la promoción del crecimiento vegetal y su interacción con el suelo abren nuevas oportunidades para optimizar el uso de fertilizantes y mejorar la sostenibilidad agrícola. Por lo tanto, el presente estudio se justifica en la necesidad de investigar los efectos del GO y el NGO en los cultivos de maíz, con el objetivo de comprender mejor su impacto en los parámetros morfométricos y evaluar su potencial para incrementar la productividad agrícola de manera sostenible. Este enfoque no solo contribuirá a la mejora de prácticas agrícolas, sino que también ampliará el conocimiento sobre el uso de nanomateriales en la agricultura moderna.

4. HIPÓTESIS

El óxido de grafeno dopado de nitrógeno (NGO) aumentará la capacidad de germinación y calidad nutricional en forraje verde hidropónico (FVH) de maíz (*Zea mays*) amarillo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto en las variables morfométricas y nutricionales del cultivo de forraje verde hidropónico (FVH) de maíz (*Zea mays*) amarillo expuestas a nanopartículas de grafeno dopado de nitrógeno (NGO).

5.2 Objetivos particulares

- Establecer una metodología para dopar con N las NP de GO.
- Evaluar el efecto del NGO en la germinación de maíz (*Zea mays*) amarillo.
- Evaluar el efecto de NGO en la calidad nutricional y morfología de FVH maíz (*Zea mays*) amarillo.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Obtención de GO

El GO utilizado para estos experimentos fue previamente sintetizado utilizando el método de *Hummers*, el cual consiste en la oxidación del grafito a óxido de grafeno mediante una mezcla de ácido sulfúrico concentrado, nitrato de sodio y permanganato de potasio (Cepeda *et al.*, 2017).

6.2 Síntesis de NGO

Para la síntesis de óxido de grafeno dopado con nitrógeno, se utilizará el método propuesto por Tao, H *et al.*, 2017 con algunas modificaciones. La síntesis del grafeno dopado de nitrógeno (NGO) se dio gracias a la adición de una solución acuosa de amoníaco la cual sirvió como precursor para la formación de los enlaces C-N. Esta solución se mantuvo en un baño ultrasónico por 3 horas a una temperatura no mayor a los 5° C. Se utilizó un enfriador de recirculación para refrigerar la solución del baño ultrasónico (Fig. 10). Las láminas de NGO se recuperaron después de una serie de lavados con agua desionizada y se mantuvieron en una estufa de secado por 48 h para asegurarse que toda el agua se evapora (Fig. 11). Adicionalmente para la caracterización, estas láminas son contrastadas contra láminas de rGO como referencia.



Figura 10. Arreglo experimental del sistema de recirculación para obtener el dopaje de N en las estructuras de GO.

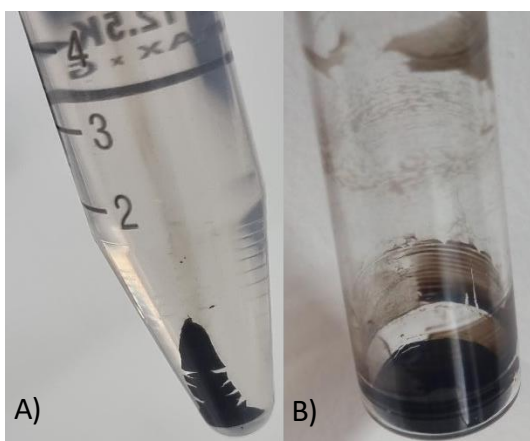


Figura 11. Láminas de NGO; A) NGO antes del secado, B) NGO después del secado.

6.3 Caracterización del GO y NGO

Para la caracterización de las diferentes láminas de grafeno (GO, rGO y NGO) que se usaron para las evaluaciones, se realizaron análisis morfológicos mediante microscopía electrónica de Barrido (SEM), análisis de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS), análisis espectroscópico de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de absorción UV-Vis y difracción de rayos X (XRD).

6.4 Preparación de soluciones stock de y NOG

Se prepararon distintas concentraciones de GO y NOG para las evaluaciones en las plántulas. Las concentraciones seleccionadas se basaron a la literatura consultada, siendo de este modo una dosis baja de 0.5 mg/mL, una dosis media de 1.0 mg/mL y una dosis alta de 2.5 mg/mL.

6.5 Diseño experimental

6.5.1 Preparación de las semillas para etapa de germinación

Las semillas usadas se obtuvieron de una empresa local de insumos agrícolas ubicada al sur de la ciudad de La Paz B.C.S, México. Para la germinación de las semillas (Fig. 12), cada experimento se realizó por triplicado, donde dos cajas Petri se consideraron como una réplica que contenían 5 unidades experimentales cada una. Las semillas fueron desinfectadas de la siguiente manera: 1) durante 30 segundos se sumergieron en una solución de alcohol al 70%, 2) posteriormente durante 15 segundos se sumergieron en agua destilada estéril 3) fueron sumergidas por 30 segundos en una solución de hipoclorito al 1% y 4) un último lavado de 15 segundos en agua

destilada estéril. Finalmente, las semillas fueron clasificadas por su tamaño y forma y se colocaron 5 semillas en una caja Petri donde con anterioridad se había colocado un papel filtro estéril que previamente fue humedecido con los tratamientos. Para asegurar que la humedad dentro de la caja Petri fuera la suficiente, las semillas se cubrieron con otro papel filtro (Fig. 13). Estas cajas fueron llevadas a una cámara de germinación donde se mantuvieron 5 días a una temperatura de 26°C con una humedad relativa al 50% y 0 h luz.

6.6 Preparación de las semillas para FVHM

Para las plántulas de FVHM (Fig. 12), cada experimento se realizó por triplicado y se utilizó un recipiente individual con pared alta por tratamiento (Fig. 14). Se consideró como una réplica cada recipiente, el cual contenía 30 unidades experimentales. Las semillas pasaron por un proceso de desinfección mediante la aplicación de una solución de cal al 1% durante 24 h; finalizado este tiempo, se lavaron con agua destilada estéril y se mantuvieron en oscuridad total, finalmente, después de 48 h se pasaron a los recipientes correspondientes a cada tratamiento (Fig. 14). La irrigación del FVH de maíz se llevó a cabo cada 4 h con los diferentes tratamientos. Esta irrigación se realizó durante 12 días.

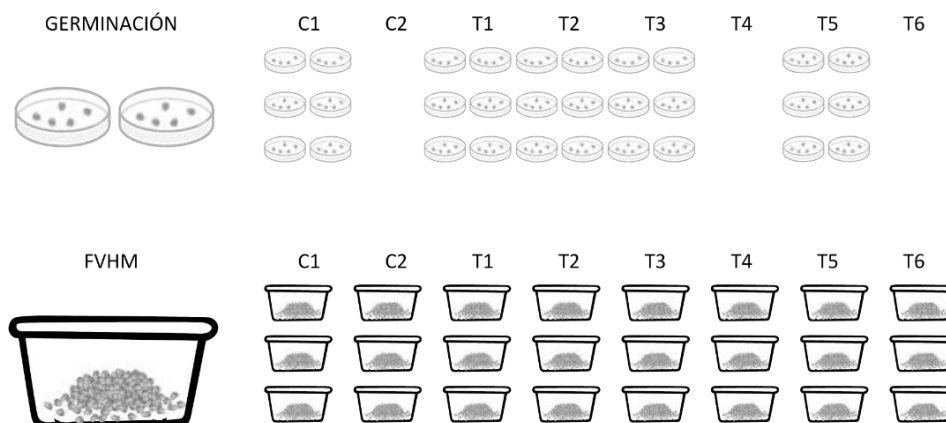


Figura 12. Arreglo experimental para: A) la etapa de germinación en cajas Petri y B) etapa de producción de FVHM en recipiente de los tratamientos con NOG, OG y control fueron los siguientes: C1 = Agua, C2 = Solución de Hoagland, T1 = OG con 0.5 mg/mL, T2 = OG.

Adicionalmente, como control se utilizó una la solución nutritiva Hoagland, que se formuló bajo lo siguiente (en mg/L): 492 MgSO_4 ; 1.81 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 2.86 H_3BO_3 ; 0.22 $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0.078 $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.12 $\text{NaMoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 1.8 CaCl_2 , 16 KSO_4 ; 0.5 K_2HPO_4 ; 100 KNO_3 ; 3 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y 0.06 mL de una solución con 0.5 % de FeSO_4 + 0.4 % de ácido tartárico.



Figura 13. Fotografía de una caja Petri con semillas de maíz utilizadas en los experimentos de germinación.



Figura 14. Arreglo experimental para la producción de FVHM.

6.7 Preparación de muestras para determinar parámetros morfométricos y nutricionales

6.7.1 Etapa de germinación

Después de los 5 días que pasaron las semillas en la cámara de germinación las muestras de raíces y las partes aéreas se separaron cuidadosamente, se lavaron y se les quitó el agua adherida con ayuda de un papel filtro. A estas plántulas se les midió la longitud, superficie y área proyectada de las raíces usando el escáner y *software* especializado WinRHIZO™.

Para el análisis nutricional las muestras se liofilizaron y se trituraron hasta obtener un polvo fino,

posteriormente se realizó el análisis nutricional, bajo la siguiente metodología:

A) Proteínas: Por BCA: se utiliza la técnica del Ácido Bicinconínico o BCA, se basa en el principio de que las proteínas reducen los iones cúpricos a iones cuprosos bajo condiciones alcalinas. Los iones cuprosos reaccionan con el ácido bicinconínico, sal sódica (verdoso) para formar un color morado. El color formado es proporcional al contenido proteico de la muestra. Se utiliza una solución reactiva comercial de Sigma (solución de ácido bicinconínico B9643 y solución de sulfato de cobre II C2284). La concentración de proteínas se calcula de acuerdo con la ecuación 4:

$$\text{Conc. de proteínas } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right) = \frac{\text{Abs.sol.prob} \times FD}{m \times \text{peso de la muestra}} \quad (4)$$

Donde: *FD* es el factor de dilución y *m* es la pendiente en la curva tipo. La *concentración* se expresa en miligramos por gramo (*mg/g*).

B) Carbohidratos: se toman 0.2 mL de homogeneizado de cada muestra y se mezclaron con 0.2 mL de Ácido Tricloroacético (TCA) al 20% en tubos eppendorf de 0.65 mL, esto con la finalidad de precipitar proteínas que interfieren en la medición de carbohidratos. Los tubos se centrifugaron a 3600 rpm (1376 g) por 10 minutos a 4°C en una centrifuga refrigerada (Eppendorf 5810 R). Se recuperó el sobrenadante en tubos limpios. Para determinar la concentración de carbohidratos totales se utilizó un método basado en Roe *et. al.*, (1957) en el cual, 0.1 mL de sobrenadante se colocaron en un tubo de vidrio, se le agregó 1 ml de solución de antrona 0.1% diluida en H₂SO₄ al 72%. Se calentaron a baño maría a 90 °C durante 5 minutos y se enfriaron en baño de hielo. Se leyó su absorbancia en un espectrofotómetro (Thermo, Helios Omega) a 620 nm. **Curva tipo:** La solución estándar de carbohidratos contiene 5mg/ml, se prepararon diluciones en proporción 1:2, en 500µl de TCA, quedando concentraciones de 5, 2.5 1.25, 0.625, 0.3125, 0.15625, 0.078125 mg/ml de carbohidratos. La cantidad de carbohidratos se calculó con la siguiente relación (Ecuación 5):

$$\text{Conc. de carbohidratos } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}}\right) = \frac{\text{Abs.sol.prob} \times FD}{m \times \text{peso de la muestra}} \quad (5)$$

Donde: *m* es la pendiente en la curva tipo y *FD* es el factor de dilución

C) Lípidos: para esta técnica, se utiliza el método de la sulfafosfovainillina según Barnes y Balckstock (1973). Una alícuota de 0.025mL (25µL) de cada muestra, se pone en tubos de vidrio,

se les agrega 0.25mL de ácido sulfúrico concentrado y se incuban a baño maría a 90°C, por 10 minutos. Los tubos se enfrían en baño de hielo, posteriormente se toman 20 µL de cada tubo y se colocan en el fondo del pozo de una microplaca (placa elisa) de 96 pozos, se le agrega solución reactiva para lípidos (fosfovainillina al 0.2% en ácido sulfúrico al 80%) se deja incubar la placa por 40 minutos a temperatura ambiente y se leen en un espectrofotómetro de microplacas (Termo Multiskan spectrum) a 540 nm. Al mismo tiempo que las muestras se hace reaccionar una curva de calibración la cual se prepara de la siguiente manera: curva tipo: La solución estándar de lípidos (Lin-Trol Sigma L2648) contiene 20mg/ml, de ésta se preparan diluciones en proporción 1:2, en 1mL de solución salina, quedando concentraciones de 10, 5, 2.5 1.25, 0.625, 0.3125y 0.15625, mg/ml de lípidos. Se utiliza solución salina como blanco. La cantidad de lípidos se calcula con la siguiente relación (Ecuación 6).

$$Conc. \text{ de lípidos } \left(\frac{mg}{g} \right) = \frac{Abs.sol.prob \times FD}{m \times peso \text{ de la muestra}} \quad (6)$$

Donde: m es la pendiente en la curva tipo y FD es el factor de dilución

6.7.2 Etapa de FVH

Después de que las semillas alcanzaron el estado de plántula, estas se cosecharon y se pesaron para obtener los pesos frescos. Después de secarlas durante 12 h a 90 °C en un horno, las muestras se pesaron nuevamente para obtener los pesos secos y se realizó el mismo análisis nutricional para determinar la calidad de los nutrientes del germinado, como se describe en el punto 6.6 de esta metodología, con la modificación de que para el homogeneizado de FVH, se utilizaron todas las partes de la plántula y el tiempo de liofilización fue mayor debido al contenido de agua presente en las plántulas.

6.8 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se realizaron pruebas de homogeneidad y homocedasticidad. Se aplicó una prueba ANOVA para datos paramétricos y, en caso de no cumplir con los supuestos de normalidad, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos. Para las comparaciones post hoc, se empleó la prueba de Tukey HSD en los datos paramétricos y la prueba de Dunn en los datos no paramétricos, considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$.

7. RESULTADOS

7.1 Espectroscopia de absorción UV-Vis

En la Fig. 15 podemos observar los espectros UV-Vis obtenidos de los diferentes alótropos de carbono que se usaron en este trabajo. La línea negra corresponde al GO y presenta dos bandas de absorbancia debido a las distintas transiciones de los enlaces π - π^* con un máximo en 230 nm y 250 nm. En esta última banda, puede verse atribuido dicho desplazamiento a un mayor grado de desoxigenación, algo muy similar al espectro de ROG, donde podemos apreciar que no se encuentra una clara banda de absorbancia, lo que podría significar en una baja cantidad de grupos oxigenados anclados a la red grafénica. Mientras que el NOG presenta una banda de absorción en 240 nm de igual manera atribuida a los enlaces simples C – C, lo que determinaría una mayor cantidad de enlaces simples N – C.

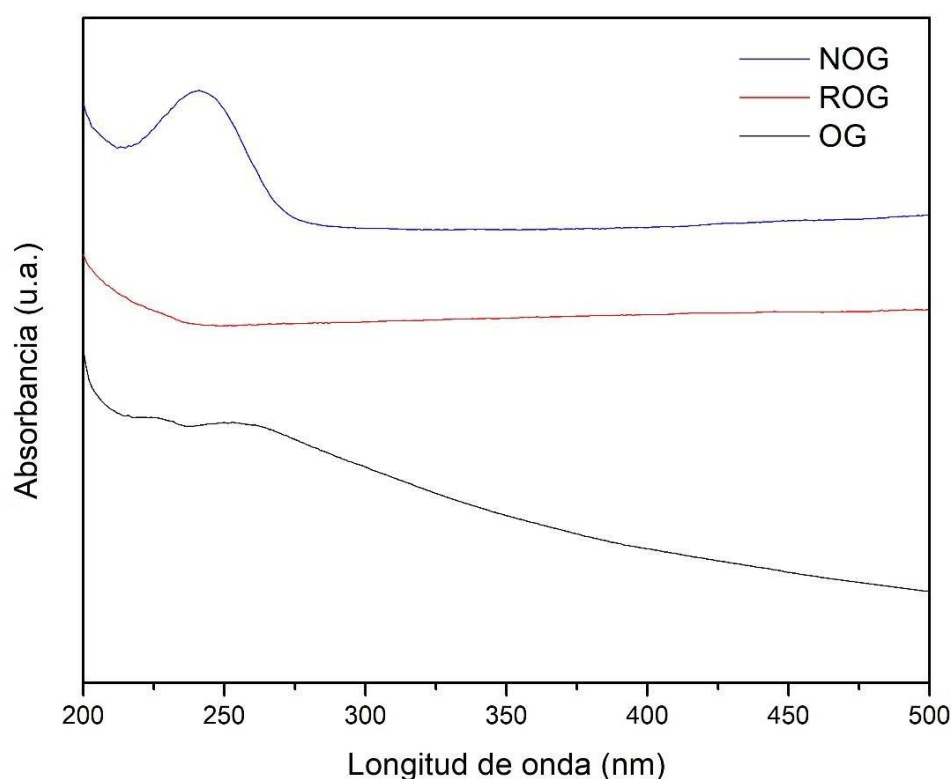


Figura 15. Espectrografía UV – vis de óxido de grafeno (GO), óxido de grafeno reducido (ROG) y óxido de grafeno dopado de nitrógeno (NOG).

7.2 Espectroscopia FTIR

Los espectros FTIR (Fig.16) resultantes proporcionaron información sobre la composición química y los grupos funcionales anclados a las redes grafénicas. Para el espectro de GO se pueden

observar los picos característicos a los grupos carbonilo C=O los cuales, en este trabajo se encuentran en $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$, también se pueden observar algunos picos que sugieren la presencia de agua o posibles grupos hidroxilo que pueden estar interactuando en la red gráfenica, los cuales se encuentran $\sim 1400\text{ cm}^{-1}$, en cuanto a los grupos que se encuentran entre $\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ y $\sim 1300\text{ cm}^{-1}$, indican picos característicos de grupos relacionado con enlaces éter y grupos hidroxilo respectivamente, los cuales son comunes en las láminas de GO debido a la oxidación presente. En cuanto al espectro de ROG, podemos encontrar un pico característico en $\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ el cual, al igual que en el GO, indica la presencia de grupos carbonilo, lo cual indica que el nivel de reducción es mayor en comparación de los demás espectros. Finalmente, para el espectro de NOG, podemos observar picos característicos en $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ los cuales corresponden a grupos imina (C=N) y en $\sim 1100 - 1200\text{ cm}^{-1}$ correspondientes a los picos característicos de los grupos amina (C-N), también podemos notar grupos hidroxilo (C=OH) y carbonilo (C=O), los cuales en comparación al GO, son picos menos pronunciados lo que significa la disminución de estos grupos.

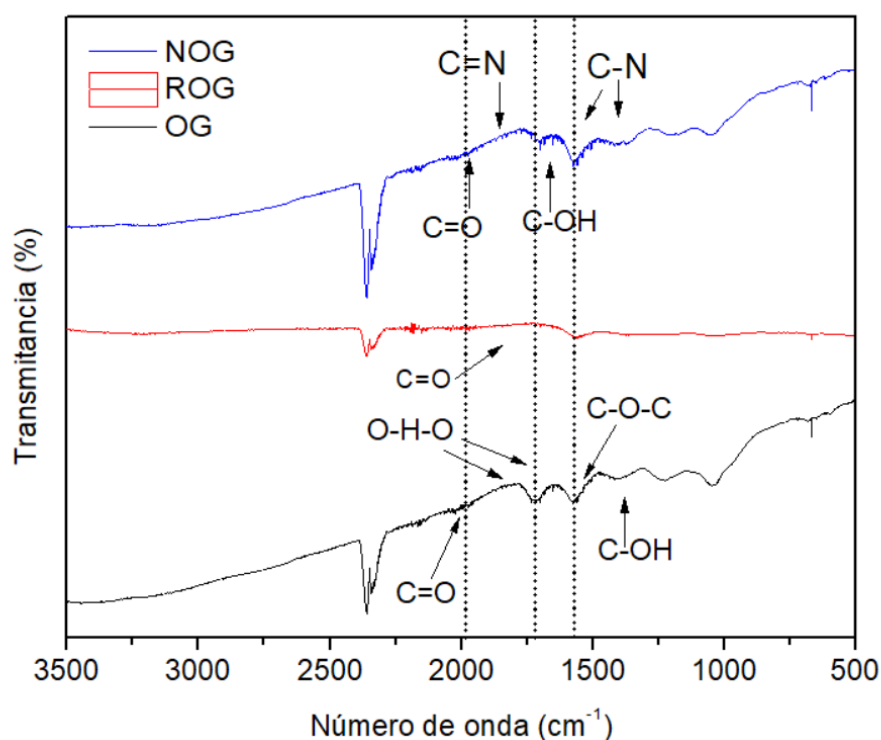


Figura 16. Espectros FTIR de GO, ROG Y NOG.

7.3 Espectroscopia XRD

Los espectros XRD (Fig.17) proporcionan información sobre la estructura cristalina en los

materiales analizados. En este caso, se están comparando los alótropos de óxido de grafeno (GO, ROG, y NGO) que se usaron en este estudio. Primeramente, en el difractograma correspondiente al GO muestra un pico prominente alrededor de $2\theta \approx 10^\circ$, que representa la distancia interlaminar entre las láminas de grafeno, la cual es dada debido a la introducción de grupos oxigenados, como carboxilos e hidroxilos, entre las capas. En el espectro de ROG, se observa que el pico correspondiente a los grupos anteriormente mencionados ($2\theta \approx 10^\circ$) prácticamente desaparece, lo cual es indicativo de la reducción exitosa del GO. La reducción química de GO elimina muchos de los grupos oxigenados que separan las capas de grafeno, lo que provoca el colapso de la estructura en capas y un aumento en la cristalinidad de las láminas de carbono. El espectro NGO muestra algunas diferencias clave. Se observa un pico alrededor de $2\theta \approx 26-27^\circ$, lo que sugiere que el dopaje de nitrógeno ha inducido un reordenamiento de las láminas de grafeno hacia una estructura más cristalina. Esto debido a que los átomos de nitrógeno sustituyen algunos de los átomos de carbono en la red grafénica, lo que afecta las interacciones entre capas y puede llevar a un reordenamiento parcial. En este espectro, el pico es algo más definido en comparación con GO y ROG, lo que sugiere una mayor organización estructural después del dopaje.

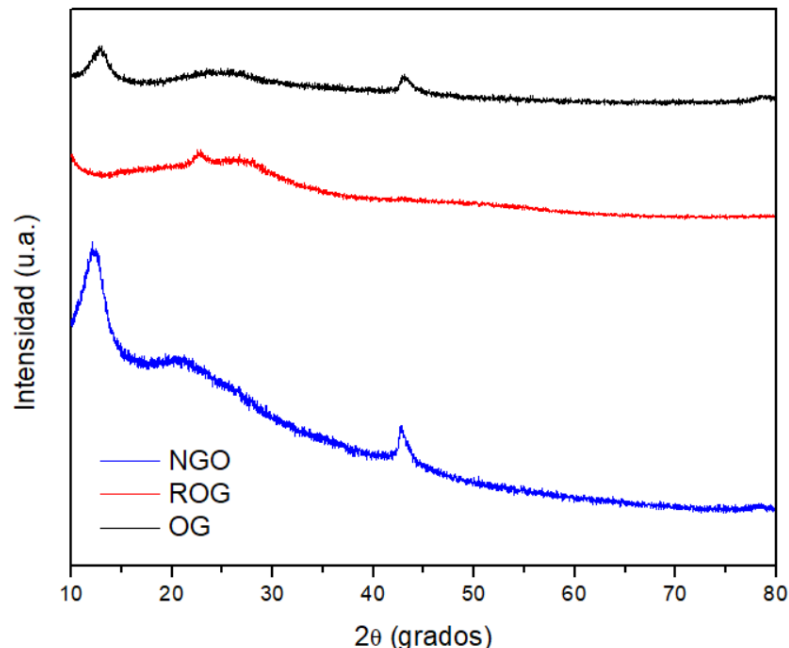


Figura 17. Patrones XRD para muestras de óxido de grafeno (GO), óxido de grafeno reducido (ROG) y óxido de grafeno dopado de nitrógeno (NOG).

7.4 Espectroscopia XPS

En la Fig. 18 se ilustra la composición elemental de la muestra de NOG, en el eje horizontal, se presentan los elementos identificados mediante XPS, donde se observa la presencia de carbono (C), oxígeno (O) y nitrógeno (N) como principales componentes. En el eje vertical, se muestra el porcentaje de cada elemento en función del total.

La mayor proporción corresponde al C, representando un 83.05% de la composición total, lo cual es característico del óxido de grafeno. A continuación, el O representa un 11.89%, reflejando los grupos funcionales oxigenados asociados al grafeno y finalmente, el N con un 4.49%, confirma el proceso de dopaje, esencial para modificar las propiedades electrónicas y químicas de la estructura de óxido de grafeno.

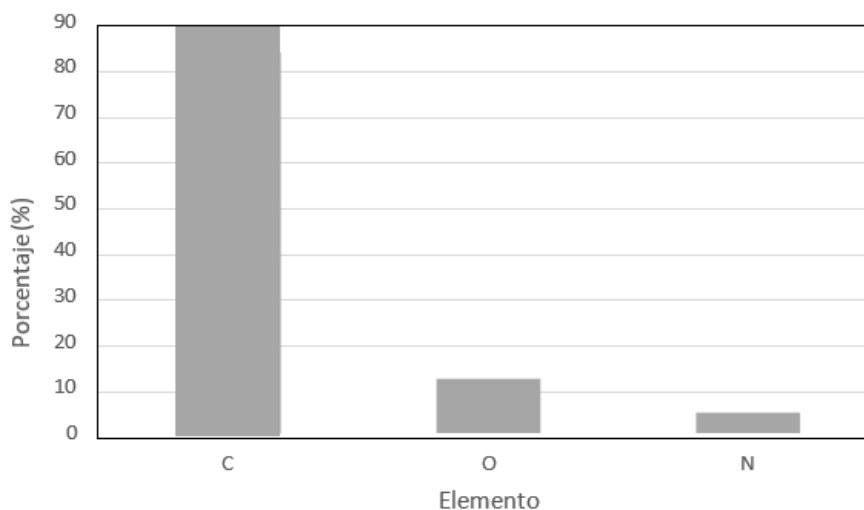


Figura 18. Composición elemental de la muestra de NOG.

7.5 Microscopia electrónica de barrido

La Fig. 19 muestra una estructura típica de NOG, en la cual, sus laminas presentan bordes bien definidos a una magnificación de 5000X. Estas láminas parecen estar plegadas o apiladas, lo que es característico de materiales bidimensionales como el grafeno y sus derivados al momento de secarse (deshidratación) y quedar apilados uno sobre otro.

Esta morfología indica que las láminas de NOG están parcialmente exfoliadas, aunque aún puede haber algunos aglomerados. Su textura rugosa está relacionada con la presencia de grupos

funcionales oxigenados y nitrogenados en la superficie. Estas rugosidades y pliegues pueden ser el resultado de las tensiones causadas por los procesos de dopaje con nitrógeno, ya que la inserción de átomos de nitrógeno en la red de carbono puede distorsionar la estructura y aumentar la rugosidad. En algunas zonas, las láminas parecen estar apiladas, lo que sugiere la formación de aglomerados. Este comportamiento es común en láminas de óxido de grafeno y sus derivados, ya que las interacciones entre las capas (fuerzas de Van der Waals) tienden a hacer que se apilen espontáneamente.

El dopaje con nitrógeno puede alterar ligeramente estas interacciones, pero la aglomeración sigue siendo un comportamiento típico. Esta segunda imagen presenta un mayor nivel de magnificación 25,000X a 1 μm , lo que permite observar con más detalle la morfología y los rasgos superficiales de las láminas de óxido de grafeno dopado con nitrógeno. Al igual que en la primera imagen, se observa que las láminas de grafeno dopado con nitrógeno tienen una estructura plegada o arrugada.

A esta mayor magnificación, se puede notar que algunas áreas de las láminas parecen tener una superficie más lisa en comparación con otras zonas que presentan mayor número de pliegues. Esto podría estar relacionado con la distribución de los grupos nitrogenados en la superficie. Las zonas más lisas podrían corresponder a áreas con menos defectos o menor concentración de grupos funcionales, mientras que las áreas más arrugadas podrían ser indicativas de una mayor funcionalización.

En la tercera imagen se presenta un nivel de magnificación de 50,000X a 100 nm, en esta magnificación, los pliegues y arrugas en la estructura de NOG son más evidentes. La superficie en esta imagen es más rugosa en comparación con las demás imágenes, lo que podría deberse a la concentración de grupos funcionales. Las arrugas adicionales pueden estar relacionadas con la presencia grupos nitrogenados que inducen deformaciones en la estructura del grafeno.

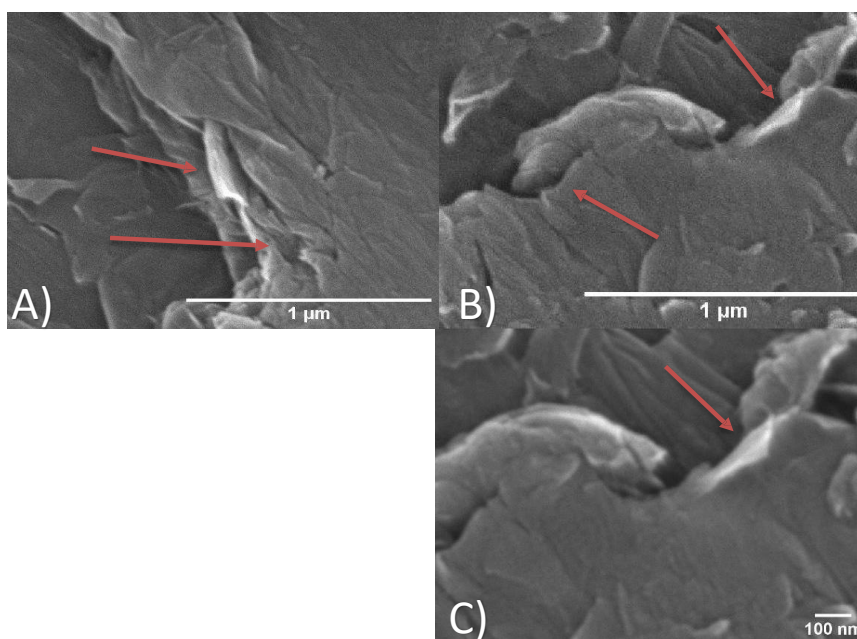


Figura 19. Láminas de NOG; A) Magnitud: 25000, B) Magnitud 5000, C) Magnitud: 50000

7.6 Etapa de germinación

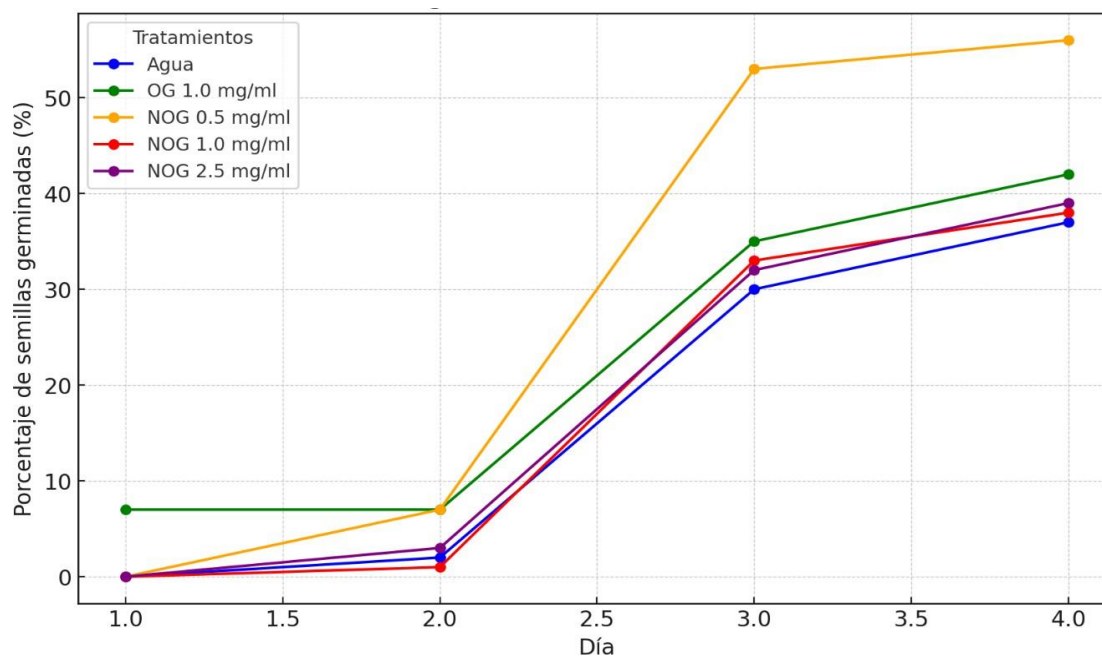


Figura 20. Porcentaje de semillas germinadas.

La Fig. 20 muestra el comportamiento de la germinación de las semillas cuando son tratadas con OG y NOG; en el eje horizontal se presentan los días transcurridos desde el inicio del experimento, mientras que en el eje vertical se observa el número acumulado de semillas germinadas. Se

observa que los tratamientos con OG y NOG (T2, T4, T5 y T6) tienden a acelerar el proceso de germinación en comparación con el control (C1), reflejando una mayor acumulación de semillas germinadas en los primeros días del experimento. Sin embargo, las diferentes concentraciones también muestran variaciones en la velocidad y el total acumulado de germinación, lo que indica posibles efectos diferenciados de cada tratamiento sobre la germinación.

7.7 Evaluación de la longitud, área y superficie proyectada de semillas germinadas

La Fig. 21 presenta un diagrama de caja y bigotes que muestra la comparación de la longitud promedio de las plántulas germinadas bajo diferentes tratamientos. A través del análisis de varianza (ANOVA) y una prueba post hoc de Tukey, se determinaron las diferencias significativas entre los tratamientos. En el gráfico, se han etiquetado con letras las comparaciones entre tratamientos para indicar aquellas que muestran diferencias estadísticamente significativas. Tratamientos que no comparten letras presentan diferencias en la longitud promedio con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Algunos tratamientos, como Agua y NOG 2.5 mg/ml, muestran diferencias notables en comparación con otros tratamientos. De igual manera, se observó que varios pares de tratamientos, como Agua y NOG 0.5 mg/ml y NOG 0.5 mg/ml y NOG 1.0 mg/ml, no presentan diferencias estadísticamente significativas, lo cual sugiere que el aumento en la concentración de los tratamientos de NOG dentro de este rango no genera un incremento significativo en la longitud promedio de las plántulas. Finalmente, el que presentó una menor longitud en las raíces fue el OG a concentración de 1.0 mg/ml.

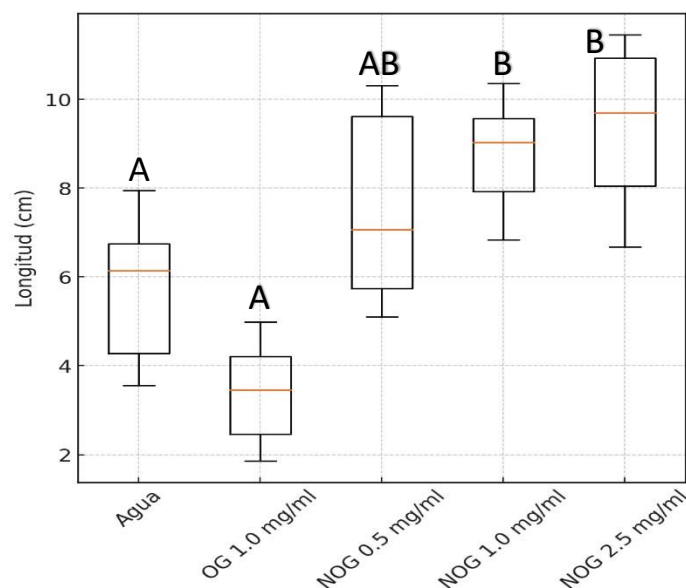


Figura 21. Longitud promedio de raíces de semillas maíz.

El análisis estadístico de varianza (ANOVA) realizado sobre el área proyectada entre los diferentes tratamientos indica una diferencia estadísticamente significativa entre al menos uno de los grupos ($F=3.13$, $p=0.032$). Esto sugiere que los tratamientos no tienen el mismo efecto en el área proyectada y que algunos tratamientos, especialmente aquellos con nanopartículas, podrían estar asociados a un incremento en el área proyectada tal como lo muestra la Fig. 22.

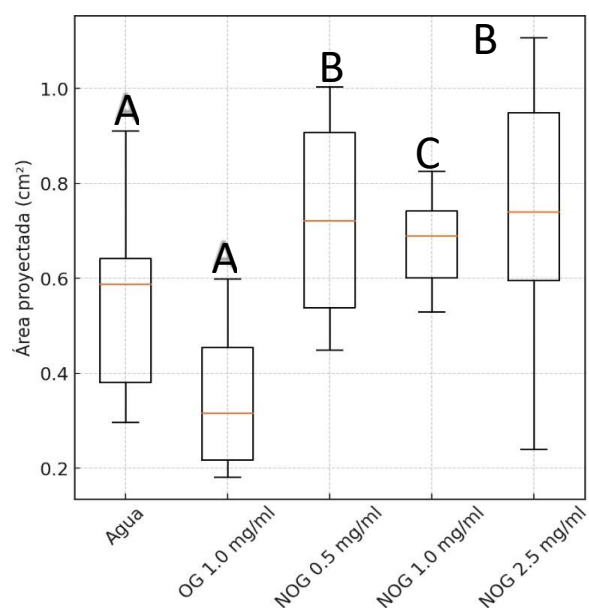


Figura 22. Área proyectada promedio de las raíces de maíz.

A continuación, se aplicó una prueba post-hoc de comparaciones múltiples de Tukey HSD para identificar específicamente cuáles de estos tratamientos difieren significativamente entre sí, los resultados obtenidos después de estas pruebas nos dicen que los tratamientos con NOG a concentraciones de 1.0 mg/ml y 2.5 mg/ml muestran incrementos significativos en el área proyectada en comparación con el control (agua).

No se observó una diferencia significativa entre los tratamientos OG y NOG 0.5 mg/ml y el control, sugiriendo que concentraciones menores de NOG o el uso de OG cuando no es dopado de N, no producen el mismo efecto en la extensión del área proyectada. Este análisis adicional confirma que el uso de nanopartículas, particularmente de NOG en concentraciones de 1.0 mg/ml o superiores, produce un incremento significativo en el área proyectada en comparación con el control.

Para la superficie proyectada, se realizó un ANOVA indica una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos para la superficie proyectada ($F=3.29$, $p=0.027$), lo cual sugiere que al menos uno de los tratamientos tiene un efecto distinto en comparación con los demás, como lo muestra la siguiente Fig. 23.

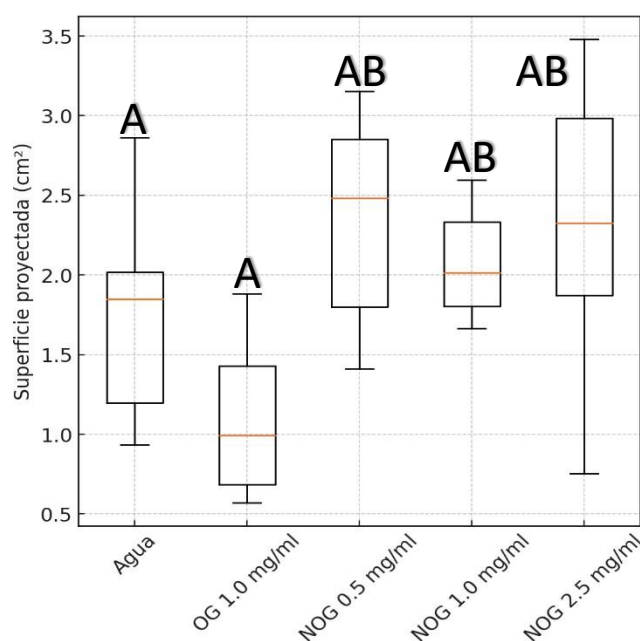


Figura 23. Superficie proyectada de raíces de semillas de maíz.

A continuación, se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey HSD para identificar las diferencias específicas entre los tratamientos, los tratamientos con NOG 1.0 mg/ml y NOG 2.5 mg/ml presentan una superficie proyectada significativamente mayor en comparación con el control (Agua) y algunos de los tratamientos a concentraciones menores. OG 1.0 mg/ml y NOG 0.5 mg/ml no presentan diferencias significativas respecto al control ni entre sí, sugiriendo que estas concentraciones de nanopartículas no logran incrementar la superficie proyectada de manera significativa.

Estos resultados indican que el uso de nanopartículas de óxido de grafeno nitrogenado (NOG) en concentraciones de 1.0 mg/ml y superiores puede mejorar las características estructurales de las plantas, en este caso, la superficie proyectada. Este incremento en la superficie podría asociarse a una mayor eficiencia en la captación de luz y en la cobertura foliar, aspectos cruciales para optimizar el rendimiento de cultivos. Por tanto, concentraciones elevadas de NOG tienen un potencial prometedor en aplicaciones agrícolas para mejorar el desarrollo de las plantas y la productividad.

7.8 Evaluación de carbohidratos, proteínas y lípidos en semillas germinadas

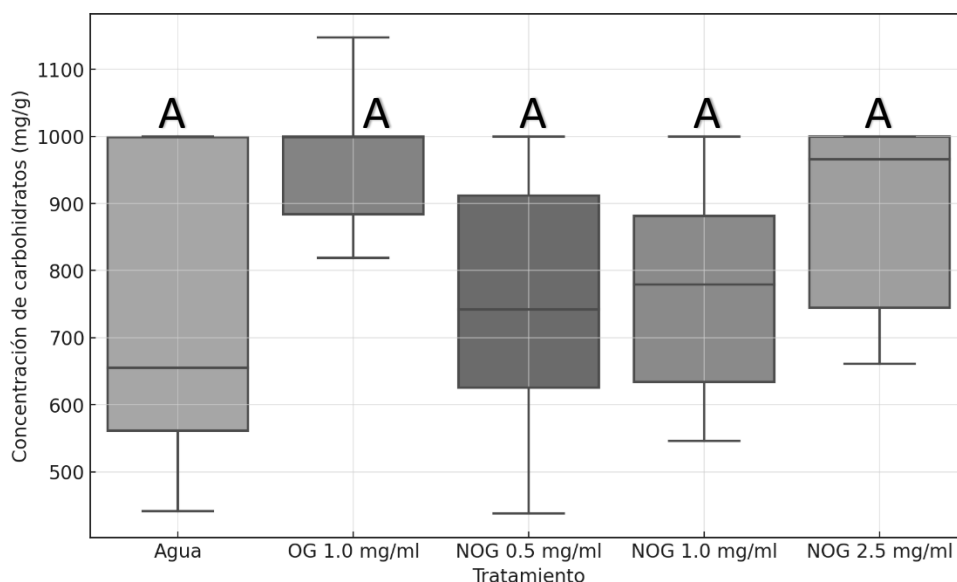


Figura 24. Concentración de carbohidratos total.

Para evaluar la concentración de carbohidratos se realizó un ANOVA de una vía en donde se mostró un valor de F de 2.53 y un valor p de 0.057. Estos resultados indican que, aunque no se detectan diferencias estadísticamente significativas al nivel de significancia de 0.05, el valor p cercano a este rango, sugiere una posible tendencia hacia diferencias en la concentración de carbohidratos entre tratamientos. Esto es particularmente relevante, ya que implica que algunos tratamientos podrían estar asociados con una mayor acumulación de carbohidratos, aunque no se alcanza el porcentaje de significancia requerido para confirmar un efecto consistente.

El análisis post-hoc con la prueba de Tukey HSD también respalda esta conclusión: ninguna comparación específica entre pares de tratamientos muestra diferencias significativas en las concentraciones de carbohidratos, lo cual refuerza la falta de evidencia concluyente de efectos diferenciados. Sin embargo, como se puede apreciar en la Fig. 24, las medias de algunos tratamientos, como OG 1.0 mg/ml, muestran una concentración de carbohidratos mayor en comparación con otros tratamientos como el del Agua y NOG a una concentración de 0.5 mg/ml lo que sugiere una tendencia que podría ser significativa en estudios con mayor tamaño de muestra o en condiciones experimentales modificadas.

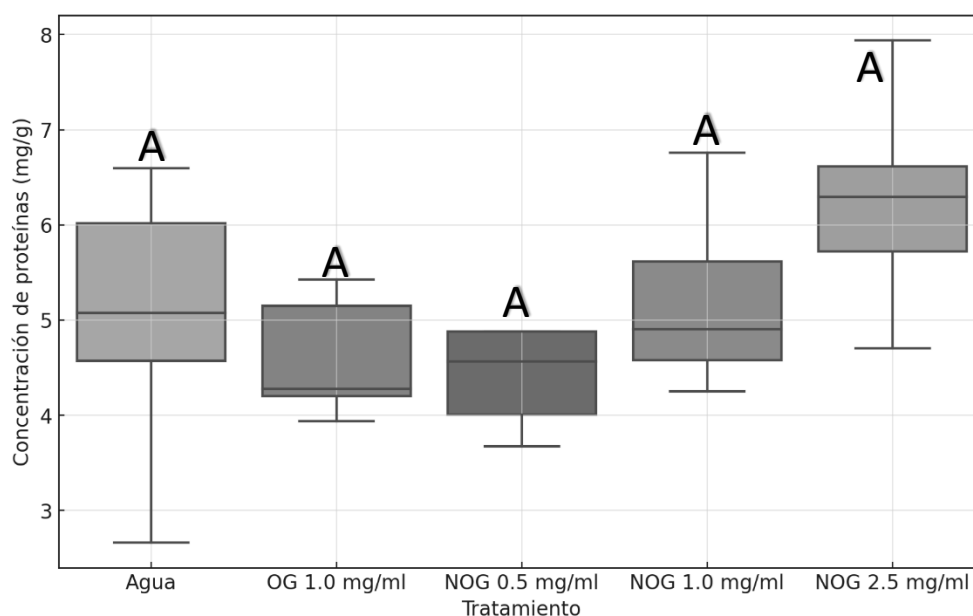


Figura 25. Concentración de proteínas totales.

De igual manera se hizo un análisis de la concentración de proteínas después de la germinación de las semillas de maíz. La prueba ANOVA de una vía realizada para las concentraciones de proteínas entre tratamientos arrojó un valor de F de 0.86 con un valor p de 0.496, indicando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en cuanto a la concentración de proteínas al nivel de significancia de 0.05. Este resultado sugiere que, bajo las condiciones experimentales, los tratamientos aplicados no ejercen un efecto diferenciado en la acumulación de proteínas en el sistema estudiado.

Posteriormente, se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey HSD, cuyo análisis tampoco reveló diferencias significativas entre pares de tratamientos. Como podemos observar en la Fig. 25, las diferencias promedio entre los tratamientos son mínimas y los intervalos de confianza incluyen el valor cero en la mayoría de los casos, lo cual refuerza la conclusión de que no existen efectos diferenciadores entre los tratamientos en relación con la concentración de proteínas.

En el contexto de este trabajo, estos resultados pueden sugerir que los tratamientos evaluados no inducen una respuesta marcada en la acumulación de proteínas, lo que puede ser un indicador de la estabilidad proteica en respuesta a los tratamientos de OG y NOG. Este resultado podría interpretarse como una estabilidad en la expresión proteica en las condiciones de los tratamientos, sin aumentos o disminuciones sustanciales en la concentración de proteínas.

Finalmente, para el análisis de la concentración de lípidos se realizó un análisis estadístico ANOVA realizado para las concentraciones de lípidos entre los tratamientos arrojó un valor de F de 0.189 y un valor p de 0.943. Este resultado indica que no hay diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de lípidos entre los tratamientos al nivel de significancia de 0.05. En otras palabras, los tratamientos no afectan de manera diferencial la acumulación de lípidos en el sistema estudiado.

Esta falta de significancia estadística se refuerza con el análisis post-hoc mediante la prueba de Tukey HSD, que tampoco muestra diferencias significativas en las comparaciones entre pares de tratamientos, así como se muestra en la Fig. 26.

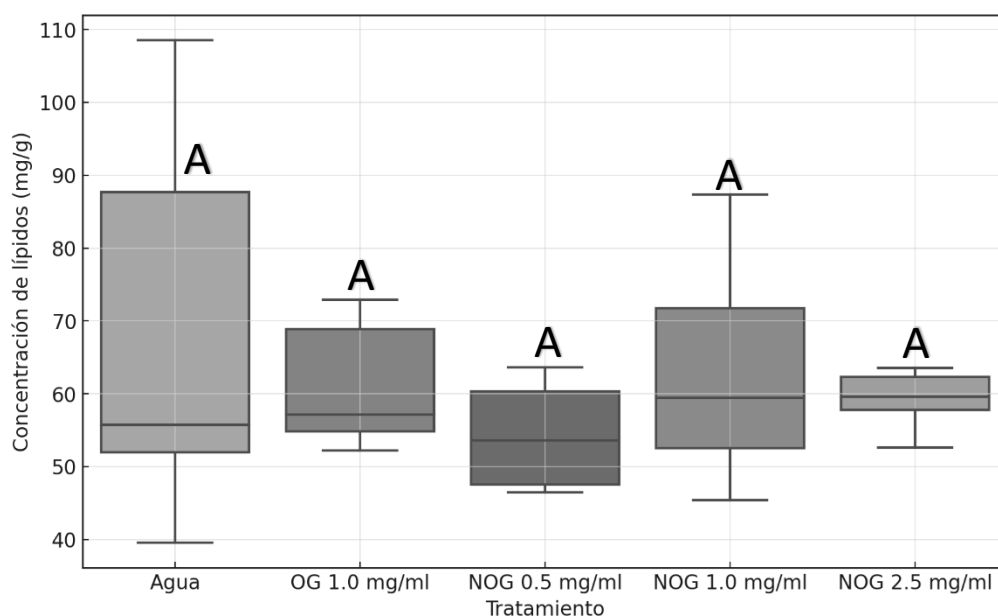


Figura 26. Concentración de lípidos totales.

Estos resultados sugieren los tratamientos evaluados no tienen un efecto significativo en la acumulación de lípidos en las semillas de maíz. Este resultado podría interpretarse como una estabilidad en la composición lipídica en respuesta a los tratamientos, lo cual es relevante, ya que los lípidos desempeñan funciones esenciales en la estructura y función celular, y su estabilidad indica que los tratamientos no alteran los procesos relacionados con el metabolismo de lípidos.

7.9 Evaluación de carbohidratos, proteínas y lípidos en FVHM

Para evaluar la distribución de las variables "Carbohidratos," "Proteínas" y "Lípidos" en cada tratamiento, se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Los resultados mostraron que las concentraciones de carbohidratos ($p = 0.553$) y proteínas ($p = 0.580$) se distribuyen de forma normal ($p > 0.05$), mientras que los lípidos ($p = 0.001$) no siguen una distribución normal ($p < 0.05$). Que los datos de carbohidratos y proteínas sigan una distribución normal sugiere que las concentraciones de estos componentes presentan una variabilidad y un comportamiento simétrico alrededor de la media dentro de cada grupo de tratamiento.

Esto implica que la mayoría de los valores de concentración de carbohidratos y proteínas se agrupan cerca de un promedio, con menos valores en los extremos. Por otro lado, el hecho de

que la concentración total de los lípidos no siga una distribución normal indica que la distribución de sus valores es asimétrica o tiene valores extremos que desvían la forma de la distribución de la simetría típica de la curva normal en algunos o todos los tratamientos. Esta falta de normalidad podría deberse a variaciones biológicas en la respuesta de los lípidos a los diferentes tratamientos, a la presencia de valores atípicos o a una dispersión significativa de las concentraciones en los datos.

La prueba de Levene se aplicó para verificar la homogeneidad de las varianzas entre los tratamientos en cada uno de los componentes analizados. Los resultados indicaron que no existen diferencias significativas en la variabilidad de los datos entre tratamientos para carbohidratos ($p = 0.446$), proteínas ($p = 0.503$) y lípidos ($p = 0.978$). Esto cumple con el requisito de varianza homogénea para la aplicación de pruebas paramétricas en carbohidratos y proteínas.

Con base en los resultados anteriores, se seleccionaron pruebas paramétricas (ANOVA) para carbohidratos y proteínas, y una prueba no paramétrica (Kruskal-Wallis) para lípidos. Para los carbohidratos la prueba ANOVA no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($p = 0.182$), indicando que el tratamiento no afecta significativamente la concentración total de carbohidratos. En la concentración de proteínas la prueba ANOVA reveló una diferencia significativa entre los tratamientos ($p = 0.026$). Esto sugiere que los tratamientos aplicados tienen un efecto sobre la concentración total de proteínas, por lo que se realizó una prueba post-hoc de Tukey para identificar las diferencias específicas. Finalmente, para la concentración de lípidos la prueba de Kruskal-Wallis indicó una diferencia significativa entre los tratamientos ($p = 0.050$). Dado que no se cumple la normalidad en lípidos, se utilizó una prueba post-hoc de Dunn para determinar las diferencias entre grupos.

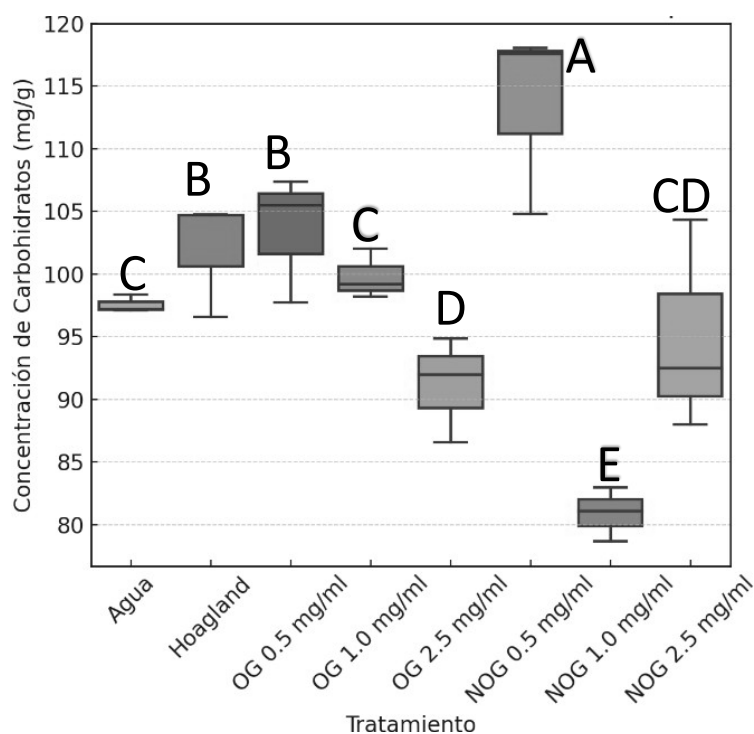


Figura 27. Concentración de carbohidratos en FVHM.

Una vez realizado el análisis estadístico, en la Fig. 27 podemos observar la distribución de las concentraciones de carbohidratos en los diferentes tratamientos aplicados, incluyendo Agua (C1), Hoagland (C2) como controles, y las diferentes formulaciones de OG y NOG en distintas concentraciones (0.5, 1.0 y 2.5 mg/ml). Este análisis permite evaluar la variabilidad en la respuesta de la concentración de carbohidratos de las muestras de FVHM ante diferentes tratamientos.

De manera general se puede observar que, las medianas de cada grupo de tratamiento se encuentran en rangos cercanos, lo que sugiere una cierta consistencia en los valores centrales de concentración de carbohidratos entre tratamientos. Las formulaciones con OG y NOG a concentraciones de 0.5 mg/ml presentan valores de concentración de carbohidratos superiores en comparación con tratamientos de menor concentración (1.0 y 2.5 mg/ml) aunque muy similar a los resultados obtenidos cuando se aplica la solución nutritiva del Hoagland, lo cual indica que las concentraciones más altas de OG y NOG pueden inducir una menor acumulación de carbohidratos en los tejidos vegetales.

Estos resultados indican que los tratamientos con concentraciones elevadas de óxido de grafeno y óxido de grafeno nitrogenado pueden promover cambios significativos en el contenido de carbohidratos en las plantas. Este hallazgo es relevante en el contexto de la agronanotecnología, ya que sugiere que el uso de nanomateriales específicos podría modular el metabolismo de carbohidratos, con posibles implicaciones para la mejora del rendimiento y la calidad nutricional de los cultivos en sistemas agrícolas.

La Fig. 28 muestra la distribución de las concentraciones de proteínas en función de los diferentes tratamientos aplicados: Agua (C1), Hoagland (C2), y formulaciones de OG y NOG en concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.5 mg/ml. Este análisis permite examinar cómo las diversas concentraciones de nanomateriales afectan la acumulación de proteínas en las muestras de FVHM, proporcionando información valiosa sobre el impacto de las NP en el metabolismo proteico.

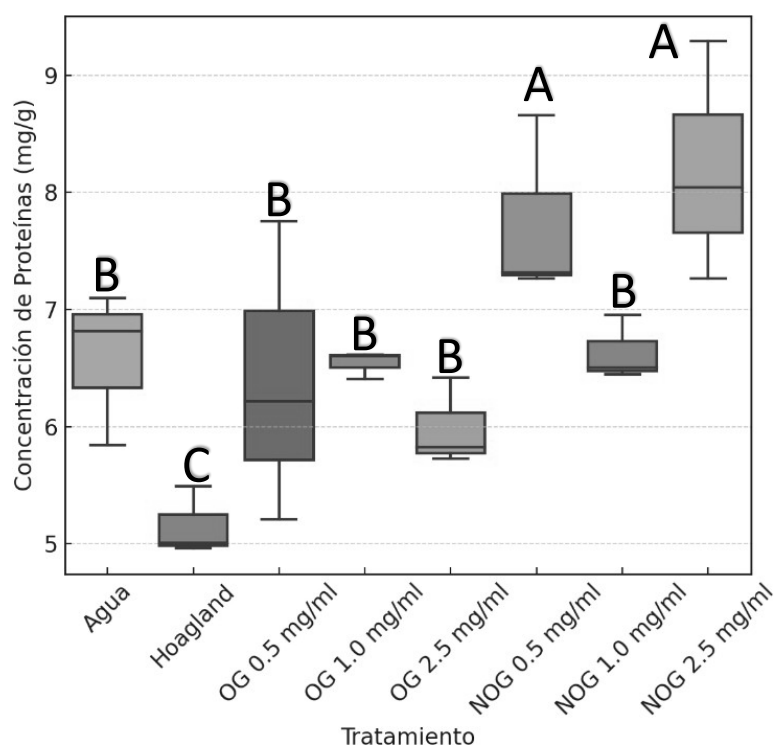


Figura 28. Concentración de proteínas en FVHM.

En la gráfica, las medianas de los tratamientos varían de manera considerable, sugiriendo una respuesta diferencial en la acumulación de proteínas. Los tratamientos de Agua y Hoagland presentan concentraciones de proteínas más bajas en comparación con los tratamientos de OG y NOG, particularmente en las formulaciones de NOG. Estos resultados sugieren que ciertas

concentraciones de NOG pueden incrementar la síntesis o acumulación de proteínas en las plantas, lo cual podría estar vinculado a la respuesta de las plantas a las NP.

Estos resultados sugieren que las formulaciones de OG y NOG tienen el potencial de influir en la acumulación de proteínas en los tejidos vegetales, especialmente a concentraciones donde la concentración más baja sea de 1.0 mg/ml.

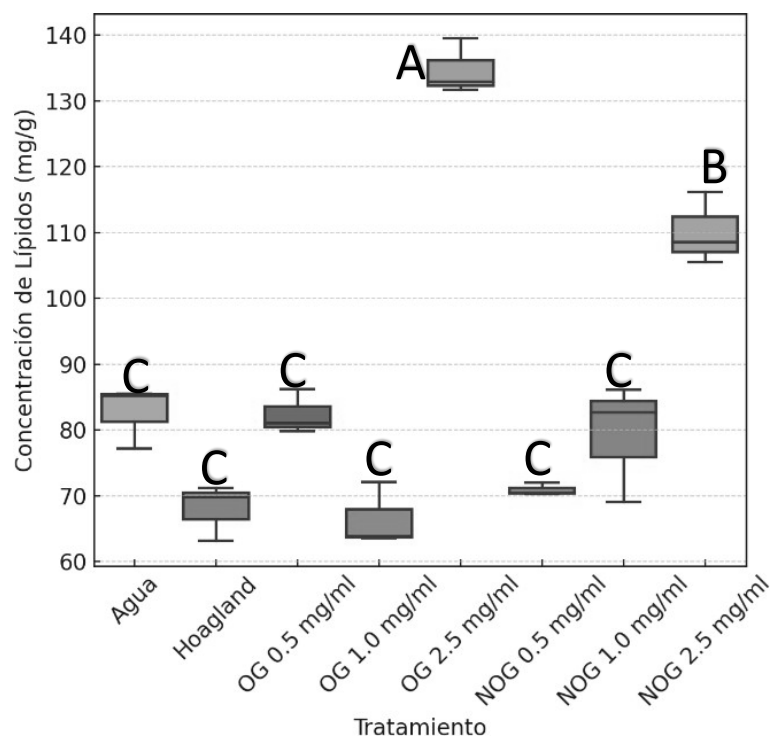


Figura 29. Concentración de lípidos en FVHM.

La Fig. 29 muestra la distribución de las concentraciones de lípidos en los tratamientos aplicados: Agua (C1), Hoagland (C2), y formulaciones de OG y NOG en concentraciones de 0.5, 1.0 y 2.5 mg/ml. Las medianas de las concentraciones de lípidos varían entre los tratamientos, mostrando diferencias notables en algunos casos. Los tratamientos de OG y NOG 2.5 mg/ml presentan valores de concentración de lípidos más altos en comparación con otros tratamientos. Esto sugiere que las concentraciones elevadas de óxidos de grafeno, con o sin el dopaje de N, pueden influir en el metabolismo de lípidos, probablemente estimulando la síntesis o acumulación de estos compuestos en los tejidos vegetales.

La gran variabilidad que se tiene para la concentración de lípidos podría estar influenciada por la naturaleza específica del OG y su funcionalización nitrogenada, lo que podría afectar la absorción, movilidad y acumulación de los lípidos.

Además, se observa que algunos tratamientos, como Agua (C1) y Hoagland (C2), presentan rangos de concentración de lípidos mucho más estrechos y distribuciones homogéneas, indicando una respuesta más uniforme en ausencia de nanomateriales o con una suplementación convencional.

Esta diferencia en la dispersión de los datos entre tratamientos sugiere que las NP de OG y NOG, especialmente en mayores concentraciones, podrían inducir variaciones adaptativas individuales en las plantas que modulan sus reservas de lípidos, posiblemente como mecanismo de respuesta al estrés oxidativo o a la regulación de la permeabilidad de la membrana celular, procesos en los que los lípidos juegan un rol clave.

De manera general, al comparar los efectos de los diferentes tratamientos sobre las concentraciones de carbohidratos, proteínas y lípidos, se observan patrones de acumulación distintos en cada uno de estos componentes, lo cual sugiere que las plantas responden de manera diferenciada al tipo de nutriente aplicado y a su concentración.

De tal modo que, en el caso de los carbohidratos, se presenta un patrón de respuesta más uniforme entre tratamientos, con medianas de concentración similares en la mayoría de ellos y un rango intercuartílico más estrecho. Esto podría indicar que el metabolismo de carbohidratos es menos sensible a las variaciones en la concentración de OG y NOG.

Por el contrario, los lípidos muestran una variabilidad significativa entre tratamientos, especialmente en las concentraciones más altas de OG y NOG, lo que podría deberse a la sensibilidad de las rutas lipídicas ante cambios en el ambiente celular provocados por los nanomateriales. Las proteínas, en cambio, muestran una respuesta intermedia, con algunas variaciones significativas entre tratamientos y un rango intercuartílico que, aunque amplio en ciertos tratamientos, no alcanza la dispersión observada en los lípidos.

Los tratamientos con mayores concentraciones de OG y NOG (especialmente 2.5 mg/ml) muestran un incremento en la concentración de lípidos y, en menor medida, de proteínas, mientras que los carbohidratos no presentan un aumento proporcional tan marcado. Este fenómeno podría estar asociado con el rol específico de los lípidos y proteínas en la adaptación

al estrés producido por NP, debido a que, consecuentemente, los lípidos juegan un papel crucial en la estabilización de membranas celulares, mientras que las proteínas pueden ser reguladas por la expresión de genes relacionados con la respuesta al estrés inducido por estos nanomateriales. Los carbohidratos, siendo reservas de energía, parecen mantenerse estables, posiblemente como una estrategia de la planta para asegurar su suministro de energía en presencia de estas NP.

En conclusión, los resultados sugieren que las formulaciones nitrogenadas (NOG) pueden tener un efecto modulador más fuerte en los lípidos y proteínas en comparación con los carbohidratos. Las formulaciones de NOG, en concentraciones medias y altas, muestran un incremento más significativo en lípidos y proteínas, lo cual puede deberse a la influencia del nitrógeno en la regulación metabólica. Este elemento es esencial para la síntesis de aminoácidos y proteínas, y su introducción en las NP podría estar favoreciendo una mayor acumulación de proteínas. En lípidos, el NOG parece tener un efecto más intenso, posiblemente asociado con la funcionalización que permite una mejor interacción con las estructuras celulares que regulan el contenido lipídico.

7.10 Evaluación del peso fresco y peso seco de FVHM.

En el presente estudio, se evaluaron los valores de peso fresco (PF) en diferentes tratamientos para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Para este propósito, se construyó una gráfica de barras (Fig. 30) que muestra los valores promedio de PF en función de los tratamientos aplicados: Agua, Hoagland, OG 0.5, OG 1.0 y OG 2.5 mg/ml.

Primero, se verificaron las suposiciones de normalidad y homogeneidad de varianzas, ya que son esenciales para decidir la prueba estadística adecuada. La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk mostró que los datos de PF no siguen una distribución normal ($p < 0.05$). Además, la prueba de homogeneidad de Levene indicó que las varianzas entre los tratamientos no son homogéneas ($p < 0.05$). Por lo tanto, debido a la falta de normalidad y homocedasticidad, se decidió utilizar una prueba no paramétrica.

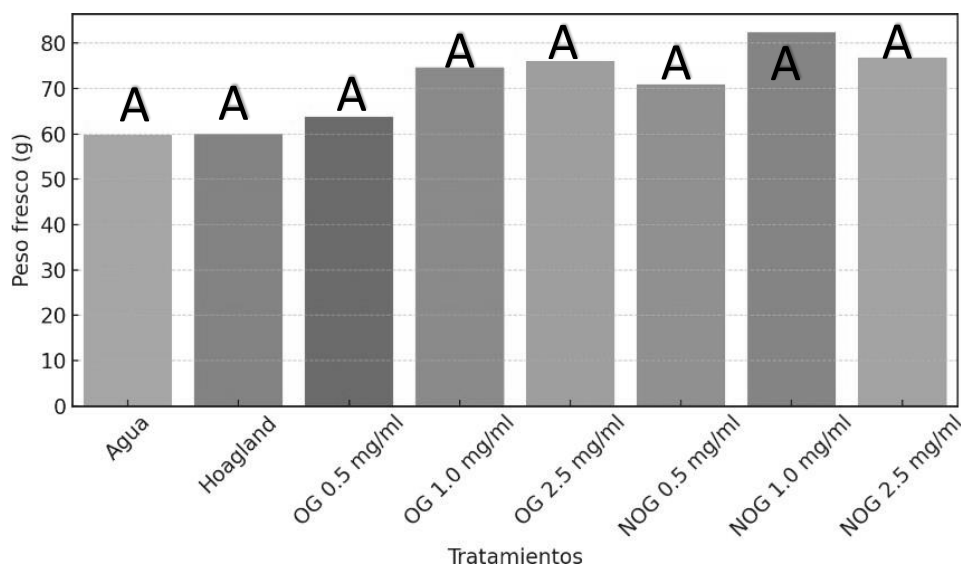


Figura 30. Peso fresco de FVHM.

Para comparar los tratamientos, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, adecuada para datos no paramétricos y heterocedásticos. El análisis mostró un estadístico de Kruskal-Wallis de 7.0 con un valor p de 0.429. Este resultado indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de PF de los distintos tratamientos, ya que el valor p es mayor que el nivel de significancia estándar de 0.05. En consecuencia, se acepta la hipótesis nula, lo cual sugiere que los tratamientos aplicados no afectan significativamente el peso fresco de los especímenes en las condiciones evaluadas.

Estos hallazgos proporcionan evidencia sobre la similitud en la respuesta de PF frente a los diferentes tratamientos, lo cual sugiere que el uso de soluciones basadas en OG y NOG a distintas concentraciones no mejora el PF en comparación con el tratamiento control de agua o Hoagland en el contexto de este experimento.

De manera consecuente, en este estudio se evaluaron los valores de peso seco (PS) de diferentes tratamientos para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre ellos. La Fig. 31 muestra una representación gráfica de los valores promedio de PS en función de los tratamientos aplicados: Agua, Hoagland, OG 0.5 mg/ml, OG 1.0 mg/ml, OG 2.5 mg/ml, NOG 0.5 mg/ml, NOG 1.0 mg/ml y NOG 2.5 mg/ml.

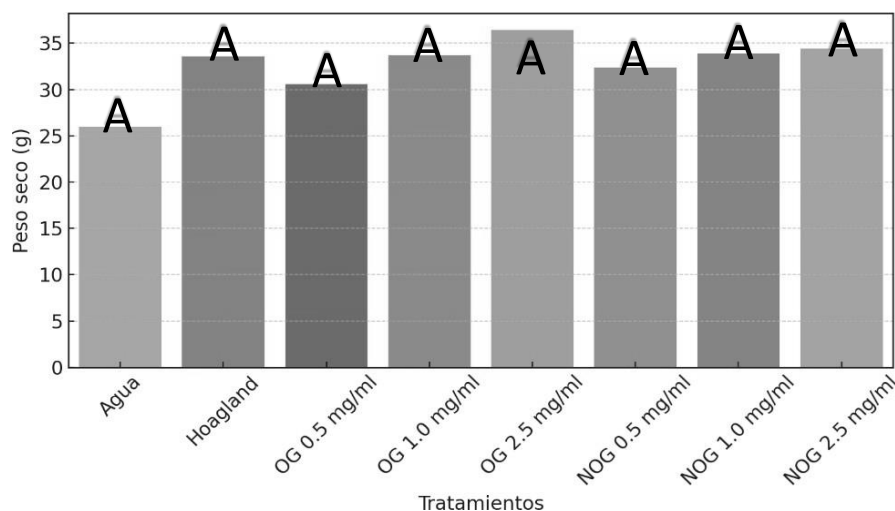


Figura 31. Peso seco de FVHM.

Para identificar la prueba estadística adecuada, se evaluaron las suposiciones de normalidad y homogeneidad de varianzas en los datos de PS. La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk reveló que los datos no presentan una distribución normal ($p < 0.05$), y la prueba de homogeneidad de Levene indicó que las varianzas entre los tratamientos no son homogéneas ($p < 0.05$). Dada la falta de normalidad y homocedasticidad, se utilizó una prueba no paramétrica.

Para comparar los tratamientos, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis, que es adecuada para datos no paramétricos y heterocedásticos. Este análisis mostró un estadístico de Kruskal-Wallis de 7.0 con un valor p de 0.429, indicando que no existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de PS entre los tratamientos, ya que el valor p es mayor al umbral de significancia estándar de 0.05. En consecuencia, se acepta la hipótesis nula, lo cual sugiere que los diferentes tratamientos no afectan de manera significativa el peso seco de los especímenes en las condiciones de este experimento.

Estos resultados evidencian que el uso de soluciones basadas en OG y NOG a diferentes concentraciones no mejora el PS en comparación con los tratamientos control de agua o

Hoagland en el contexto del presente estudio. Estos resultados sugieren que la aplicación de nanomateriales en estas condiciones no genera un impacto significativo en el peso seco.

Para evaluar la influencia de los tratamientos en la relación entre el peso fresco (PF) y el peso seco (PS), se calcularon los valores de diferencia de peso fresco y peso seco (DF) de cada tratamiento. La Fig. 32 presenta una gráfica de barras que muestra los valores promedio de DF en función de los tratamientos aplicados: Agua, Hoagland, OG 0.5 mg/ml, OG 1.0 mg/ml, OG 2.5 mg/ml, NOG 0.5 mg/ml, NOG 1.0 mg/ml y NOG 2.5 mg/ml.

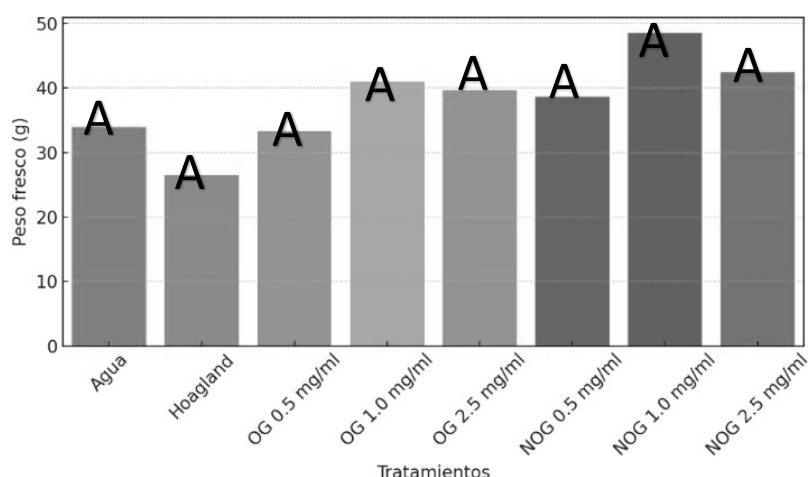


Figura 32. Diferencia entre el peso fresco y el peso seco de FVHM.

Se evaluaron las suposiciones de normalidad y homogeneidad de varianzas para determinar la prueba estadística adecuada. La prueba de Shapiro-Wilk indicó que los valores de DF no siguen una distribución normal ($p < 0.05$). Asimismo, la prueba de Levene mostró que las varianzas entre los tratamientos no son homogéneas ($p < 0.05$). Estas observaciones justifican el uso de una prueba no paramétrica.

Para la comparación estadística entre tratamientos, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, una prueba no paramétrica adecuada para datos con distribución no normal y varianzas no homogéneas. Los resultados mostraron un estadístico de Kruskal-Wallis de 7.0 con un valor p de 0.429. Este valor p , al ser mayor que el nivel de significancia de 0.05, sugiere que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de DF en los distintos tratamientos. En consecuencia, se acepta la hipótesis nula, lo que indica que los tratamientos evaluados no impactan de manera significativa en la diferencia de peso entre el PF y el PS de los especímenes en las condiciones de este experimento.

Estos hallazgos sugieren que el uso de OG y NOG a distintas concentraciones no afecta de manera considerable la retención de agua en la biomasa de los especímenes en comparación con los tratamientos control (Agua y Hoagland).

7.11 Relación entre biomasa y composición bioquímica

En este estudio se realizó un análisis estadístico para mostrar la relación entre PF y PS cuando se compara con la cantidad de carbohidratos, proteínas y lípidos en FVHM cuando es sometido a diferentes tratamientos de OG y NOG. Para ello, se utilizaron datos de dos fuentes combinadas: la masa de las plantas en peso fresco y seco, y los niveles de compuestos bioquímicos. Los objetivos específicos de este análisis fueron identificar correlaciones significativas que pudieran proporcionar información sobre cómo los tratamientos afectan tanto la biomasa como la composición bioquímica de las plantas.

Los datos se organizaron en dos conjuntos: uno para biomasa (peso fresco, peso seco y la diferencia entre ambos) y otro para composición bioquímica (carbohidratos, proteínas y lípidos). Ambos conjuntos de datos se integraron en una tabla unificada utilizando los nombres de los tratamientos como referencia, generando un único conjunto que incluye las variables de biomasa y bioquímica para cada tratamiento.

Se utilizó la matriz de correlación de Pearson para evaluar la relación entre las variables cuantitativas, lo que permite identificar asociaciones lineales entre el peso (fresco y seco) y la concentración de carbohidratos, proteínas y lípidos. La prueba de Pearson mide la intensidad y dirección de la relación entre dos variables, indicando correlaciones positivas (a medida que una variable aumenta, la otra también) o negativas (cuando una variable aumenta, la otra disminuye).

De la interpretación de la Matriz de Correlación se obtuvieron los siguientes resultados: a) PF mostró una correlación negativa moderada con los carbohidratos $r=-0.52$, lo que sugiere que un mayor peso fresco podría estar asociado con una menor concentración de carbohidratos en la biomasa total; b) PS y lípidos mostraron una correlación positiva moderada $r=0.41$, lo cual indica que un aumento en la biomasa seca podría estar asociado con mayores niveles de lípidos; c) la diferencia entre PF y PS, que representa el contenido de agua, tuvo una correlación negativa moderada con los carbohidratos $r=-0.53$, lo que sugiere que una mayor cantidad de agua puede

diluir la concentración de carbohidratos cuando se mide en peso fresco; d) la concentración de proteínas mostró una correlación positiva moderada con la diferente entre PF y PS $r=0.46$, sugiriendo que el contenido de agua podría estar asociado con mayores concentraciones de proteínas en peso fresco.

En conclusión, de acuerdo con los resultados obtenidos de biomasa y bioquímicos, se puede decir que el contenido de agua (representado por la diferencia de pesos) y el peso seco influyen en las concentraciones de carbohidratos, proteínas y lípidos en la biomasa vegetal. Los tratamientos que incrementan el peso seco parecen favorecer el aumento en el contenido de lípidos, mientras que aquellos con mayor peso fresco pueden asociarse con menores concentraciones de carbohidratos debido a la dilución por agua.

8.DISCUSIÓN

8.1 Espectroscopia UV-Vis

En comparación con otros estudios, el espectro de GO presenta bandas de absorción similares como los descritos en Castro-Beltrán *et al* (2011), cuando es obtenido mediante una modificación por el método de *Hummers*. Al igual que en Guerrero Y Caballero (2015), donde se observan bandas de absorción a los 234 nm para los enlaces C – C, sin embargo, enlaces más cercanos a los 260 nm pueden ser atribuidos a una restauración parcial de los enlaces dobles C = C, confirmando que una de las principales diferencias entre el GO y el ROG son la cantidad de grupos funcionales anclados a la red grafénica.

Sin embargo, estas diferencias se deben principalmente al método por el cual fueron sintetizadas las NP, especialmente a variables como la temperatura o la sal precursora estas diferencias pueden ser más marcadas, pues si comparamos estos resultados con la metodología que llevo a cabo Tao *et al* (2017) y de la cual, se usó para dopar al GO de N en este trabajo, dos bandas de absorción presentes en el GO, la primera en 230 nm y la siguiente en 250 nm.

En lo que respecta al NOG, se observan dos bandas en 230 nm y otra más en 240 nm las cuales son más anchas y menos definidas en comparación con los resultados obtenidos en este trabajo en el cual, solo se observa una banda en 250 nm más estrecha y definida, lo cual podría sugerir que los cambios realizados en la metodología (los cuales fueron el mantener la temperatura igual o menor a 3°C y una mayor concentración de NH₄ como precursor del N aseguran que el dopaje sea más controlado resultando en una red más homogénea con una menor proporción de transiciones electrónicas

8.2 Espectroscopia FTIR

En comparación los espectros correspondientes al RGO y GO es claro observar una gran disminución de la cantidad de grupos funcionales anclados a la red grafénica y más aún si son comparados con trabajos como los de Castro-Beltrán *et al* (2011), en el cual, se pueden observar una mayor cantidad de grupos anclados a la red de RGO, sin embargo, esto puede deberse a la metodología que empleo para la reducción de las láminas de GO en la cual, se puede ver comprometido la reducción de los grupos funcionales debido al pH y a su precursor.

En el caso de las láminas de GO, si podemos notar, más similitudes en cuanto a la cantidad de los grupos funcionales. De acuerdo con trabajos como los de Yin *et al.* (2018) y Guerrero Y Caballero (2015), podemos observar picos muy similares en intensidad y cantidad para los grupos funcionalizados a la red grafénica correspondiente a grupos carboxilo, carbonilo e hidroxilo, sin embargo, existe una diferencia significativa en la cantidad de grupos funcionales relacionados con la presencia de restos de agua.

Esto puede ser debido a la manera por la cual se obtuvieron las láminas de GO, sin embargo, estos grupos desaparecen cuando se comparan con los resultados de NOG, con lo cual indican el correcto anclaje del nitrógeno a la red grafémica mediante el dopaje a baja temperatura, aunado a esto, podemos observar picos muy similares a los obtenidos en Tao *et al.*, (2017), lo cual demuestra de igual manera que aunque se hicieron algunas modificaciones a la metodología presente en ese estudio, la temperatura y el precursor para el dopaje son dos partes fundamentales para asegurar la sustitución y presencia de los grupos característicos de este tipo de dopajes.

8.3 Espectroscopia XRD

El espectro correspondiente al GO presenta un pico característico alrededor de $2\theta \approx 10^\circ$, lo que es indicativo de la formación de una estructura laminada típica de los materiales de grafeno fuertemente funcionalizados con grupos oxigenados. Este pico corresponde al espaciamiento interlaminar, atribuido a la presencia de grupos funcionales como hidroxilos, epóxidos, y carboxilos entre las capas de grafeno, este espaciamiento está asociado con una estructura altamente desordenada, debido a que la introducción de grupos oxigenados genera distorsiones en la red hexagonal de carbono, lo que aumenta la dispersión de los átomos.

Dichos grupos provocan una expansión en la distancia interplanar, comúnmente reportada en la literatura (Guerrero Y Caballero 2015; Tao *et al.*, 2017), con valores cercanos a 7-9 Å, acorde con el patrón de difracción observado en el espectro. La ausencia de otros picos a mayores valores de 2θ es indicativa de la falta de una estructura cristalina regular, confirmando que el material tiene una naturaleza predominantemente amorfa. Tras la reducción del óxido de grafeno, el espectro XRD de ROG cambia de manera notable.

El pico en $2\theta \approx 10^\circ$ desaparece, indicando la eliminación de la mayoría de los grupos oxigenados que estaban presentes en GO. La reducción restaura parcialmente la estructura conjugada de las láminas de grafeno, lo que resulta en una disminución del espaciamiento interlaminar y, en algunos casos, la aparición de un pico en $2\theta \approx 25-26^\circ$. Sin embargo, en el espectro de ROG presentado, se observa una señal relativamente débil y difusa alrededor de este valor de 2θ , lo que sugiere una reducción incompleta o la persistencia de algunos defectos estructurales y grupos oxigenados residuales.

Este comportamiento también puede deberse a la presencia de defectos inducidos por la reducción tal como se puede observar en trabajos similares como los de Long *et al* (2010). El espectro XRD del NGO muestra una reorganización estructural significativa en comparación con el GO y el ROG. En este caso, se observa un pico más agudo a $2\theta \approx 26-27^\circ$. Esto indica que el dopaje con nitrógeno induce un reordenamiento hacia una estructura más ordenada y cristalina, lo que sugiere una mayor reducción del desorden interlaminar.

El dopaje con nitrógeno puede alterar la estructura del grafeno de varias maneras. Dependiendo de la temperatura y el precursor que este estudio fue menor al presentado en Tao *et al* (2017) es posible que se puedan introducir defectos que afecten el apilamiento de las láminas de grafeno, pero también promueven la organización entre capas, como se refleja en el incremento de la intensidad del pico a $2\theta \approx 26-27^\circ$.

8.4 Espectroscopia XPS

Los resultados obtenidos en este trabajo han demostrado que la temperatura a la cual se somete el dopaje de láminas de OG, es sumamente importante, comparado con otros trabajos, en Long *et al.*, (2010), podemos observar un porcentaje similar, pues se alcanza un 5% en el proceso hidrotermal facilitando la reducción del O como el dopaje del N, algunos de los grupos nitrogenados presentes son los que mencionan la literatura, como los grupos piridínico, pirrolítico, y cuaternario.

Comparado con el trabajo utilizado como base para el dopaje del N, los resultados obtenidos incrementaron el porcentaje de N presente en las láminas de OG, dado que, la cantidad de N máxima alcanzada a 75°C fue de 4.07%, mientras que en este trabajo a una temperatura

constante de 5°C se obtuvo un porcentaje de N de 4.49%, lo cual demuestra que a bajas temperatura el dopaje de N modifica exitosamente la composición química y estructura electrónica del GO mejorando las propiedades que se buscan para la evaluación de sus efectos en el sistema biológico.

En Xu *et al.*, (2018), se comparan diferentes métodos de dopaje tanto en la varianza de la temperatura como en la selección del precursor del dopaje, el resultado más cercano al obtenido en este trabajo fue cuando las láminas de OG se mezclaban con melamina y sometidas a pirólisis a altas temperaturas, obteniendo un porcentaje cercano al 3.7%, otro resultado sobresaliente es cuando las láminas eran sometidas a un tratamiento térmico que incluía altas temperaturas (600-900°C) y usando NH₃ como precursor obteniendo un 4.0% de contenido de N; sin embargo, la constante de someter las láminas de OG a altas temperaturas es una constante en estos trabajos y comparado con los resultados que se obtuvieron en el dopaje que se realizó en este estudio, se obtuvo un mejor porcentaje en el dopaje con una metodología más simple lo que repercute en un sistema más accesible.

8.5 Microscopia electrónica de barrido

En Long *et al.*, (2010) las imágenes SEM muestran láminas de NOG con estructuras arrugadas y plegadas, morfología característica de materiales con alta flexibilidad e indicativo de un buen nivel de exfoliación, comparado con los resultados obtenidos en este trabajo, la morfología presente en las láminas de NOG presenta muestras menos agregadas y más finas, lo que puede sugerir una distribución más homogénea del dopaje, las cuales son características de muestras procesadas a temperaturas más bajas, ya que a temperaturas más altas, típicamente las láminas tienden a formar estructuras más compactas y gruesa debido al aumento de la interacción entre las capas. Comparado con Tao *et al.*, (2016), se obtuvieron resultados similares, como se menciona anteriormente, una de las características generales de la morfología de láminas de NOG es la presentar laminas ultrafinas con superficies ligeramente arrugadas y plegadas, estas estructuras plegadas aumentan la superficie activa ampliando el uso que se les pueda dar.

Esta morfología confirma que, comparado a metodologías que usan temperaturas más altas como en Long *et al.*, (2010) y en Xu *et al.*, (2018); las láminas tienden a formar estructuras más compactas, lo cual puede influir en las propiedades físicas y químicas del material. Estas imágenes sugieren una distribución uniforme del N en toda la muestra, validando la eficacia de la selección de la temperatura y del precursor como factores principales para el dopaje de N en muestras de OG.

8.6 Etapa de germinación

8.6.1 Germinación de semillas de maíz

Una de las principales problemáticas que posee el OG cuando es aplicado en estudios que evalúan su aplicación como transportador de nutrientes o como nanofertilizante, es la facilidad con la cual se puede solubilizar en agua, gracias a los enlaces π - π que se encuentran presentes en su red. Estudios recientes como los de Chen L. *et al.*, (2018), He, Y., *et al.*, (2018), He *et al.*, (2017) al evaluar los efectos del OG en la germinación de semillas de arroz, avena, espinaca y cebolla.

En el caso específico de la espinaca, la concentración a la cual se obtuvieron los mejores resultados en la germinación de las semillas fue cuando se utilizó una solución de OG a 50 $\mu\text{g/ml}$, comparado con la dosis de OG 200 $\mu\text{g/ml}$ y OG 0 $\mu\text{g/ml}$, esta dosis podría considerarse como una dosis media, y comparado con los resultados obtenidos en este trabajo, la concentración que obtuvo mejores resultados, aunque no significativos si se comparan con las demás dosis, fue la de NOG 0.5 mg/ml.

De igual modo, los resultados obtenidos demuestran que las dosis seleccionadas para este trabajo resultaron ser las adecuadas, comparado con otros trabajos como los de Méndez (2018) se menciona que a altas concentraciones de OG, existe una inhibición de la germinación de las semillas debido a los grupos funcionales del O, los cuales requieren cargas positivas para estabilizarse y lograr una solvatación.

De igual manera, en este trabajo se pudo corroborar que la capacidad de germinación de las semillas parece ser mejorada en el mejor de los casos cuando se aplica esta NP. Lo que sugiere

que gracias a la hibridación del OG y NOG, puede permitir el intercambio y transporte de agua a través de la semilla, además de que estos materiales parecen favorecer un microambiente húmedo alrededor de las semillas lo cual reduciría el tiempo de imbibición.

8.6.2 Longitud, área y superficie proyectada

En Chen *et al.*, (2018) debido a las concentraciones utilizadas no solo se inhibió la tasa de crecimiento de la avena, también se reflejó este efecto en la longitud de la raíz de las plántulas. En dicho estudio, la evaluación se llevó a cabo en dos tipos de sustratos, en vermiculita y en un sistema hidropónico similar al que se usó en este estudio. Las inhibiciones más grandes en el estudio realizado por Chen *et al.*, (2018) fue en cultivo hidropónico a concentraciones de 0.8 y 2.0 para OG. Los resultados obtenidos en este estudio fueron similares, dado que la concentración para OG de 1.0 mg/ml inhibió de manera similar la longitud en las raíces de maíz comparado con el control y con las raíces que fueron tratadas con NOG en sus diferentes concentraciones.

Esto se puede explicar de igual manera por la capacidad que tiene el OG y el NOG de poder disolverse en agua, el OG al tener una mayor cantidad de grupos oxigenados anclados a su red, le permite solvatarse más fácilmente y aumentar los efectos que tienen en las raíces. Cheng *et al.*, (2016), al evaluar el efecto de OG a diversas concentraciones en *Brassica napus* L, obtienen resultados similares como los mostrados en este trabajo, pues a mayor concentración de OG las raíces tienden a inhibir su crecimiento, siendo la concentración de 100 mg/L.

Como podemos observar en la Fig. 33, se pueden observar los cambios morfológicos presentes en la longitud de las raíces de las semillas de maíz cuando son tratadas con una concentración de OG 1.0 mg/ml y cuando son tratadas con NOG a diversas concentraciones, 0.5, 1.0 y 2.5 mg/ml. Estos resultados son similares a la literatura revisada y afirman que el NOG aun y cuando es suministrado a través de un sistema hidropónico, los efectos negativos que son presentes en OG en sistemas similares, no se hacen presentes.

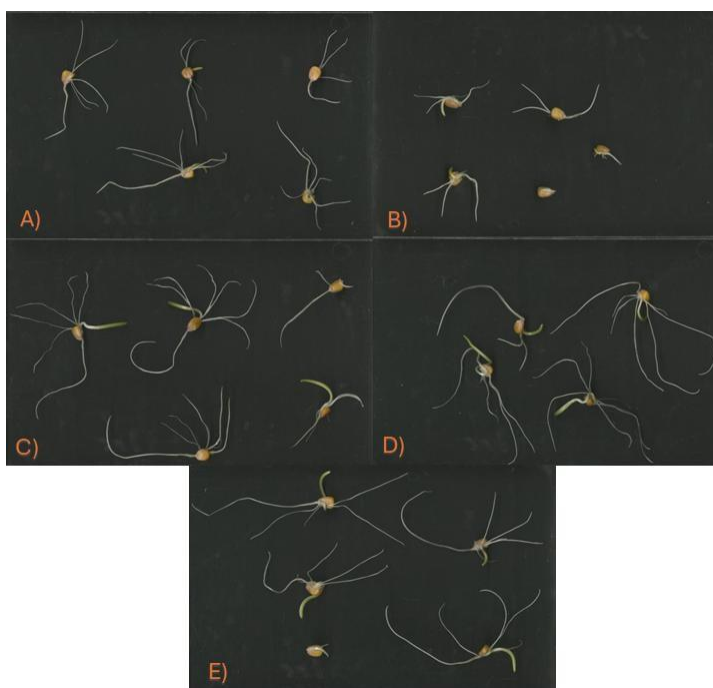


Figura 33. Semillas de maíz tratadas con OG y NOG a diversas concentraciones.

Para el área y superficie proyectada, los resultados son similares y su morfología no se ve afectada como se ha reportado en estudios recientes. Sin embargo, para este estudio, es necesario comprobar con dosis similares de NOG en láminas de OG para confirmar que los efectos mostrados son por el dopaje del N y no por efectos de las concentraciones usadas para este trabajo.

8.6.3 Evaluación de la concentración de carbohidratos, proteínas y lípidos en etapa de germinación

Con los resultados obtenidos y comparándolos con reportes descritos por Tripathi *et al.*, (2017), se ha observado que el OG y el NOG pueden influir en las plantas mediante la modificación de su metabolismo primario y secundario. Por ejemplo, el OG a concentraciones óptimas puede actuar como promotor del crecimiento vegetal al estimular la absorción de agua y nutrientes, mientras que concentraciones elevadas podrían causar toxicidad celular.

Particularmente cuando analizamos los resultados de la concentración de los carbohidratos, las plantas tratadas con OG mostraron un ligero incremento en la acumulación, lo que podría estar vinculado a un aumento en la actividad fotosintética y la biosíntesis de almidón como reserva energética bajo condiciones de estrés leve.

Esto está relacionado con la capacidad del OG para mejorar la eficiencia de las estomas y la actividad de las enzimas claves, como la Rubisco, en la fijación de carbono (Ghulam *et al.*, 2022; Tripathi *et al.*, 2017; Lopes *et al.*, 2021).

En cuanto a las proteínas, el tratamiento con NOG mostró en al menos dos concentraciones (1.0 mg/ml y 2.5 mg/ml), mayores concentraciones en comparación con el OG. Esto podría atribuirse a la capacidad del NOG para mejorar la asimilación de nitrógeno, un macronutriente esencial en la síntesis de aminoácidos y proteínas. Las rutas metabólicas del nitrógeno, como la acción de la glutamina sintetasa y el glutamato sintasa, son cruciales para este proceso y pueden ser estimuladas por los efectos sinérgicos del dopaje con nitrógeno en el grafeno (Ghulam *et al.*, 2022; Tripathi *et al.*, 2017; Lopes *et al.*, 2021).

Finalmente, los lípidos presentaron una respuesta no tan diferenciada entre los distintos tratamientos, sin embargo, si es posible observar algunas pequeñas varianzas en las concentraciones de NOG. Esto podría estar relacionado con el papel de los lípidos en la formación de membranas celulares y su función en la señalización durante el estrés oxidativo inducido por NP. Además, la producción de lípidos puede ser un mecanismo de defensa para estabilizar las membranas frente a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) provocadas por el OG y el NOG como lo descrito en Zayed *et al.* (2023); Lopes *et al.*, (2021); Tripathi *et al.*, (2017).

El OG y el NOG también afectan la señalización hormonal en las plantas. Se ha reportado (Tripathi *et al.*, 2017) que diversas NP como los diferentes alótropos del carbono, pero en especial el OG puede estimular la producción de auxinas y citoquininas, hormonas clave en el crecimiento y desarrollo vegetal.

Estas hormonas pueden actuar sinérgicamente con el metabolismo del carbono y del nitrógeno para mejorar la biomasa vegetal. Por otro lado, bajo condiciones de estrés, como salinidad o déficit hídrico, el OG puede aumentar la producción de ácido abscísico (ABA), lo que induce la tolerancia al estrés mediante la regulación de los genes relacionados con la respuesta antioxidante y la homeostasis osmótica.

Estos hallazgos sugieren que tanto el OG como el NOG tienen potencial en la agronanotecnología como herramientas para mejorar el rendimiento vegetal y la resiliencia a estrés abiótico. Sin embargo, es fundamental ajustar las dosis y concentraciones en los tratamientos para maximizar los beneficios y minimizar los efectos tóxicos. Además, se requieren estudios a nivel molecular y de campo para explorar más a fondo las interacciones específicas de estos nanomateriales con los sistemas biológicos vegetales.

8.6.4 Evaluación de la concentración de carbohidratos, proteínas y lípidos en FVHM

En este estudio se evaluaron los efectos de OG y NOG en FVHM, estos resultados proporcionan una perspectiva innovadora dentro del campo de la agronanotecnología, dado su potencial que tienen estas NP para interactuar con procesos metabólicos clave y su influencia en las respuestas adaptativas de las plantas bajo diferentes condiciones de estrés.

Primeramente, con los resultados obtenidos para la concentración de carbohidratos podemos trasladarlos al análisis de componentes esenciales del metabolismo energético en el cual, estas macromoléculas desempeñan un papel crucial en la osmorregulación durante condiciones de estrés.

Los tratamientos con OG y NOG mostraron aumentos significativos en la concentración de carbohidratos en ciertos niveles, lo que comparado con resultados como los mostrados en Yang *et al.*, (2022), Ghulam *et al.*, (2022), Lopes *et al.*, (2021) sugiere una activación de rutas metabólicas como: a) vía de la amilólisis y glicólisis: en el cual, el aumento de azúcares solubles puede ser una estrategia adaptativa del maíz mediada por el ácido abscísico (ABA), en el cual se estimula la actividad de enzimas como la amilasa para movilizar reservas de almidón.

Esta movilización es especialmente importante bajo estrés oxidativo, donde los carbohidratos actúan como sustratos para la producción de ATP; b) síntesis de sacarosa: los diferentes tratamientos de OG y NOG podrían estar regulando la actividad de enzimas como la sacarosa sintasa y la invertasa, promoviendo la redistribución de azúcares hacia tejidos en crecimiento, en el que ABA juega un rol central en estas adaptaciones, promoviendo la acumulación de carbohidratos solubles para mejorar la tolerancia a la desecación y estrés osmótico.

Por el caso de los resultados obtenidos acerca del efecto observado en las concentraciones de proteínas, podemos observar un balance entre la síntesis y degradación proteica en respuesta a los tratamientos, recordando que, esencialmente las proteínas desempeñan funciones estructurales y enzimáticas, las cuales son parte clave en el sistema de defensa y reparación de las plantas, en artículos como los de Yang *et al.*, (2022), Ghulam *et al.*, (2022), Lopes *et al.*, (2021) se ha reportado que el OG pueden inducir la expresión de proteínas relacionadas con el estrés, como las proteínas de choque térmico (HSP) y las proteínas LEA (Late Embryogenesis Abundant). Estas proteínas protegen las estructuras celulares y estabilizan macromoléculas bajo condiciones adversas.

Lo cual también se puede prever en las respuestas inducidas por el NOG, de igual manera, esta expresión de las proteínas sugiere que el ácido indolacético (AIA) estimula la síntesis de proteínas involucradas en la elongación y división celular. En concentraciones moderadas, el OG y NOG pueden favorecer estas respuestas de crecimiento, de tal motivo que se puede concluir en que el balance hormonal entre ABA y AIA es determinante, ya que el ABA tiende a priorizar la defensa frente al estrés, mientras que el AIA promueve el crecimiento y la diferenciación.

Finalmente, comparado con resultados obtenidos en Yang *et al.*, (2022), Ghulam *et al.*, (2022), Lopes *et al.*, (2021) y comparados con los obtenidos en este estudio, podemos determinar que estos están ampliamente relacionados con la integridad de la membrana celular y la peroxidación lipídica, esto debido a que los lípidos son componentes críticos de las membranas celulares, y su alteración puede indicar estrés oxidativo severo. Para la peroxidación lipídica, el estrés oxidativo generado por OG y NOG puede desencadenar la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), que dañan los lípidos insaturados en las membranas.

Este proceso podría ser exacerbado por el ABA, que regula las respuestas antioxidantes y el cierre estomático. Y para la integridad de las membranas, se puede decir que, en concentraciones más bajas, el NOG podría favorecer la estabilidad de las membranas al promover la síntesis de fosfolípidos protectores, de igual manera, el equilibrio entre la actividad antioxidante y la generación de ROS determina si los lípidos se preservan o se degradan. La enzima superóxido dismutasa (SOD), inducida por OG y NOG, podría jugar un papel en la mitigación del daño oxidativo.

Finalmente, podemos concluir que, al modular las rutas metabólicas críticas, las NP como el OG y el NOG, pueden mejorar la resiliencia de las plantas frente a condiciones adversas, como la sequía o la salinidad. Además de que su uso en dosis controladas puede fomentar la acumulación de biomoléculas clave, mejorando la calidad nutricional y el rendimiento de los cultivos.

8.6.5 Evaluación del peso fresco y peso seco en FVHM

Los resultados obtenidos en este trabajo respaldan la hipótesis de que las NP como OG y NOG actúan como promotores del crecimiento vegetal al mejorar procesos fisiológicos clave. De acuerdo con otros reportes como los obtenidos en Khodakovskaya *et al.* (2012), el grafeno puede mejorar la permeabilidad de las membranas celulares y promover la absorción de nutrientes esenciales.

Este efecto es crucial para explicar el aumento en PF y PS observado. De igual modo se puede observar una interacción entre dopaje con nitrógeno y metabolismo vegetal, esto puede deberse a que el NOG combina las propiedades físicas del grafeno con la capacidad de suministrar nitrógeno, un nutriente esencial para la síntesis de proteínas y la fotosíntesis, un resultado que comparado con los resultados mostrados por Tao *et al.*, (2028), es muy similar en las concentraciones más bajas de OG, sin embargo, en el trabajo presente podemos observar un efecto mejorado en las concentraciones intermedias (1.0 mg/ml), donde se observó un mayor rendimiento.

9. CONCLUSIONES

- La selección adecuada del precursor de nitrógeno y el control preciso de la temperatura durante el dopado son factores críticos que determinan las propiedades finales del nanomaterial. Precursores adecuados permiten una integración eficiente del nitrógeno en la estructura del grafeno, mientras que temperaturas bajas no solo optimizan la conservación de los grupos funcionales deseados, sino que también favorecen un enfoque más sostenible desde el punto de vista energético y ambiental.
- El desarrollo de NOG mediante métodos optimizados tiene el potencial de transformar prácticas agrícolas, promoviendo una agricultura más eficiente y sostenible. Este enfoque no solo resuelve problemas inmediatos de producción agrícola, sino que también impulsa la transición hacia soluciones basadas en nanomateriales con menor impacto ambiental; y aplicaciones como la liberación controlada de nutrientes, la mejora de la eficiencia en fertilizantes y la estimulación del crecimiento vegetal. Estas características derivan directamente del proceso de dopado, donde los átomos de nitrógeno introducen defectos y alteraciones estructurales que mejoran la interacción del nanomaterial con los cultivos
- El uso de NOG en la agricultura, específicamente en sistemas como la producción de FVH, puede representar un método novedoso y eficaz. Las propiedades únicas de estos nanomateriales pueden optimizar el uso de recursos (agua y nutrientes) y promover un crecimiento más sostenible. Esta NP presenta un enorme potencial como agente promotor de germinación en semillas, ofrece múltiples beneficios que abarcan desde la mejora en la hidratación y nutrición inicial, hasta la protección contra condiciones de estrés. De igual modo, el NOG se presenta como un potencial. Sin embargo, el éxito de su aplicación depende de una cuidadosa optimización de la concentración, considerando los efectos diferenciales en los resultados obtenidos en este trabajo. Este estudio subraya la necesidad de investigaciones adicionales para comprender los mecanismos fisiológicos detrás de estas respuestas, así como su impacto a largo plazo en los cultivos y el medio ambiente.

10. LITERATURA CITADA

- Anjum, N. A., Singh, N., Singh, M. K., Sayeed, I., Duarte, A. C., Pereira, E., Y Ahmad, I. (2014). Single-bilayer graphene oxide sheet impacts and underlying potential mechanism assessment in germinating faba bean (*Vicia faba* L.). *Science of The Total Environment*, 472: 834–841. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.11.018
- Begum, P., Ikhtari, R., Y Fugetsu, B. (2011). Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach, and lettuce. *Carbon*, 49(12): 3907–3919. doi: 10.1016/j.carbon.2011.05.029
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248–54.
- Bunaciu, A.A., Udriștioiu, E.G., Aboul-Enein, H.Y. (2015). X-Ray Diffraction: instrumentation and applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 45(4): 289-299. DOI:10.1080/10408347.2014.9496
- Calle Kantuta, G. N. (2010). Nanotecnología conceptos generales. *Revista de Información, Tecnología y Sociedad*, 5: 7-9.
- Campos Tapia, V. (2013). *Preparación y caracterización de grafeno modificado con nanopartículas metálicas y bimetálicas*. Tesis Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, Nuevo León.
- Castañeda Naranjo, L. A., Y Palacios Neri, J. (2014). Nanotecnología: fuente de nuevos paradigmas. *Mundo nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 7(12): 49-65.
- Cepeda, L. F., Oyervides, J. D. F., Marines, L. R., Galindo, A. S., Y López, L. I. L. (2017). Grafeno, el material del futuro. Síntesis y propiedades. *Ciencia Cierta*, 50 :1-7.
- Chakravarty, D., Erande MB, Late DJ. (2015). Puntos cuánticos de grafeno como reguladores mejorados del crecimiento de las plantas: Efectos en las plantas de cilantro y ajo. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95 : 2772–2778. doi: 10.1002/jsfa.7106.
- Chen, J., Yang L., Li, S., Ding, W. (2018). Various physiological response to graphene oxide and amine- functionalized graphene oxide in wheat (*Triticum aestivum*). *Molecules*, 23(5):1104. doi: 10.3390/molecules23051104.
- Chen, Z., Niu, J., Guo, Z., Sui, X., Xu, N., Kareem, H.A, Hassan, M., Yan, M., Zhang, Q., Cui, J., *et al.* (2021). Graphene enhance photosynthesis, antioxidative defense system and alleviate salinity and alkalinity stresses in alfalfa (*Medicago sativa* L.) by regulating the gene expression. *Environmental Science: Nano*, 8: 2731–2748. doi: 10.1039/D1EN0025K.
- Chen, Z., Zhao, J., Song, J., Han, S., Du, Y., Qiao, Y., Liu, Z., Qiao, J., Li, W., Li, J., *et al.* (2021). Influence of graphene on the multiple metabolic pathways of *Zea mays* roots based on transcriptome analysis. *Plos One*, 16(1): e0244856. doi: 10.1371/journal.pone.0244856
- Chen, L., Yang, S., Liu, Y., Mo, M., Guan, X., Huang, L., Sun, C., Yang, S., Y Chang, X. (2018). Toxicity of graphene oxide to naked oats (*Avena sativa* L.) in hydroponic and soil cultures. *Royal Society of Chemistry Advances*, 8(28): 15336-15343. <https://doi.org/10.1039/c8ra01753k>
- Cheng, F., Liu, Y.F., Lu, G.Y., Zhang, X.K., Xie, L.L., Yuan, C.F., Xu, B.B. (2016). Graphene oxide modulates root growth of *Brassica napus* L. and regulates ABA and IAA concentration. *Jornal of Plant Physiology*, 193: 57-63. doi: 10.1016/j.jplph.2016.02.011.
- Colom, X., Cañavate, J., Lis, M. J., Sanjuan, G., Y Gil, I. (2020). Análisis estructural de óxidos de grafeno (GO) y óxidos de grafeno reducidos (rGO). *Afinidad*, 77(591).
- Duan, X., Indrawirawan, S., Sun, H., Y Wang, S. (2015). Effects of nitrogen-, boron-, and phosphorus-doping or codoping on metal-free graphene catalysis. *Catalysis Today*, 249: 184–191.

- Esteve-Adell, I., Agustí, M. T. G., De Zaitogui, L. Z. S., Quijano-Lopez, A., Y Pellicer, M. G. (2020). Grafeno: obtención, tipos y su aplicación como sensor para detección de gases y sensor de presión. *Avances En Química*, 15(2): 57-72.
- Finney, D.J. (1985). The median lethal dose and its estimation. *Archives of Toxicology*, 56: 215- 218.
- Gao, M., Chang, X., Yang, Y., Song, Z. (2020). Foliar graphene oxide treatment increases photosynthetic capacity and reduces oxidative stress in cadmium-stressed lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry*, 154: 287-294. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.06.021.
- Ghulam, A. N., Santos, O. A. L. D., Hazeem, L., Backx, B. P., Bououdina, M., Y Bellucci, S. (2022). Graphene oxide (GO) materials—applications and toxicity on living organisms and environment. *Journal of Functional Biomaterials*, 13(2): 77. <https://doi.org/10.3390/jfb13020077>
- Guo, X., Zhao, J., Wang, R., Zhang, H., Xing, B., Naeem, M., Yao, T., Li, R., Xu, R., Zhang, Z., et al. (2021). Effects of graphene oxide on tomato growth in different stages. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162 :447–455. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.03.013.
- He, Y., Hu, R., Zhong, Y., Zhao, X., Chen, Q., Y Zhu, H. (2017). Graphene oxide as a water transporter promoting germination of plants in soil. *Nano Research*, 11(4): 1928-1937. <https://doi.org/10.1007/s12274-017-1810-1>
- Hu, X., Zhou, Q. (2014). Novel hydrated graphene ribbon unexpectedly promotes aged seed germination and root differentiation. *Scientific Reports*, 4 : 3782. doi: 10.1038/srep03782.
- Jiao, J., Yuan, C., Wang, J., Xia, Z., Xie, L., Chen, F., Li, Z., Xu, B. (2016). The role of graphene oxide on tobacco root growth and its preliminary mechanism. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16 :12449–12454. doi: 10.1166/jnn.2016.12987
- Kabiri, S., Degryse, F., Tran, D.N.H, da Silva, R.C., McLaughlin, M.J. y Losic, D. (2017). Graphene oxide: a new carrier for slow release of plant micronutrients. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 9(49): 43325–43335. doi:10.1021/acsami.7b07890
- Kim, M., Kim, W., Chung, H. (2020). Effects of silver-graphene oxide on seed germination and early growth of crop species. *PeerJ Plant Biology*, 8: e8387 <https://doi.org/10.7717/peerj.8387>
- Kruger, N. J. (2009). The Bradford method for protein quantitation. *Basic Protein and Peptide Protocols*, 9–16. doi:10.1385/0-89603 268-x:9
- Lahiani, M., Dervishi, E., Ivanov, I., Chen, J., Khodakovskaya, M. (2016). Comparative study of plant responses to carbon-based nanomaterials with different morphologies. *Nanotechnology*, 27 :265102. doi: 10.1088/0957-4484/27/26/265102.
- Lahiani, M. H., Dervishi, E., Chen, J., Nima, Z., Gaume, A., Biris, A. S., Y Khodakovskaya, M. V. (2013). Impact of carbon nanotube exposure to seeds of valuable crops. *ACS Applied Materials Interfaces*, 5(16): 7965-7973. <https://doi.org/10.1021/am402052x>
- Li, F., Sun, C., Li, X., Yu, X., Luo, C., Shen, Y., Qu, S. (2018). The effect of graphene oxide on adventitious root formation and growth in apple. *Plant Physiology and Biochemistry*, 129 :122–129. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.05.029
- Long, D., Li, W., Ling, L., Miyawaki, J., Mochida, I., Y Yoon, S. (2010). Preparation of nitrogen-doped graphene sheets by a combined chemical and hydrothermal reduction of graphene oxide. *Langmuir*, 26(20): 16096-16102. <https://doi.org/10.1021/la102425a>
- Lopes, T., Cruz, C., Cardoso, P., Pinto, R., Marques, P. A., Y Figueira, E. (2021). A multifactorial approach to untangle graphene oxide (GO) nanosheets effects plants: plant growth-promoting bacteria inoculation, bacterial survival, and drought. *Nanomaterials*, 11(3): 771. <https://doi.org/10.3390/nano11030771>
- López, J., Torres, N., Saldivar, R., Reyes, I., Y Argüello, B. (2016). Técnicas para evaluar germinación,

- vigor y calidad fisiológica de semillas sometidas a dosis de nanopartículas. Centro de Investigación en química Aplicada (CIBQ), 129-140.
- Mahmoud, N., Abdelhameed, R. (2021). Superiority of modified graphene oxide for enhancing the growth, yield, and antioxidant potential of pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) under salt stress. *Plant Stress*, 2:100025. doi: 10.1016/j.stress.2021.100025.
- May, A.; Coelho, I. F.; Silva, E. H. F. M. Da; Viana, R. Da S.; Vieira Junior, N. A.; Ferreira, W. P. M. (2021). Graphene: A new technology for agriculture. *Research, Society and Development*, 10(2): e56610212827. DOI: 10.33448/rsd-v10i2.12827.
- Mejías Sánchez, Y., Cabrera Cruz, N., Toledo Fernández, A. M., Y Duany Machado, O. J. (2009). La nanotecnología y sus posibilidades de aplicación en el campo científico-tecnológico. *Revista Cubana de Salud Pública*, 35(3): 1-9.
- Méndez Ontiveros, R. (2018). Salinidad y óxido de grafeno: su influencia en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis Maestría. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, División de Ciencias Ambientales, San Luis Potosí.
- Moliner, R. (2016). Del carbón activo al grafeno: Evolución de los materiales de carbono. *Boletín del Grupo Español del Carbón*, 41: 2-5.
- Muñoz, E. (2016). El grafeno: química y aplicaciones. *Boletín del Grupo Español del Carbón*, 41: 6-8.
- Ojeda, G. A., Arias Gorman, A. M., Y Sgroppo, S. C. (2019). Nanotecnología y su aplicación en alimentos. *Mundo Nano: Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 12(23): 1-14. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.23.67747>.
- Pandey, K., Anas, M., Hicks, V., Green, M., Khodakovskaya, M. (2019). Improvement of commercially valuable traits of industrial crops by application of carbon-based nanomaterials. *Scientific Reports*, 9: 19358. doi: 10.1038/s41598-019-55903-3.
- Park, S., Choi, K.S., Kim S., Gwon, Y., Kim, J. (2020). Graphene oxide-assisted promotion of plant growth and stability. *Nanomaterials*, 10(4):758. doi: 10.3390/nano10040758.
- Zhang, P., Guo, Z., Luo, W., Monikh, F.A., Xie, C., Valsami-Jones, E., Lynch, I., Zhang, Z. (2020). Graphene oxide-induced pH alteration, iron overload, and subsequent oxidative damage in rice (*Oryza sativa* L.): A new mechanism of nanomaterial phytotoxicity. *Environmental Science & Technology*, 54 (6): 3181-3190.
- Qiao, J., Chen, Z., Zhao, J., Ren, J., Wang, H., Zhi, C., Li, J., Xing, B., Y Nie, H. (2024). Graphene promotes the growth of *Vigna angularis* by regulating the nitrogen metabolism and photosynthesis. *PloS ONE*, 19(3):e0297892. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0297892>
- Quintili, M. (2012). Nanociencia y Nanotecnología... un mundo pequeño. *Cuadernos del Centro de Estudios en Diseño y Comunicación. Ensayos*, (42): 125-155.
- Rivas Martínez, E. N., Foroughbakhch Pournavab, R., Reyes Valdés, M. H., Y Benavides Mendoza, A. (2016). Determinación de giberelina A4 y trans zeatina ribósido en diferentes órganos de *Dasyllirion cedrosanum*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(8): 2063-2069.
- Rodríguez, C. F. V. (2007). Comparación productiva de forraje verde hidropónico de maíz, arroz y sorgo negro forrajero. *Agronomía Mesoamericana*, 19(2): 233. <https://doi.org/10.15517/am.v19i2.5005>
- Shen, S., Liu, Y., Wang, F., Yao, G., Xie, L., Y Xu, B. (2018). Graphene oxide regulates root development and influences IAA concentration in rice. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38: 241- 248. doi:10.1007/s00344-018-9836-5
- Tripathi, D. K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D. K., Y Dubey, N. K. (2017). *Nanomaterials in plants*,

- algae, and microorganisms: concepts and controversies*: Volume 1. 1st ed. Academic Press.
- Tripathi, D. K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D. K., Y Dubey, N. K. (2018). *Nanomaterials in plants, algae, and microorganisms: concepts and controversies*: Volume 2. 1st ed. Academic Press.
- Tripathi, S., Sonkar, S. K., Y Sarkar, S. (2011). Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by soluble carbon nanotubes. *Nanoscale*, 3(3):1176. <https://doi.org/10.1039/c0nr00722f>
- Urcuyo, R., González-Flores, D., Y Cordero-Solano, K. (2021). Perspectivas y aplicaciones reales del grafeno después de 16 años de su descubrimiento. *Revista Colombiana de Química*, 50(1): 51-85.
- Valcárcel, J. P., González, H., Y Valcárcel, D. H. (2008). Espectroscopia: fundamento de la resonancia magnética nuclear. *Entornos*, 21: 89-94.
- Velásquez, C. L., Khatib, S. K., Y González, F. L. (2015). *Nanopartículas: fundamentos y aplicaciones*. 1^a. ed. Universidad de los Andes, Venezuela.
- Vochita, G., Oprica, L., Gherghel, D., Mihai, C.T., Boukherroub, R., Lobiuc, A. (2019). Graphene oxide effects in early ontogenetic stages of *Triticum aestivum* L. seedlings. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 181: 345-352. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.06.026.
- Wang, S., Liu, Y., Wang, X., Xiang, H., Kong, D., Wei, N., Guo, W., Sun, H. (2023). Effects of concentration- dependent graphene on maize seedling development and soil nutrients. *Scientific Reports*, 13(1):2650. doi: 10.1038/s41598-023-29725-3.
- Yang, Y., Zhang, R., Zhang, X., Chen, Z., Wang, H., Y Li, P. C. H. (2022). Effects of graphene oxide on plant growth: a review. *Plants*, 11(21): 2826. <https://doi.org/10.3390/plants11212826>
- Yin, L., Wang, Z., Wang, S., Xu, W., Y Bao, H. (2018). Effects of graphene oxide and/or Cd₂₊ on seed germination, seedling growth, and uptake to Cd₂₊ in solution culture. *Water Air Soil Pollution*, 229: 151. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3809-y>
- Zayed, O., Hewedy, O. A., Abdelmoteleb, A., Ali, M., Youssef, M. S., Roumia, A. F., Seymour, D., Y Yuan, Z. (2023). Nitrogen journey in plants: from uptake to metabolism, stress response, and microbe interaction. *Biomolecules*, 13(10): 1443. <https://doi.org/10.3390/biom13101443>
- Zhang, M., Gao, B., Chen, J., Li, Y. (2015). Effects of graphene on seed germination and seedling growth. *Nanoparticle Research*, 17:78. doi: 10.1007/s11051-015-2885-9.
- Zhang, X., Cao, H., Zhao, J., Wang, H., Xing, B., Chen, Z., Li, X., Zhang, J. (2021.) Graphene oxide exhibited positive effects on the growth of *Aloe vera* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27(4):815- 824. doi: 10.1007/s12298-021-00979-3.
- Zhang, X., Cao, H., Zhao, J., Wang, H., Ge, S., Chen, Z., Zhang, J., Wang, J., Zhao, W. (2021). Transcriptome analysis of GO promoting maize root growth. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 19 :3157–3167. doi: 10.13271/j.mpb.019.003157.