

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE

Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales

Sustentabilidad y tecnología

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)

Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos I



ITESO, Universidad
Jesuita de Guadalajara

4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos I

**Estudio *in vitro* del efecto de diferentes fuentes de selenio en la germinación
de hortalizas en el CIATEJ, sede Zapopan**

PRESENTAN

Programas educativos y Estudiantes

Ing. en Biotecnología, Leví Alberto González López

Profesor PAP: Dra. Soledad García Morales

Tlaquepaque, Jalisco, diciembre de 2023

ÍNDICE

Contenido

REPORTE PAP	2
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional	2
Resumen	4
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional.....	4
1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto	5
1.2 Caracterización de la organización.....	8
1.3 Identificación de la(s) problemática(s)	9
1.4. Planeación de alternativa (s).....	11
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora	14
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos	49
1.7. Bibliografía y otros recursos	52
1.8. Anexos generales	55
2. Productos	55
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia.....	84
3.1 Sensibilización ante las realidades	84
3.2 Aprendizajes logrados	86

REPORTE PAP

Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son experiencias socio-profesionales de los alumnos que desde el currículo de su formación universitaria- enfrentan retos, resuelven problemas o innovan una necesidad sociotécnica del entorno, en vinculación (colaboración) (co-participación) con grupos, instituciones, organizaciones o comunidades, en escenarios reales donde comparten saberes.

El PAP, como espacio curricular de formación vinculada, ha logrado integrar el Servicio Social (acorde con las Orientaciones Fundamentales del ITESO), los requisitos de dar cuenta de los saberes y del saber aplicar los mismos al culminar la formación profesional (Opción Terminal), mediante la realización de proyectos profesionales de cara a las necesidades y retos del entorno (Aplicación Profesional).

El PAP es un proceso acotado en el tiempo en que los estudiantes, los beneficiarios externos y los profesores se asocian colaborativamente y en red, en un proyecto, e incursionan en un mundo social, como actores que enfrentan verdaderos problemas y desafíos traducibles en demandas pertinentes y socialmente relevantes. Frente a éstas transfieren experiencia de sus saberes profesionales y demuestran que saben hacer, innovar, co-crear o transformar en distintos campos sociales.

El PAP trata de sembrar en los estudiantes una disposición permanente de encargarse de la realidad con una actitud comprometida y ética frente a las disimetrías sociales. En otras palabras, se trata del reto de “saber y aprender a transformar”.

El Reporte PAP consta de tres componentes:

El primer componente refiere al ciclo participativo del PAP, en donde se documentan las diferentes fases del proyecto y las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo de este y la valoración de las incidencias en el entorno.

El segundo componente presenta los productos elaborados de acuerdo con su tipología.

El tercer componente es la reflexión crítica y ética de la experiencia, el reconocimiento de las competencias y los aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.

Resumen

El PAP “*Estudio in vitro del efecto de diferentes fuentes de selenio en la germinación de hortalizas*” es la continuación de un proyecto iniciado en el semestre de otoño de 2022. En el presente proyecto se abordó la problemática del uso de fertilizantes químicos convencionales para aumentar la producción alimentaria, así como las limitantes fuentes de selenio que enriquecen a los cultivos. El principal objetivo fue evaluar el efecto de diferentes fuentes de selenio en especies vegetales de hortalizas durante su germinación. Se plantearon como objetivos específicos establecer un protocolo para la aplicación de fuentes de selenio en las hortalizas: tomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum annuum*) y lechuga (*Latuca sativa*), y determinar la fuente de selenio más efectiva con base en los resultados obtenidos.

Se realizaron dos ensayos utilizando como fuentes de selenio nanopartículas llamadas CHE y COF y selenitos como Na_2SeO_3 y ZnSeO_3 a concentraciones de 0.2, 0.5 y 1.0 mg/L, en solución acuosa (ensayo 1) y adicionando el medio de cultivo MS (ensayo 2). Se encontró que el selenio tuvo efectos bioestimulantes en las plantas, lo cual se observó en el crecimiento del tallo, alargamiento de las raíces, aumento del peso fresco y mayor contenido de clorofilas. Con base en lo anterior, se concluyó que los tratamientos más efectivos fueron las SeNPs COF y el ZnSeO_3 a concentraciones de 1.0 y 0.2 mg/L, respectivamente. El proyecto generó un artículo que muestra el porcentaje de germinación por especie y los efectos del Se en las plantas.

1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional

El PAP es una experiencia de aprendizaje y de contribución social integrada por estudiantes, profesores, actores sociales y responsables de las organizaciones, que de manera colaborativa construyen sus conocimientos para dar respuestas a problemáticas de un contexto específico y en un tiempo delimitado. Por tanto, la experiencia PAP supone un proceso en lógica de proyecto, así como de un estilo de trabajo participativo y recíproco entre los involucrados.

El presente estudio o PAP, de tipo experimental, se efectúa en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) perteneciente al Consejo

Nacional de Humanidades, Ciencia y tecnología (CONAHCYT), subsede Zapopan. El trabajo está bajo la asesoría de la Dra. Soledad García Morales.

El PAP se realiza en la Unidad de Biotecnología Vegetal dentro de la sublínea de investigación en fitoquímica y biocompuestos. Uno de los resultados previos de esta línea ha sido la caracterización de las nanopartículas de selenio provenientes de una síntesis verde, además se ha demostrado la función del selenio como bioestimulante en plantas ornamentales, sin embargo, otras fuentes como el selenito de zinc (ZnSeO_3) no han sido probadas en experimentaciones realizadas en dicha área [1]. Por lo tanto, se plantea como objetivo general, evaluar el efecto de diferentes fuentes de selenio en especies vegetales de hortalizas durante su etapa de germinación y a manera de objetivos específicos se propone:

- Establecer un protocolo con base en un diseño de experimentos para la aplicación de fuentes de selenio en especies de tomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum annuum*) y lechuga (*Latuca sativa*).
- Realizar una caracterización de las nanopartículas de selenio (SeNPS).
- Germinar *in vitro* semillas de *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annuum* y *Latuca sativa* aplicando diferentes fuentes de selenio (SeNPs y sales de Se) en distintas concentraciones para una posterior determinación de los parámetros a evaluar.
- Determinar cuál fue la mejor fuente de selenio utilizada con base en los resultados obtenidos.

1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

Debido al inminente crecimiento de la población mundial, se ha buscado la manera de acelerar la producción de alimentos para cumplir con la demanda alimenticia. La utilización de fertilizantes de origen químico basados comúnmente en compuestos como nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), entre otros productos como el glifosato, ha tomado un papel relevante para aumentar la productividad y el rendimiento de los cultivos [2].

Pese a los procesos que se implementan en los sistemas agroalimentarios para su aplicación, el excesivo uso de estos productos, junto con los pesticidas químicos convencionales, suelen provocar efectos negativos en el medio ambiente y la salud humana. Esto se debe, a que la

gran mayoría de los residuos generados por estos compuestos se liberan en los recursos naturales, principalmente en el suelo, el agua y el aire en forma de compuestos tóxicos, provocando degradación ambiental y enfermedades humanas [2].

A causa de los efectos provocados por los métodos convencionales, nace la necesidad de crear y utilizar tecnologías nuevas y métodos alternativos que sean capaces de producir insumos agrícolas más eficientes. El enfoque de estos debe ser más amigable con el ambiente, además deben favorecer la producción de alimentos inocuos para garantizar una sostenibilidad alimentaria [3]. La aplicación de la bionanotecnología en el sector agrícola es, sin lugar a duda, una de las áreas con mayor crecimiento industrial, puesto que de ella depende la alimentación de millones de personas y animales a nivel mundial. Por tal motivo, se implementan cada vez más nuevas e innovadoras técnicas como el uso de nanomateriales [4].

Actualmente, la agricultura requiere el uso de un gran número de nanomateriales, específicamente enfocados a la generación de fertilizantes, bioestimulantes o pesticidas biológicos, estos últimos para emplearlos en el combate contra fitopatógenos. Gracias a la generación de este tipo de tecnologías, se pretende que en un futuro se creen opciones viables y ecológicas como alternativas al uso de productos de origen químico [5].

Una de las alternativas más prometedoras de nanomateriales son las nanopartículas (NPs), las cuales se pueden obtener mediante técnicas biológicas o síntesis verde debido a que son seguras. Su obtención resulta menos costosa y son ecológicamente amigables comparadas con los productos agroquímicos comúnmente utilizados. Además, la funcionalización de las NPs con moléculas de carácter orgánico puede potenciar de manera importante sus propiedades [3].

Por otro lado, el selenio (Se) es un elemento que se encuentra en la naturaleza de formas inorgánicas como seleniuro (Se^{2-}), selenio elemental (Se_0), selenito (SeO_3^{2-}) o selenato (SeO_4^{2-}), y algunos compuestos orgánicos como la selenocisteína (SeCyt) y la selenometionina (SeMet). El Se es un micronutriente esencial requerido por una variedad de organismos

puesto que tiene participación en sus procesos metabólicos y fisiológicos vitales. Aunque no es un elemento esencial para las plantas, actualmente ha sido implementado para la biofortificación de cultivos agroalimentarios. Esto se debe a su relevancia para la salud humana y a que su ingesta ayuda a prevenir padecimientos como algunos tipos de cáncer, así como también a mejorar el funcionamiento del sistema inmunológico [2].

La carencia de Se en los alimentos puede provocar deficiencias y patologías en el ser humano, afectando a más de un billón de habitantes en todo el mundo. Este elemento es indispensable como cofactor de diversas enzimas, además de que interviene en la síntesis de hormonas en la tiroides, en la síntesis del ADN, en el funcionamiento muscular y en la activación del sistema inmunológico, entre otros [6].

Existe el caso contrario a la deficiencia de Se, es decir cuando se exceden los niveles adecuados de este elemento. Algunos estudios han demostrado que la absorción de altas concentraciones por parte de las plantas puede provocar síntomas de fitotoxicidad, entre los cuales se encuentran el retraso en el crecimiento, clorosis, marchitez y hojas quebradizas, disminución en la síntesis de proteínas, estrés oxidativo y muerte temprana de la planta [2].

Para contrarrestar el efecto negativo de la toxicidad del Se debido a su forma química, estudios en el CIATEJ han implementado el uso de las nanopartículas de Se (SeNPs), obtenidas mediante una síntesis verde utilizando extractos de *Calendula officinalis*, en plantas para consumo alimentario y en ornamentales. Las SeNPs brindan mejoras significativas a las plantas debido a sus propiedades fisicoquímicas y biológicas, puesto que, gracias a su tamaño de 1 a 100 nm, poseen una alta degradabilidad, solubilidad y multifuncionalidad, en comparación con otras fuentes de Se [3].

Un estudio [1] reporta que el Se tiene el potencial para controlar la pudrición del moho gris (*Botrytis cinerea*) en tomate (*Solanum lycopersicum*). El Se disminuyó la pudrición, lo cual puede estar directamente relacionado con el daño a la membrana plasmática de los conidios y la pérdida de materiales citoplasmáticos de las hifas. También se detectó que el Se podría ser útil en el manejo integrado en la post-cosecha de frutos y hortalizas [1]. Asimismo, se observó que el Se en forma de selenito de sodio (Na_2SeO_3) redujo la incidencia del

fitopatígeno *Phytophthora capsici* en plantas de chile (*Capsicum annuum*). Se encontró, además, que la aplicación de selenito de sodio incrementa la masa seca de la raíz, lo cual se relaciona con un posible aumento en la tolerancia a enfermedades causadas por fitopatógenos. Estos efectos se asocian a cambios relacionados con la fotosíntesis, como tasa fotosintética, conductancia, CO₂ intercelular y transpiración [1].

Otro de los aportes del Se es su función como antioxidante, principalmente reduciendo diferentes formas de estrés oxidativo. También destaca su actividad bioestimulante de importantes funciones fisiológicas y ecológicas, como atraer polinizadores, establecer simbiosis, y proporcionar componentes estructurales a los tejidos vasculares, esto cuando las SeNPs se aplican en pequeñas cantidades [6].

Siendo así, en el presente Proyecto de Aplicación Profesional (PAP) se busca dar continuidad a trabajos previos realizados en el CIATEJ relacionados con la evaluación de los efectos de las SeNPs provenientes de síntesis verde, así como de fuentes inorgánicas, como los selenitos. El enfoque ahora será en hortalizas durante su etapa de germinación, puesto que es la etapa más relevante para garantizar la viabilidad del cultivo.

Cabe resaltar que para este estudio se utilizarán SeNPs grado industrial, es decir, nanopartículas de alta calidad, pero con un nivel de pureza y control ligeramente inferior al de las de SeNPs grado reactivo obtenidas de la síntesis verde [3]. Las nanopartículas de grado reactivo se producen y purifican con el más alto nivel de precisión y se utilizan en aplicaciones de investigación y tecnología de la más alta calidad. Por otro lado, las nanopartículas de grado industrial son adecuadas para aplicaciones más comerciales y de producción donde el nivel de pureza puede no ser esencial, pero las propiedades nanométricas resulten ser beneficiosas [1].

1.2 Caracterización de la organización

Como ya ha sido descrito, el proyecto “Estudio *in vitro* del efecto de diferentes fuentes de selenio en la germinación de hortalizas” se desarrolla en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) el cual es un centro

de investigación científica y tecnológica ubicado en el estado de Jalisco, México. Fue fundado en 1988 y es parte del Sistema de Centros Públicos de Investigación del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) de México. El CIATEJ se divide en cinco líneas de investigación las cuales son: Biotecnología Vegetal, Tecnología Ambiental, Tecnología Alimentaria, Biotecnología Industrial y Biotecnología Médica-Farmacéutica, distribuidas en cuatro subsedes: Guadalajara, Zapopan, Sureste y Noreste [7].

El CIATEJ es un centro público de investigación que impulsa el desarrollo sostenible de la sociedad, mediante la generación de conocimiento de vanguardia, formación de talento especializado y aplicación innovadora de la ciencia y tecnología. Se fomenta el conocimiento e innovación tecnológica, a través de redes de colaboración nacionales e internacionales y alianzas con los sectores público y privado para contribuir al desarrollo sostenible de la sociedad [7].

Específicamente, la Unidad de Biotecnología Vegetal, que acoge este proyecto, como elemento sustantivo del CIATEJ y cuya directora es la Dra. Antonia Gutiérrez Mora, sirve con dedicación al sector agrícola, agropecuario y agroindustrial a través de investigación, desarrollo, servicios tecnológicos y formación de recursos humanos. Estas actividades se realizan con el propósito de contribuir al incremento de sus ventajas competitivas e innovadoras en los mercados globales actuales [7].

En la Unidad de Biotecnología Vegetal se trabaja en cuatro sublíneas de investigación: Micropropagación, Fitopatología, Mejoramiento genético y Fitoquímica y biocompuestos. En esta última sublínea se desarrolla el PAP bajo asesoría de la Dra. Soledad García Morales como investigadora asociada a este proyecto del CIATEJ [7].

1.3 Identificación de la(s) problemática(s)

Actualmente la producción agrícola ha incrementado su demanda en cuestión de insumos que se enfoquen en la mejora de la producción de cultivos, brindar una mejor salud a las plantas y prolongar la vida postcosecha de los productos. También se ha buscado aumentar

el valor agregado de los alimentos vegetales en el mercado, ya sea potenciando sus propiedades nutricionales o mejorando sus características organolépticas [8].

La resistencia de los cultivos vegetales a los factores de estrés ha tomado un papel importante en los últimos años, en parte por el creciente impacto negativo al medio ambiente debido a la productividad en gran escala. La acumulación de especies altamente reactivas de oxígeno y la aparición del estrés oxidativo, son uno de los impactos iniciales del estrés en las plantas. Estos efectos pueden surgir antes de que las plantas sean sembradas, sobre todo cuando las semillas se almacenan durante largos periodos, o durante el proceso de germinación [9].

El selenio (Se), es un análogo químico del azufre, el cual ha sido ampliamente reconocido como un micronutriente esencial. Estudios han demostrado que el Se es un componente importante de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), puesto que desempeña un papel relevante en la protección de la estructura de la membrana celular y en la reducción del estrés oxidativo, lo cual lo convierte en una sustancia clave esencial en el crecimiento y desarrollo de las plantas [10]. La adición exógena del Se aumenta la tolerancia al estrés oxidativo inducido por radiación UV, además activa los mecanismos antioxidantes y reduce los procesos de senescencia. También se emplea la adición de Se a germinados para incrementar el contenido de compuestos bioactivos [11].

El contenido de Se en las plantas es completamente dependiente de la riqueza de Se del suelo, no obstante, las fuentes de selenio que enriquecen el suelo son muy limitadas. También, la distribución de selenio en suelos naturales no es adecuadamente uniforme, lo que provoca problemas como un bajo contenido de Se y un enriquecimiento desigual de este elemento en los cultivos [10].

Por otro lado, los cultivos se pueden enriquecer con Se, utilizando técnicas agronómicas como la aplicación foliar y la aplicación de fertilizante a la raíz, en teoría, son técnicas capaces de elevar el contenido de Se en las plantas. Sin embargo, cuando se rocía manualmente, la tasa de enriquecimiento no es alta y, además, los fertilizantes de selenio por lo general suelen perderse con el agua de lluvia o riego, lo que provoca la contaminación de

Se, generando riesgos de seguridad para las plantas, los seres humanos y el medio ambiente en general [12].

Dada la necesidad inminente de desarrollar métodos ecológicos y efectivos para el enriquecimiento de Se en las plantas, se abren posibilidades para la aplicación de diversas fuentes de Se no invasivas como las nanopartículas o las sales de Se. Estas alternativas pueden mejorar la producción de especies vegetales empleando cantidades menores de dicho elemento en diferentes etapas del crecimiento vegetal, lo cual puede reducir las aplicaciones excesivas de productos químicos [8].

1.4. Planeación de alternativa (s)

Para favorecer el crecimiento y el desarrollo de las plantas, tradicionalmente se usan cantidades excesivas de fertilizantes químicos lo que ha provocado una afectación a los sistemas bióticos donde se cultivan las plantas [2]. El presente PAP da continuidad a investigaciones previas del CIATEJ, en las cuales se encontró que las nanopartículas de selenio (SeNPs) brindan efectos bioestimulantes a las plantas ornamentales, así como también presentan actividad antimicrobiana para el control de fitopatógenos [6].

La aplicación de Se en las plantas favorece su crecimiento. No obstante, el efecto del Se en los cultivos depende totalmente de su forma química, de la concentración que se aplique, la especie de la planta y de su tolerancia de absorción en sus tejidos, siendo benéfico en bajas concentraciones, pero puede tornar tóxico en niveles elevados [13].

La principal diferencia entre investigaciones previas realizadas en el CIATEJ y el presente PAP es que en las primeras se evaluaron los efectos en plantas ornamentales durante la etapa de invernadero cuando las plantas presentan un metabolismo diferente al que poseen durante la etapa de germinación [13]. Sin embargo, ahora se busca probar los efectos del Se en plantas para consumo alimenticio (hortalizas) durante su germinación. Esta etapa es crucial para el establecimiento exitoso de un cultivo, puesto que es donde las plántulas comienzan a desarrollar su metabolismo y sus sistemas de respuesta para mitigar el estrés oxidativo causado por diversos factores ambientales, como estrés hídrico, salinidad y toxicidad por metales pesados [6].

Además, se implementará el uso de otras fuentes de selenio de forma inorgánica, específicamente como selenito de sodio y selenito de zinc. Esto se debe a que en estudios previos se ha comprobado que el Se en forma de selenito suele ser efectivo para reducir la incidencia a enfermedades, incrementar la masa fresca y mantener la viabilidad del tejido vegetal. También se ha encontrado que el selenito propicia un mayor crecimiento del sistema radicular lo que proporciona un mayor anclaje y sistema de captación de nutrientes a las plantas [1].

Al aplicar a las plantas un bioestimulante, como las SeNPs, o fuentes inorgánicas de selenio, como selenito de sodio o selenito de zinc, se obtiene un mejor rendimiento vegetal, incluso con bajas cantidades y concentraciones de estos productos. Esta estrategia también reduce el uso excesivo de fertilizantes convencionales que propician el desarrollo acelerado del crecimiento vegetal ocasionando efectos adversos al medio ambiente y la salud [1].

Por lo anteriormente expuesto, en este PAP se utilizarán las SeNPs y los selenitos como fuentes exógenas de Se aplicándose en solución acuosa y enriqueciendo el medio de cultivo para la germinación *in vitro* de semillas de hortalizas (tomate, chile y lechuga) y se evaluará su efecto en dichas plantas. En la tabla 1 se presenta el cronograma de actividades a desarrollar para el cumplimiento de los objetivos del proyecto a lo largo de 16 semanas, y en la tabla 2 se detallan los recursos materiales, técnicos y humanos requeridos en cada actividad.

Tabla 1. Cronograma de actividades.

Objetivo	Nombre de la actividad	Recursos	Tiempo (días)	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8	Semana 9	Semana 10	Semana 11	Semana 12	Semana 13	Semana 14	Semana 15	Semana 16
Investigación y planeación	Conocimiento de las instalaciones	AS	1																
	Investigación y revisión de literatura	TP	45																
	Planeación de las alternativas	AS	1																
	Diseño de experimentos	AS TP	1																
	Caracterización de las nanopartículas	TP	1																
	Preparación de material y/o medios de cultivo	TP, TL, AC, MC, MT	8																
Experiencia	Preparación de soluciones stock	SN, SS	2																

	Germinación <i>in vitro</i> 1 de semillas de tomate	TP, ME, CF, SH, ST	2															
	Germinación <i>in vitro</i> 1 de semillas de chile	TP, ME, CF, SH, ST	2															
	Germinación <i>in vitro</i> 1 de semillas de lechuga	TP, ME, CF, SH, ST	2															
	Análisis de la primera germinación	AS, TP, TL	3															
	Germinación <i>in vitro</i> 2 de semillas de tomate	TP, ME, MC, CF, SH, ST, IC	1															
	Germinación <i>in vitro</i> 2 de semillas de chile	TP, ME, MC, CF, SH, ST, IC	1															
	Germinación <i>in vitro</i> 2 de semillas de lechuga	TP, ME, MC, CF, SH, ST, IC	1															
	Monitoreo del crecimiento y selección de plantas	TP, TL	21															
	Medición de variables de crecimiento	TP	1															
	Cuantificación de clorofilas	TP, TL, AS	1															
Documentación	Recopilación de datos	AS, TP	45															
	Análisis y evaluación de resultados	AS, TP	12															
	Conclusiones y perspectivas	AS, TP	4															
	Revisión del entregable RPAP	AS, TP	4															
	Presentación final del PAP	TP	1															

Tabla 2. Abreviaturas de los recursos en el cronograma de actividades.

Recursos utilizados	
Abreviatura	Significado
AS	Asesoría con la Dra. Soledad García
TP	Trabajo Personal
TL	Trabajo en Laboratorio
CF	Trabajo en Campana de Flujo laminar
IC	Cuarto de Incubación
SN	Nanopartículas de selenio
SS	Sales de selenio
ME	Material Estéril
AC	Autoclave
MC	Medio de cultivo
SH	Semillas de las hortalizas
ST	Soluciones Stock
MT	Material de trabajo (recipientes, frascos etc.)

1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

La biofortificación agronómica y genética de los cultivos agrícolas con selenio representa una estrategia clave para mejorar su producción y elevar la calidad nutricional de los productos agrícolas [11]. Dicha técnica consiste en la aplicación del elemento químico de interés, en este caso selenio, a las plantas cultivadas, ya sea vía foliar, por impregnación o directamente en la raíz, durante el ciclo de cultivo. Previamente en el CIATEJ, se realizó la síntesis y la caracterización de las SeNPs con materiales grado reactivos y se realizó una segunda síntesis de SeNPs con materiales grado industrial [3], [6], [9], [13].

En el presente PAP se utilizaron las SeNPs CHE (extracto de *Amphipterygium glaucum*) y COF (extracto de *Calendula officinalis*) provenientes de síntesis verde [3], así como selenito de sodio (Na_2SeO_3) y selenito de zinc (ZnSeO_3) para evaluar su efecto en la germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum annuum*) y lechuga (*Latuca sativa*) en condiciones *in vitro*.

Caracterización de las SeNPs

La caracterización de nanopartículas permite conocer su tamaño, distribución y forma, puesto que es indispensable determinar estos factores ya que pueden ser críticos y pueden afectar sus propiedades y su efectividad biológica. Además, una caracterización permite evaluar la estabilidad de las nanopartículas [9]. Para realizar la caracterización se utilizó la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS), utilizando un Zetasizer Nano series (Malvern, USA). Esta técnica permite obtener el tamaño de las partículas en el rango de 0.1 nanómetros (nm) hasta 1 o 2 micrómetros (μm). Dado que la DLS mide el radio hidrodinámico aparente de las partículas, es adecuado para determinar el tamaño básico de las SeNPs [14].

Las muestras de nanopartículas se diluyeron 1:400 (v/v) con agua destilada, se colocaron aproximadamente 2 mL en una celda de plástico, se insertó la celda en el Zetasizer y se midieron a una temperatura de 25 °C. La distribución de tamaño fue obtenida con el software Zetasizer utilizando el índice de polidispersidad (PDI). Todos los resultados son el promedio de 200 lecturas realizadas automáticamente por el equipo. En las figuras 1 y 2 se muestra la

distribución del tamaño de partícula de las muestras CHE y COF, respectivamente. El tamaño promedio de las SeNPs CHE resultó de 161.4 nm; mientras que, las SeNPs COF fue de 87.70 nm.

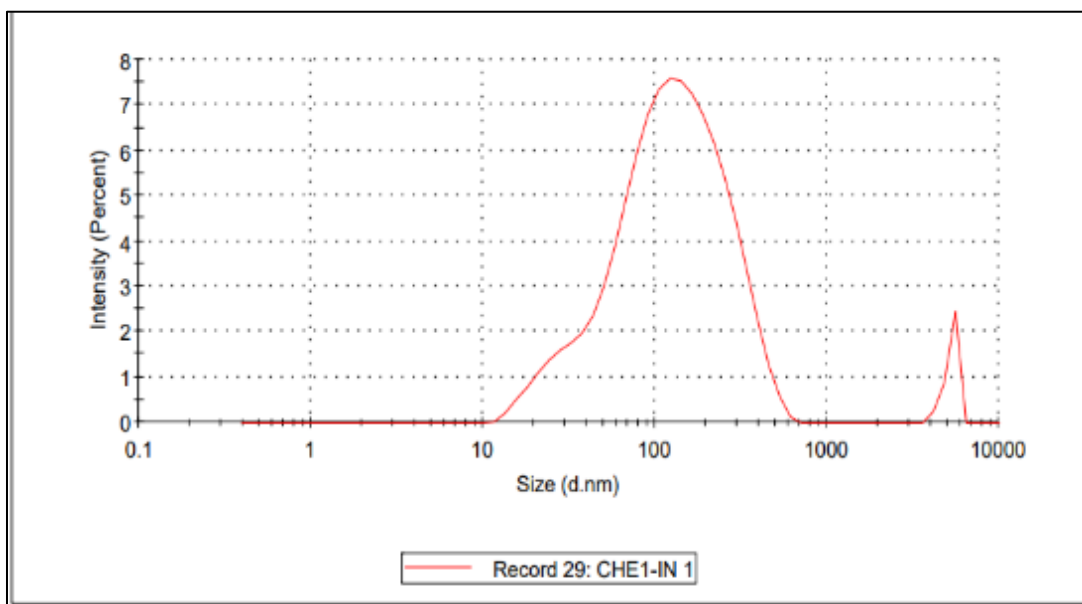


Figura 1. Tamaño de partícula de las SeNPs CHE.

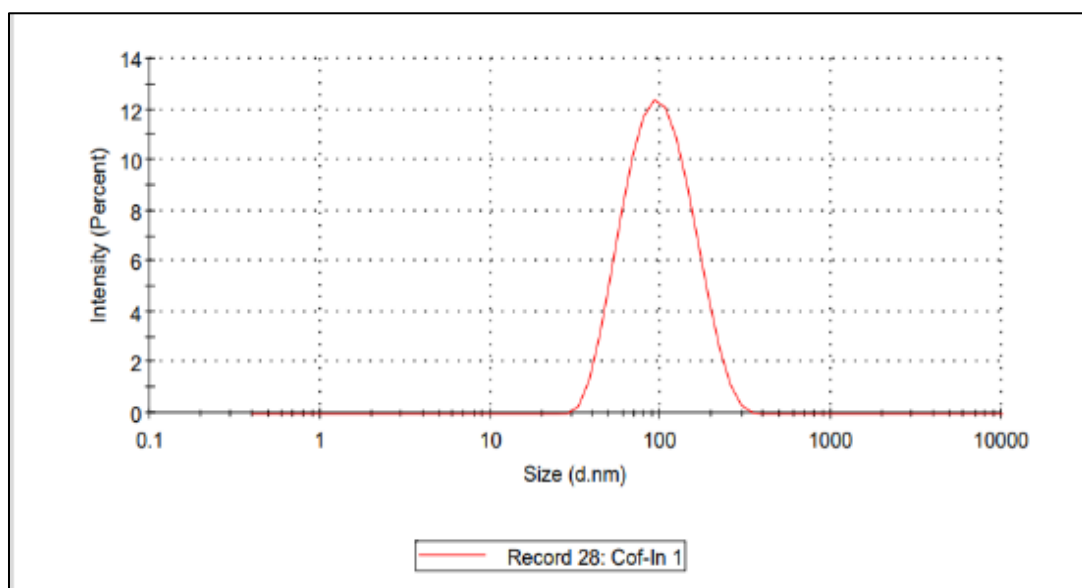


Figura 2. Tamaño de partícula de las SeNPs COF.

Ensayo 1 de germinación in vitro

La germinación es el proceso a través del cual un embrión se desarrolla hasta convertirse en una planta. El proceso se desarrolla de manera gradual cuando el embrión se encuentra en condiciones adecuadas, como son la presencia de agua, oxígeno, luz y nutrientes. La germinación puede ser inmediata después de la dispersión de las semillas o puede pasar por un período de letargo más variado, que depende de las condiciones ambientales a las que se sometan las semillas [14].

Existen dos tipos de germinación, la germinación epígea y la germinación hipógea. En la primera, el cotiledón se desarrolla por encima del suelo, y la parte aérea de la planta crece hacia arriba. En cambio, en la germinación hipógea, el embrión se desarrolla por debajo del suelo, y la parte aérea de la planta crece hacia abajo. Algunas plantas, como el, presentan este tipo de germinación. Las hortalizas utilizan principalmente la germinación epígea [15].

Con el propósito de evaluar la germinación de las semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum annuum*) y lechuga (*Latuca sativa*), se utilizaron 4 fuentes de Se. De acuerdo con la experimentación diseñada, se prepararon tres concentraciones diferentes de las distintas fuentes de Se, las cuales fueron: 0.2, 0.5 y 1.0 mg/L (tabla 3).

Tabla 3. Soluciones de selenio (Se) preparadas.

Soluciones de Se	Concentración (mg/L)
SeNPs CHE	0.2
	0.5
	1.0
SeNPs COF	0.2
	0.5
	1.0
Na ₂ SeO ₃	0.2
	0.5
	1.0
ZnSeO ₃	0.2
	0.5
	1.0

Se prepararon tres soluciones de Se partiendo de soluciones stock de SeNPs CHE y tres de COF grado industrial, estas están a una concentración de 10 y 7.4 mM, respectivamente. Para las soluciones de selenitos se partió de una solución stock de 100 mg/L de Na₂SeO₃ y otra

similar de ZnSeO₃. La composición para preparar 100 mL de cada una de las soluciones utilizadas se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Composición de las soluciones de Se.

Soluciones (mg/L)	μL de SeNPs CHE 10 mM	μL de SeNPs COF 7.4 mM	μL de Na ₂ SeO ₃ 100 mg/L	μL de ZnSeO ₃ 100 mg/L	μL de H ₂ O
CHE 0.2	11.6	0.0	0.0	0.0	99.99
CHE 0.5	28.9	0.0	0.0	0.0	99.97
CHE 1.0	57.8	0.0	0.0	0.0	99.94
COF 0.2	0.0	15.6	0.0	0.0	99.98
COF 0.5	0.0	39.0	0.0	0.0	99.96
COF 1.0	0.0	78.1	0.0	0.0	99.92
Na ₂ SeO ₃ 0.2	0.0	0.0	20	0.0	99.98
Na ₂ SeO ₃ 0.5	0.0	0.0	50	0.0	99.95
Na ₂ SeO ₃ 1.0	0.0	0.0	100	0.0	99.90
ZnSeO ₃ 0.2	0.0	0.0	0.0	20.9	99.97
ZnSeO ₃ 0.5	0.0	0.0	0.0	52.3	99.94
ZnSeO ₃ 1.0	0.0	0.0	0.0	104.6	99.89

Las 12 soluciones que se prepararon se almacenaron en frascos de vidrio en refrigeración a 4 °C para su uso posterior.

Para el primer ensayo de germinación *in vitro*, se utilizaron recipientes de plástico estériles como contenedor, donde se colocó, a manera de soporte, papel filtro impregnado con 10 mL de cada una de las soluciones de Se, según el tratamiento correspondiente. Posteriormente, dentro de la campana de flujo laminar y con ayuda de pinzas estériles, se colocaron dentro de los respectivos recipientes de plástico 50 semillas de tomate (*S. lycopersicum*) de la marca FAX, chile (*C. annuum*) o lechuga (*L. sativa*) estas dos últimas de la marca ITSCO, según el tratamiento correspondiente. Los recipientes se taparon herméticamente y enseguida, se dejaron en incubación a 25 °C durante 21 días. También, se agregó un tratamiento testigo (0 mg/L de Se) para comparar el comportamiento del experimento sin adición de fuentes exógenas de este elemento. Cada tratamiento se realizó por triplicado tal como se denota en la tabla 5.

Tabla 5. Experimentos realizados para cada germinación.

Tratamiento	Concentración (mg/L)	No. de repeticiones	Número de semillas por repetición
Testigo	0.0	3	50
SeNPs CHE	0.2	3	50
	0.5	3	50
	1.0	3	50
SeNPs COF	0.2	3	50
	0.5	3	50
	1.0	3	50
Na ₂ SeO ₃	0.2	3	50
	0.5	3	50
	1.0	3	50
ZnSeO ₃	0.2	3	50
	0.5	3	50
	1.0	3	50

Cabe resaltar que las semillas utilizadas no tuvieron ningún tratamiento previo, es decir, fueron colocadas directamente del empaque comercial al recipiente sin lavar ni desinfectar. Los experimentos establecidos se muestran en las figuras 3 a la 5.

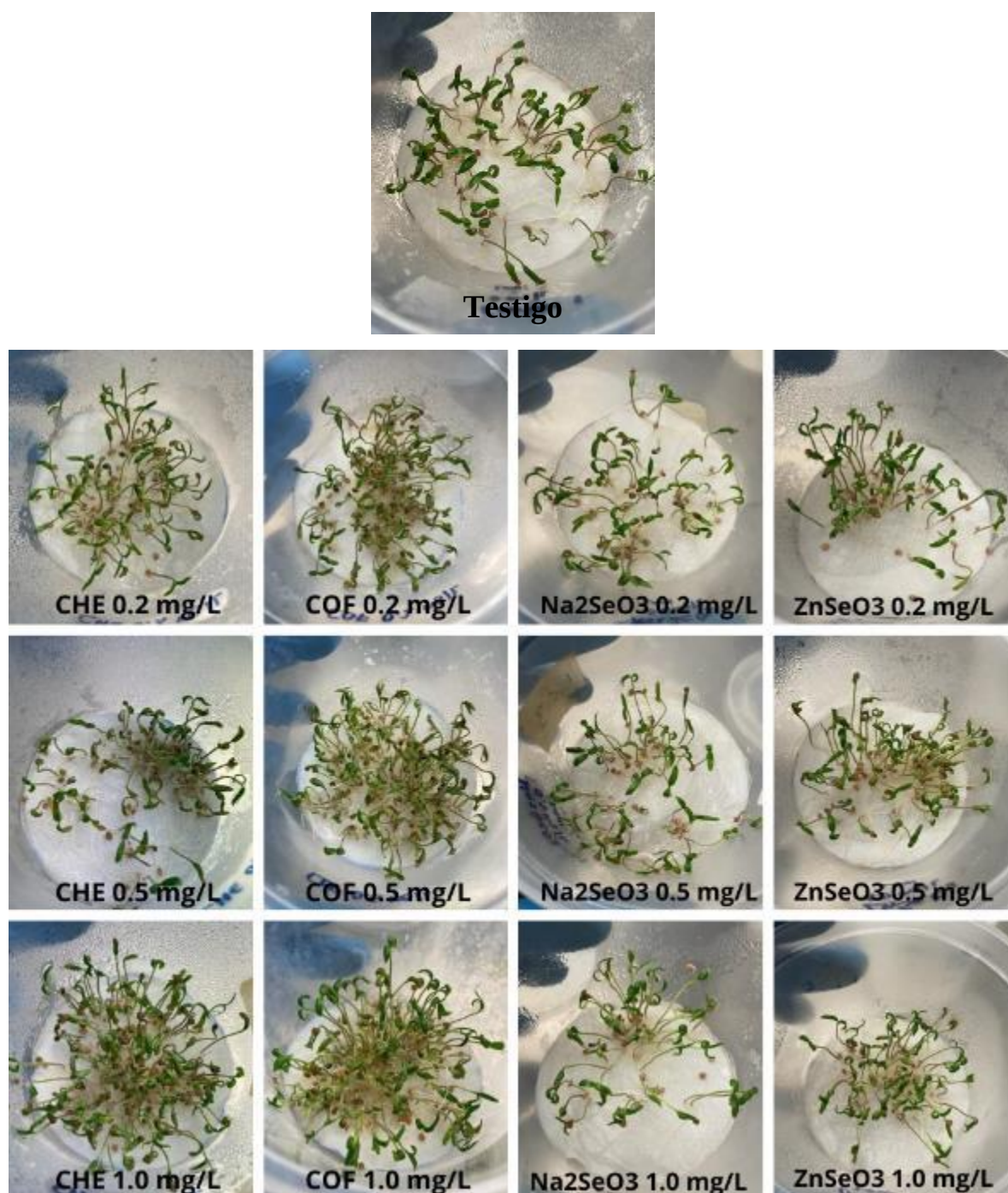


Figura 3. Establecimiento *in vitro* (germinación 1) de semillas de tomate (*S. lycopersicum*) con fuentes de Se (fotografías tomadas a los 14 días del establecimiento).

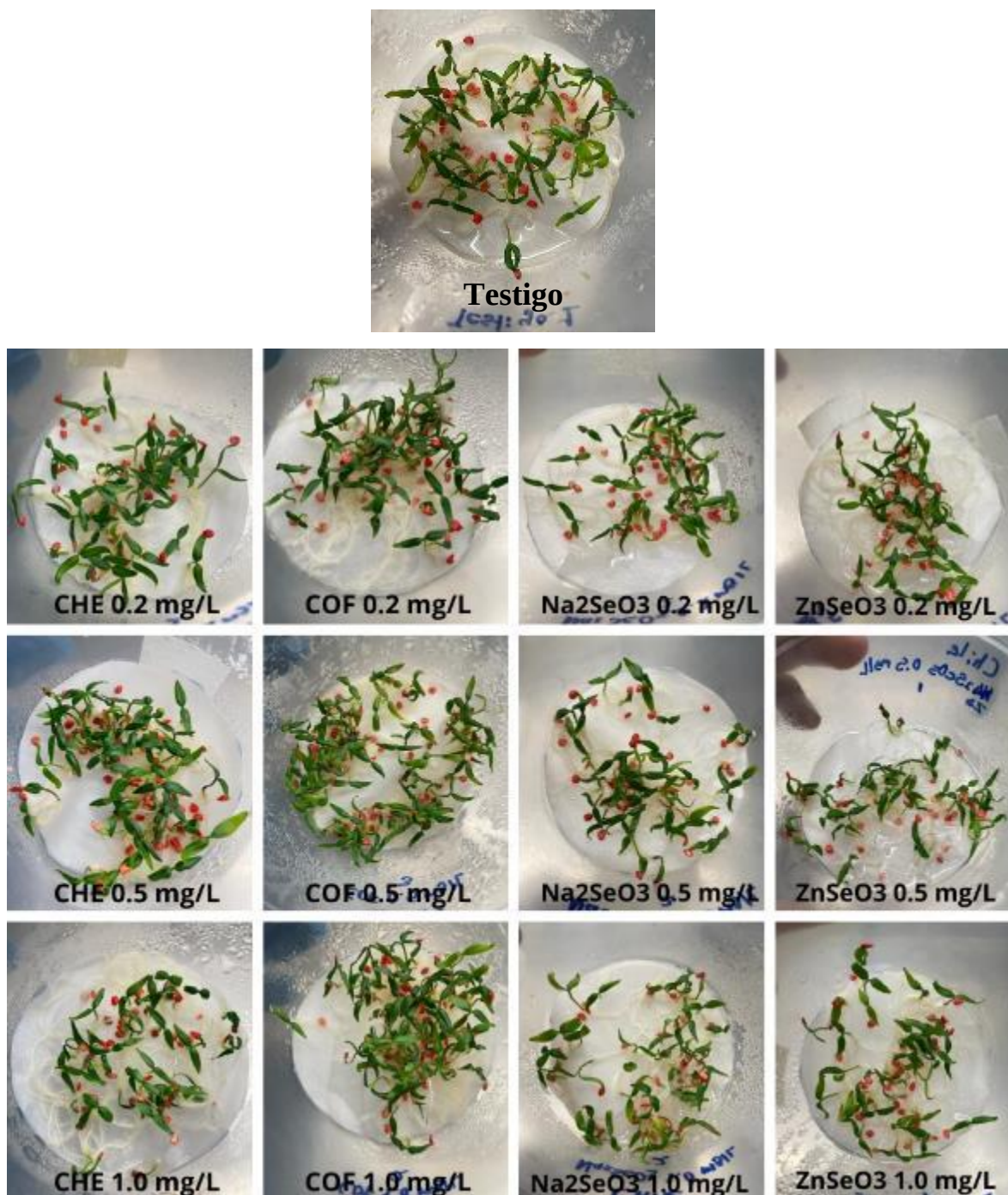


Figura 4. Establecimiento *in vitro* (germinación 1) de semillas de chile (*C. annuum*) con fuentes de Se (fotografías tomadas a los 14 días del establecimiento).

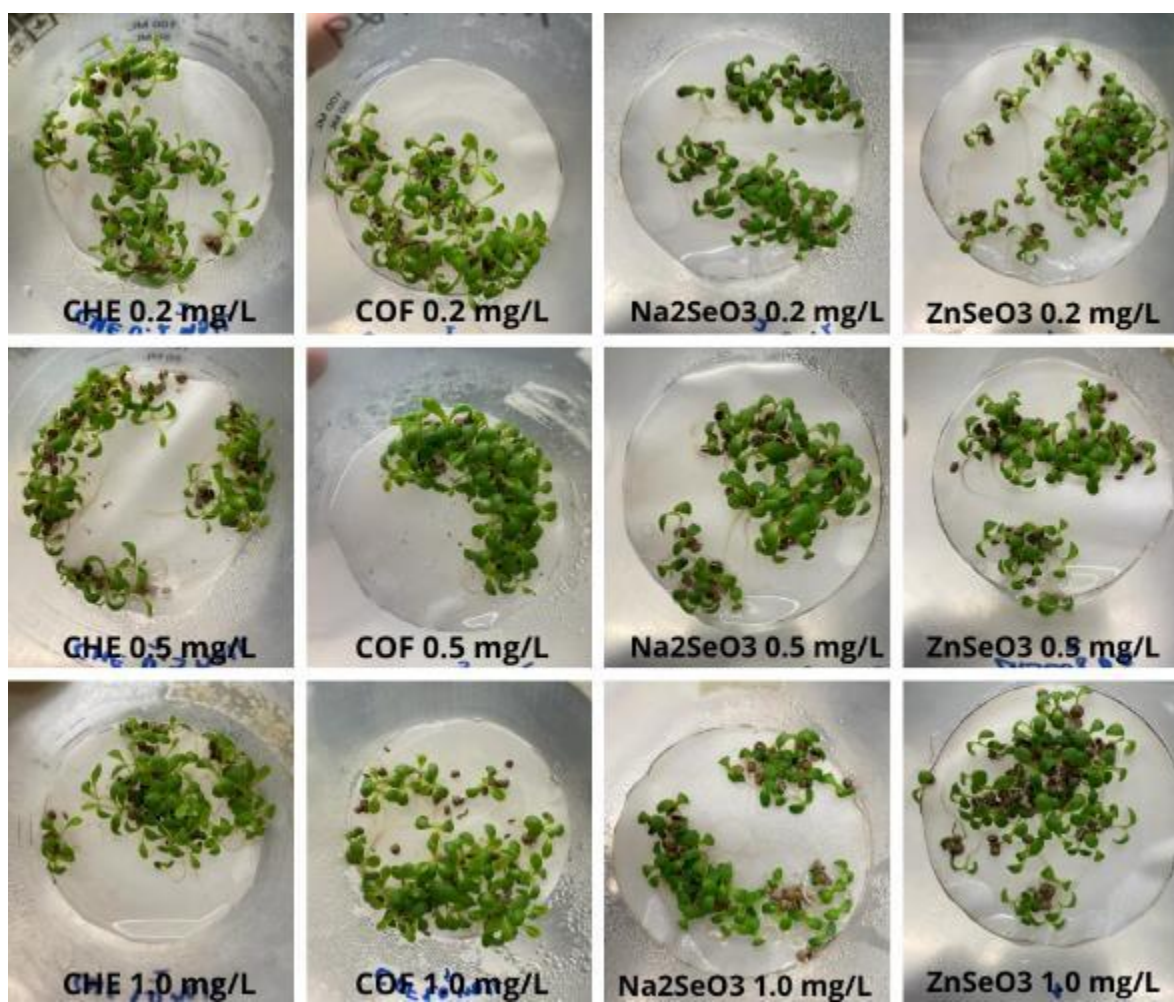


Figura 5. Establecimiento *in vitro* (germinación 1) de semillas de lechuga (*L. sativa*) con fuentes de Se (fotografías tomadas a los 14 días del establecimiento).

Evaluación de la germinación del ensayo 1

Como primer parámetro se evaluó el porcentaje de germinación de las semillas colocadas en los diferentes tratamientos para cada experimento. Esto se hizo con el objetivo de identificar los mejores tratamientos para el segundo ensayo de germinación. Los datos obtenidos son el promedio de las tres repeticiones de cada tratamiento y se muestran en las figuras 6 y 7.

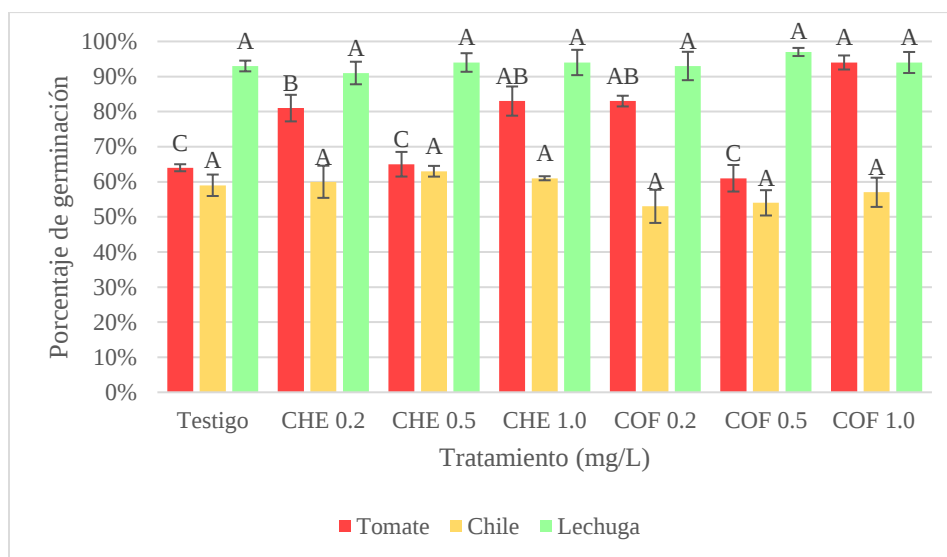


Figura 6. Porcentaje de germinación de hortalizas con SeNPs (germinación 1).

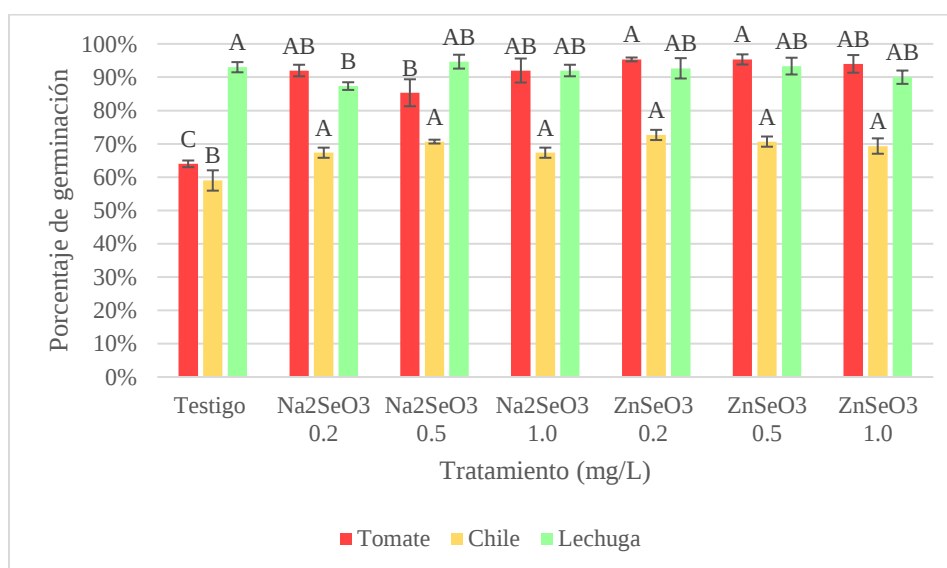


Figura 7. Porcentaje de germinación de hortalizas con selenitos (germinación 1).

Para el ensayo de germinación 1, se encontraron porcentajes de germinación arriba del 50% para todos los tratamientos, incluido el testigo tal como se observa en las figuras 6 y 7. Se realizaron análisis de varianza y una prueba de rangos múltiples utilizando el método de Duncan (95%) para cada especie, y con ello se encontraron los grupos homogéneos denotados. Para *S. lycopersicum* se encontró que las SeNPs COF a una concentración de 1.0 mg/L tuvo el mayor porcentaje de germinación. Con ZnSeO_3 , a concentración de 0.2 y 0.5 mg/L, se obtuvo el porcentaje de germinación máximo con respecto al testigo. Esto indica que sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos. Cabe resaltar que todos los tratamientos de SeNPs y selenitos obtuvieron porcentajes de germinación superiores al testigo.

Para *C. annuum* no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con SeNPs y con selenito. Para *L. sativa* en los tratamientos con SeNPs tampoco se denotan diferencias estadísticamente significativas (figura 6 y 7). Sin embargo, en los tratamientos con selenitos se denotan diferencias, encontrando que Na_2SeO_3 0.2 mg/L fue el tratamiento menos favorable. Además, se observa que el testigo presentó un mayor porcentaje de germinación en comparación con el resto de los tratamientos que fueron similares entre sí, tal como muestra en la figura 7.

Después de 21 días del experimento se seleccionaron 2 plántulas de cada tratamiento para realizar una comparación fenotípica e identificar los mejores tratamientos, esto se observa en las figuras 8 a la 13.



Figura 8. Comparación fenotípica de plantas de tomate (*S. lycopersicum*) germinadas con SeNPs (fotografías tomadas a los 21 del establecimiento).



Figura 9. Comparación fenotípica de plantas de tomate (*S. lycopersicum*) germinadas con selenitos (fotografías tomadas a los 21 del establecimiento).

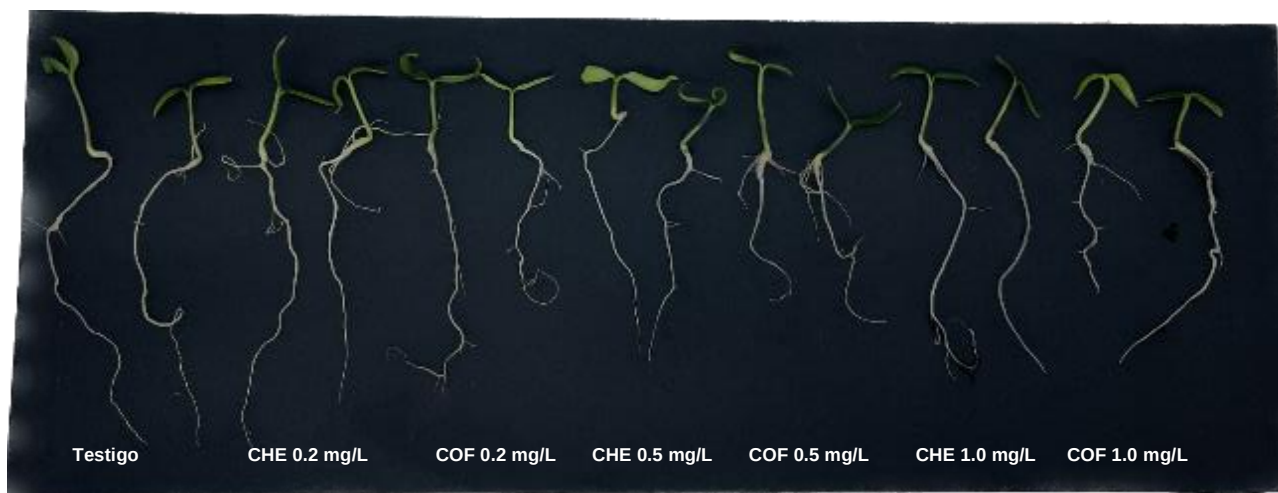


Figura 10. Comparación fenotípica de plantas de chile (*C. annuum*) germinadas con SeNPs (fotografías tomadas a los 21 del establecimiento).



Figura 11. Comparación fenotípica de plantas de chile (*C. annuum*) germinadas con selenitos (fotografías tomadas a los 21 del establecimiento).

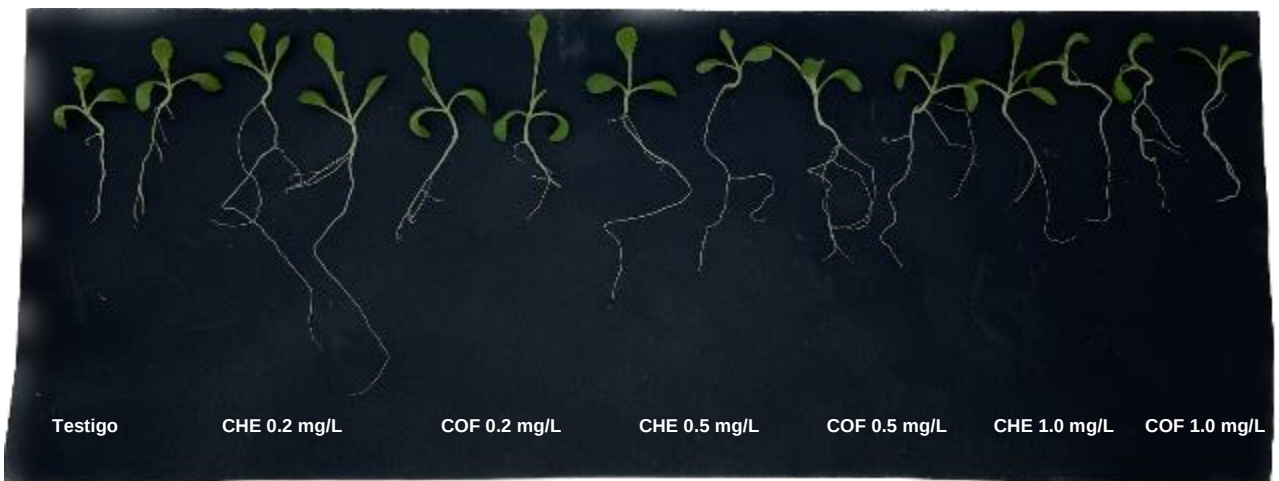


Figura 12. Comparación fenotípica de plantas de lechuga (*L. sativa*) germinadas con SeNPs (fotografías tomadas a los 21 del establecimiento).



Figura 13. Comparación fenotípica de plantas de lechuga (*L. sativa*) germinadas con selenitos (fotografías tomadas a los 21 del establecimiento).

Se seleccionaron 10 plántulas para medir la altura, la longitud de las raíces y el peso fresco. Después, las 10 plántulas seleccionadas de cada repetición se guardaron en bolsas de papel para ser congeladas a -80°C durante 14 horas y posteriormente se liofilizaron durante 48 horas para obtener el peso seco. Se determinó el contenido de clorofilas totales en el tejido foliar liofilizado. Se registró el promedio de las repeticiones para cada tratamiento de cada una de las especies y en las figuras 14 a la 21 se observan las comparaciones entre cada tratamiento.

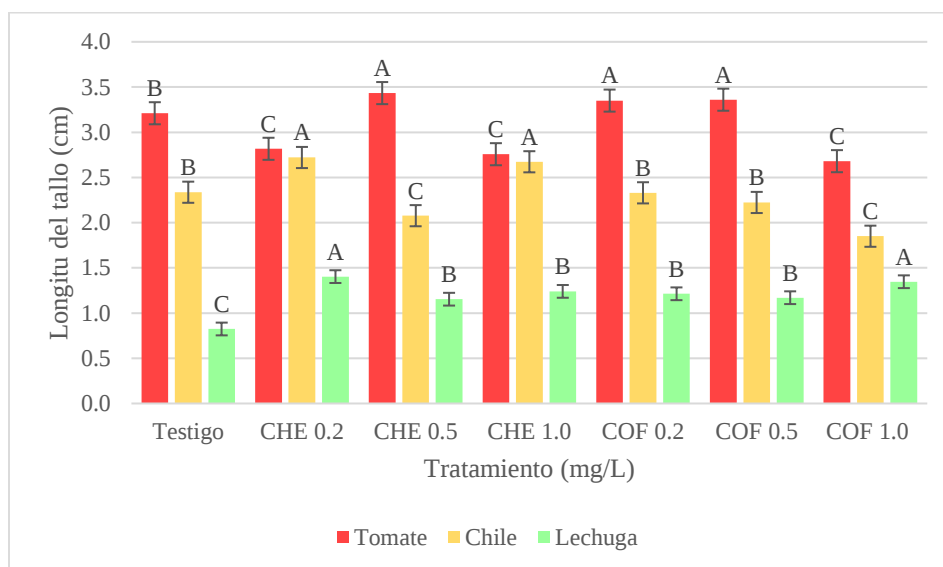


Figura 14. Longitud del tallo de las plantas con SeNPs (germinación 1).

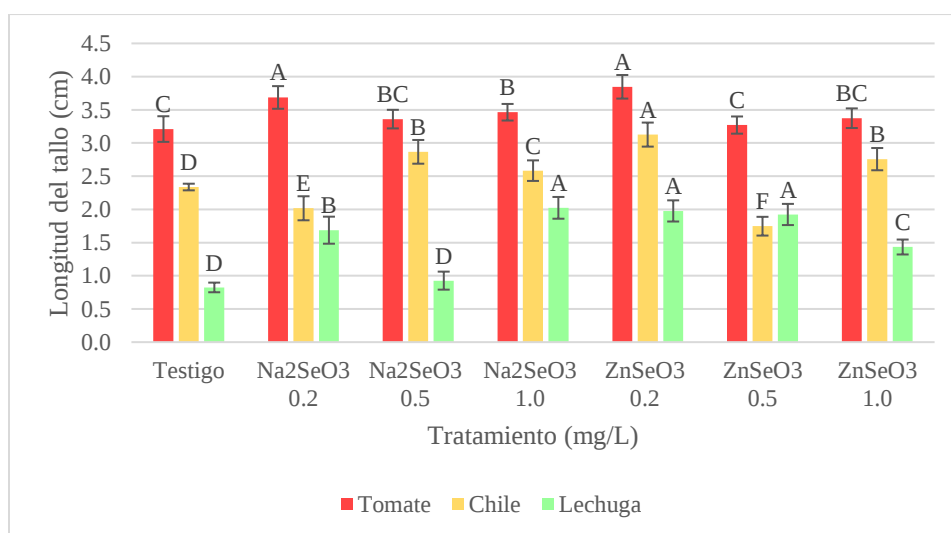


Figura 15. Longitud del tallo de las plantas con selenitos (germinación 1).

En cuanto a los parámetros de crecimiento del ensayo 1, la longitud de tallos para *S. lycopersicum* fue mayor con SeNPs COF a 0.2 y 0.5 mg/L. Para *C. annuum* se observó un mayor crecimiento del tallo con SeNPs CHE 0.2 y 1.0 mg/L, y el resto de los tratamientos fueron inferiores al testigo. En cuanto a *L. sativa* la mayor longitud se encontró a una concentración de SeNPs CHE 0.2 mg/L, y para todos los tratamientos la longitud del tallo fue superior al testigo.

Con los selenitos, *S. lycopersicum* presentó una mayor longitud de tallo con ZnSeO_3 a 0.2 mg/L, y el mismo efecto se encontró en *C. annuum*. Para *L. sativa* la mayor longitud se encontró con Na_2SeO_3 a 1.0 mg/L. Todos los tratamientos para las tres especies presentan diferencias estadísticamente significativas (figura 15).

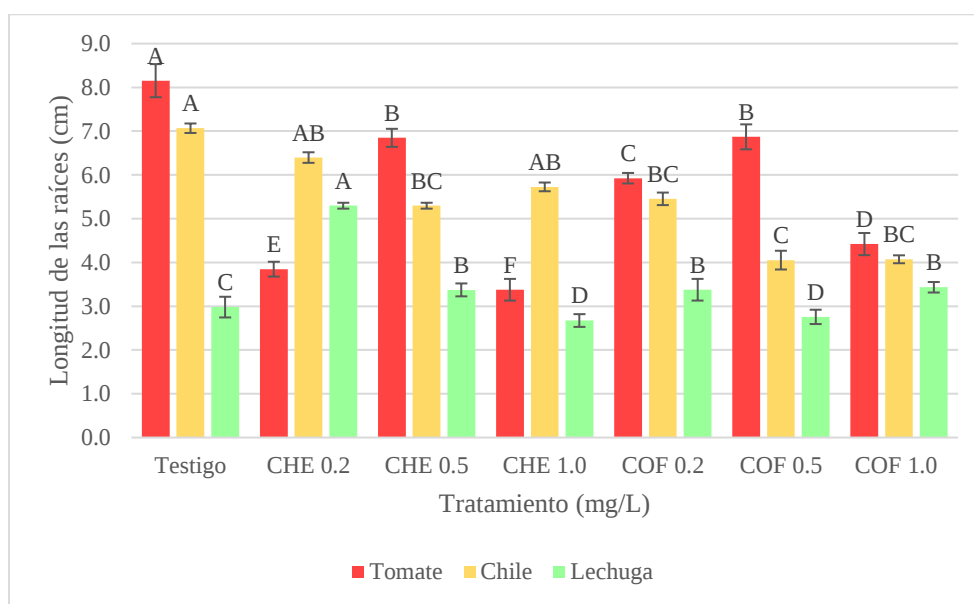


Figura 16. Longitud de las raíces de las plantas con SeNPs (germinación 1).

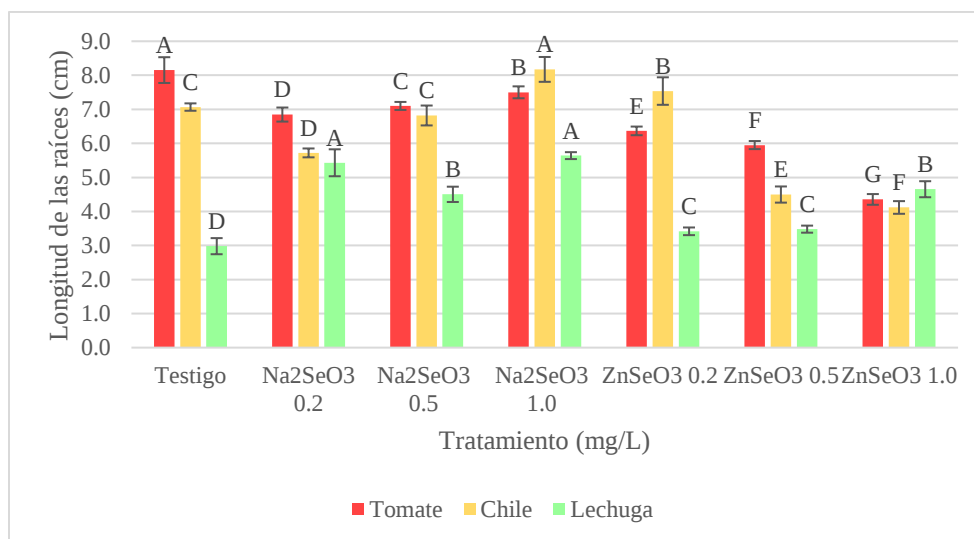


Figura 17. Longitud de las raíces de las plantas con selenitos (germinación 1).

En cuestión del crecimiento de las raíces, *S. lycopersicum* presentó un mayor alargamiento de raíz en el testigo en comparación con las SeNPs y los selenitos. Para *C. annuum*, 1.0 mg/L de Na₂SeO₃ resultó con la longitud de raíz superior en comparación con los demás tratamientos. Y para *L. sativa*, SeNPs CHE a 0.2 mg/L y Na₂SeO₃ a 1.0 mg/L fueron los tratamientos más efectivos en cuanto al alargamiento de la raíz. En todas las especies se denotan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (figuras 16 y 17). Cabe resaltar que, aunque algunos tratamientos presentaron mayor alargamiento de la raíz principal, otros tratamientos presentan una formación más prominente de raíces secundarias, tal como se puede observar en las figuras 8 a la 13.

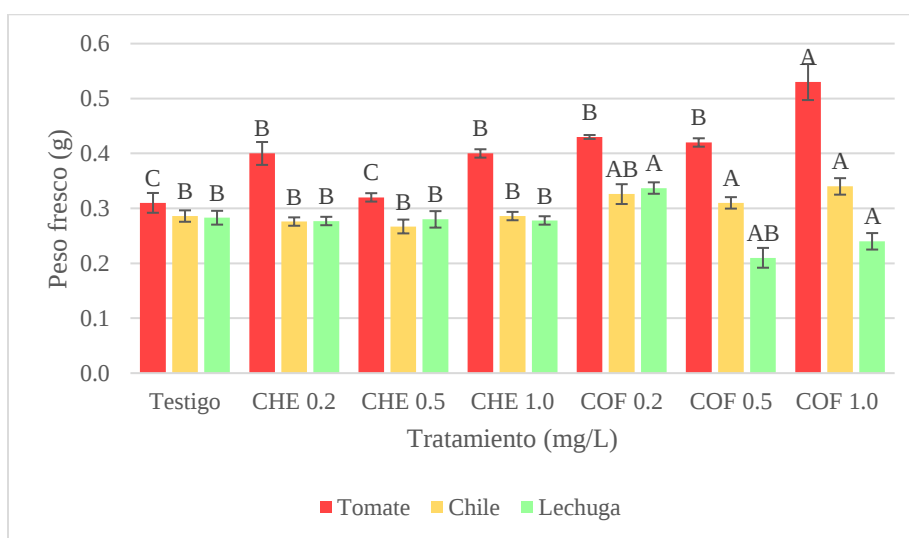


Figura 18. Peso fresco de las plantas con SeNPs (germinación 1).

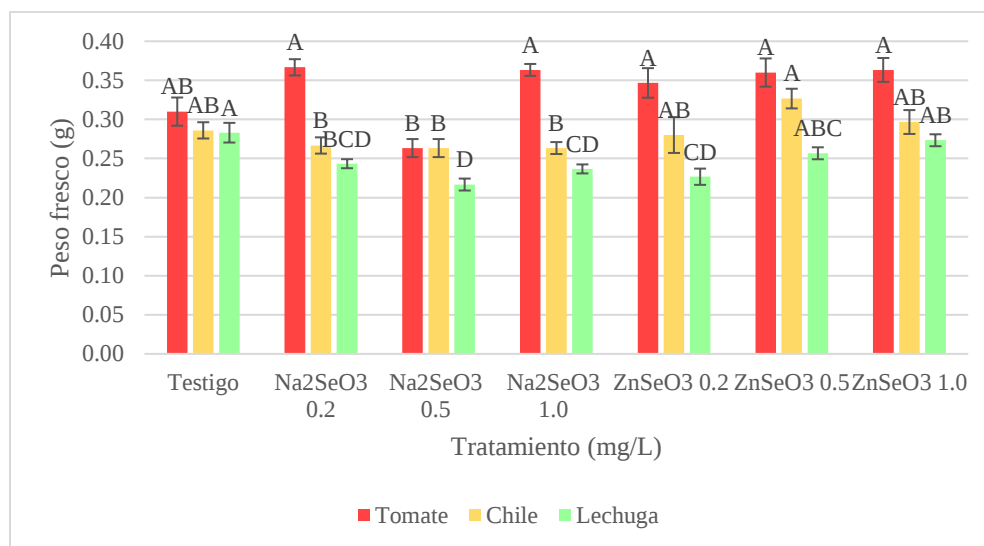


Figura 19. Peso fresco de las plantas con selenitos (germinación 1).

Para el peso fresco, *S. lycopersicum* presentó un mayor peso con una concentración de 1.0 mg/L de SeNPs COF, y todos los pesos de los tratamientos con SeNPs y selenitos con excepción de Na₂SeO₃ 0.5 mg/L fueron superiores al peso fresco del testigo. *C. annuum* también presentó un mayor peso con una concentración de 1.0 mg/L de SeNPs COF, sin embargo, para el resto de los tratamientos con SeNPs, los pesos fueron similares al del testigo. Esta especie presenta diferencias significativas en los tratamientos con selenitos. *L. sativa* presentó el mayor peso fresco a una concentración de 0.2 mg/L de SeNPs COF y para todos los tratamientos de selenitos el testigo resultó superior (figuras 18 y 19).

La gráfica del peso seco de las plantas con SeNPs es similar a la gráfica de peso fresco (figura 18) y los tratamientos que resultaron mayores en peso fresco se mantienen igual en peso seco (figura 20). Para el peso seco de las plantas con selenitos se presentan pequeñas diferencias significativas para *C. annuum* y *L. sativa*, sin embargo, para *S. lycopersicum* los tratamientos resultaron similares (figura 21).

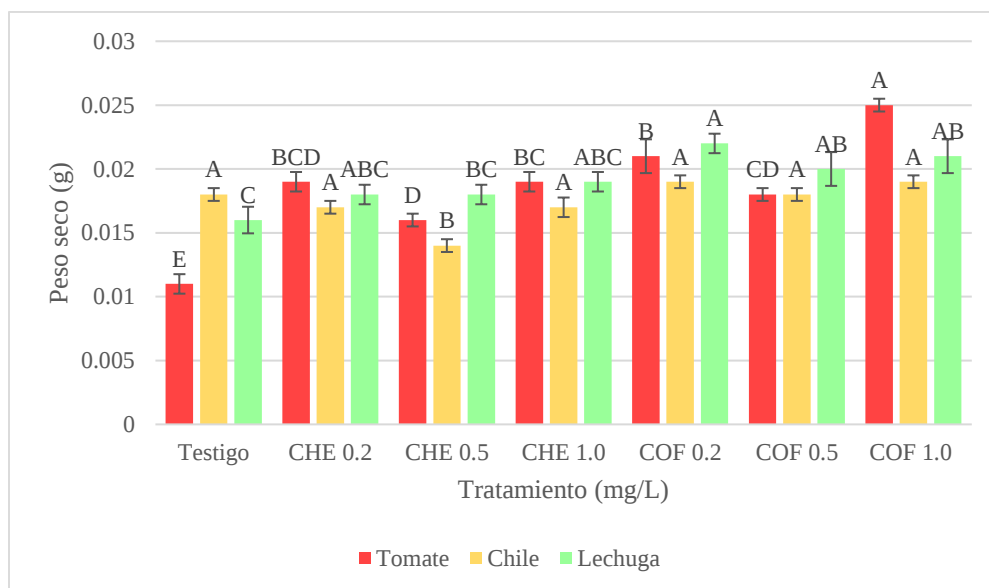


Figura 20. Peso seco de las plantas con SeNPs (germinación 1).

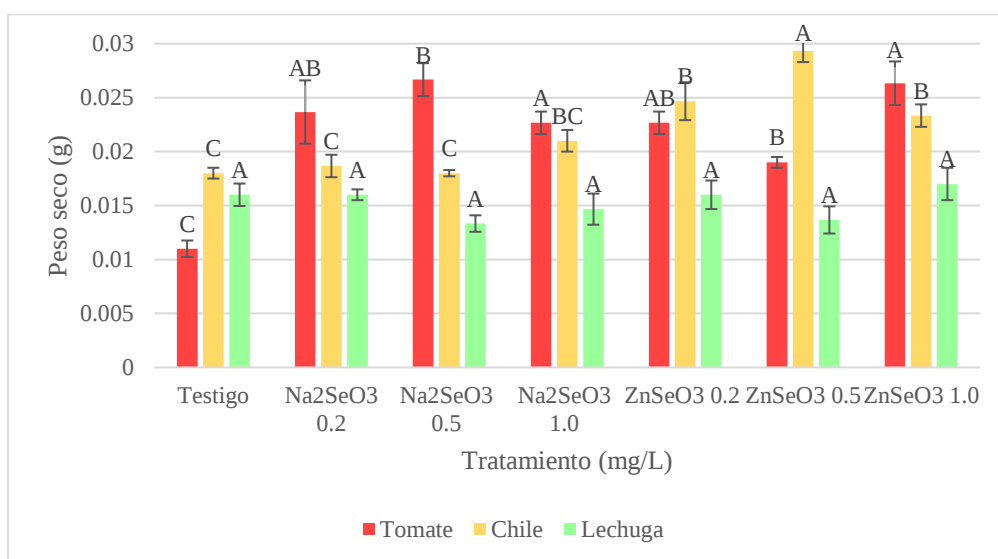


Figura 21. Peso seco de las plantas con selenitos (germinación 1).

Ensayo 2 de germinación in vitro

El medio Murashige y Skoog (1962), o MS, es una formulación básica que sirve de fuente de nutrientes a una gran variedad de plantas y que se ha convertido en el medio comúnmente usado en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales. El medio MS contiene una combinación de sales minerales, vitaminas y carbohidratos que proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Además, el medio MS se puede ajustar para satisfacer las necesidades específicas de cada especie vegetal [16].

Para el segundo ensayo de germinación *in vitro*, se evaluó la germinación de semillas en medio de cultivo MS adicionado con las soluciones de Se. De acuerdo con el análisis de la germinación del ensayo 1, las concentraciones con mejores resultados fueron de 0.2 y 1.0 mg/L de Se, y se seleccionaron tomando en cuenta parámetros como el porcentaje de germinación, longitud de tallo y raíces, y el peso fresco de las plantas. Se descartó la concentración de 0.5 mg/L de Se puesto que en la mayoría de los experimentos esta concentración no mostró diferencias significativas.

Para ello, se preparó medio basal MS (sin vitaminas), el cual fue adicionado con las soluciones de Se para cada tratamiento. En la tabla 6 se especifican los componentes y la cantidad requerida para la preparación del medio basal MS (considerando que serían posteriormente diluidos al aforar a 1 L).

Tabla 6. Componentes del medio de cultivo MS para el experimento.

Soluciones stock	Para aforar a 1 L
Macronutrientes	10 mL
Micronutrientes	5 mL
CaCl ₂ ·2H ₂ O	22 mL
Fe-EDTA	10 mL
Vitaminas L2	0 mL
Sacarosa	10 g

La solución de vitaminas L2 fue descartada del medio para que no interfiriera con los efectos del Se. El resto de los componentes se vertieron en un vaso de precipitados de 2 L junto con 500 mL de agua destilada, esto sobre una placa de agitación a 300 rpm para facilitar la disolución de los componentes. Una vez disueltos todos los componentes, con ayuda de un potenciómetro se ajustó el pH del medio a 5.8 (± 0.2). Enseguida se dividió el medio en matraces Erlenmeyer de 125 mL para adicionarlo de manera correspondiente a cada tratamiento.

Se agregaron 100 mL de medio basal en cada matraz y posteriormente de las soluciones stock de Se (SeNPs y selenitos) se adicionaron las cantidades correspondientes para la concentración requerida, tal como se muestra en la tabla 7. Cabe resaltar que los tratamientos

con selenitos se agregaron a los medios antes de esterilizarlos, sin embargo, las SeNPs se adicionaron una vez esterilizado el medio y dentro de la campana de flujo laminar. Este último punto se realizó de esa manera puesto que se desconoce si la esterilización puede afectar a las SeNPs.

Tabla 7. Medios de cultivo para cada tratamiento.

Tratamiento (mg/L)	mL de medio MS	µL de stock de Se correspondiente
Testigo	100	0
CHE 0.2	100	11.6
CHE 1.0	100	57.8
COF 0.2	100	15.6
COF 1.0	100	78.1
Na ₂ SeO ₃ 0.2	100	200
Na ₂ SeO ₃ 1.0	100	1000
ZnSeO ₃ 0.2	100	209
ZnSeO ₃ 1.0	100	1046

Una vez adicionados los medios con Se, se agregaron 6 g/L de agar a cada uno de los matraces, es decir, 0.6 g de agar por cada 100 mL de medio y se disolvió con ayuda de microondas. Ya disuelto el agar, se vertieron 30 mL de cada uno de los medios en frascos de vidrio, para posteriormente esterilizar en autoclave. En total, se hicieron 3 repeticiones para cada uno de los tratamientos.

El cultivo *in vitro* se realiza en un ambiente estéril para evitar la contaminación de las plantas. La desinfección de las semillas es un paso importante para establecer este ambiente estéril, puesto que las semillas pueden estar contaminadas con microorganismos como bacterias, hongos y virus que pueden afectar el crecimiento y desarrollo de las plantas. La desinfección de las semillas ayuda a eliminar estos microorganismos y a prevenir enfermedades en las plantas, así como el proceso de oxidación que puede ser una limitante para el proceso de germinación [17].

Para esta parte del experimento, las semillas utilizadas pasaron por un proceso de desinfección, el cual consistió primero en lavar las semillas durante 5 minutos en una solución de detergente comercial, preparada añadiendo 3 gotas de dicho producto en 100 mL de agua destilada. Posteriormente, dentro de la campana de flujo laminar, se realizaron

enjuagues con agua destilada estéril para retirar el excedente de jabón. En seguida se traspasaron las semillas a una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 10 minutos y, una vez más, se realizaron 3 enjuagues con agua destilada para eliminar el exceso de cloro. Finalmente, las semillas se sumergieron en una solución de etanol al 70% durante 1 minuto y con agitación constante, después se enjuagaron de nuevo con agua destilada estéril y se dejaron secar sobre papel absorbente estéril.

Con ayuda de pinzas estériles y previamente flameadas para garantizar la esterilidad, se colocaron 10 semillas de tomate (*S. lycopersicum*), chile (*C. annuum*) o lechuga (*L. sativa*), según el experimento, en cada frasco. Cada tratamiento se colocó por triplicado; después, los frascos se dejaron en incubación a 25 °C durante 14 días. También se agregó un tratamiento testigo (0 mg/L de Se) para comparar el comportamiento de la germinación sin adición de fuentes exógenas de este elemento. Los experimentos establecidos se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Experimentos realizados para cada germinación.

Tratamiento	Concentración (mg/L)	No. de repeticiones	Número de semillas por repetición
Testigo	0.0	3	10
SeNPs CHE	0.2	3	10
SeNPs CHE	1.0	3	10
SeNPs COF	0.2	3	10
SeNPs COF	1.0	3	10
Na ₂ SeO ₃	0.2	3	10
Na ₂ SeO ₃	1.0	3	10
ZnSeO ₃	0.2	3	10
ZnSeO ₃	1.0	3	10

En las figuras 22 a la 24 se muestran los experimentos establecidos en medio de cultivo para plantas de *S. lycopersicum*, *C. annuum* y *L. sativa* con cada una de las concentraciones de Se seleccionadas.

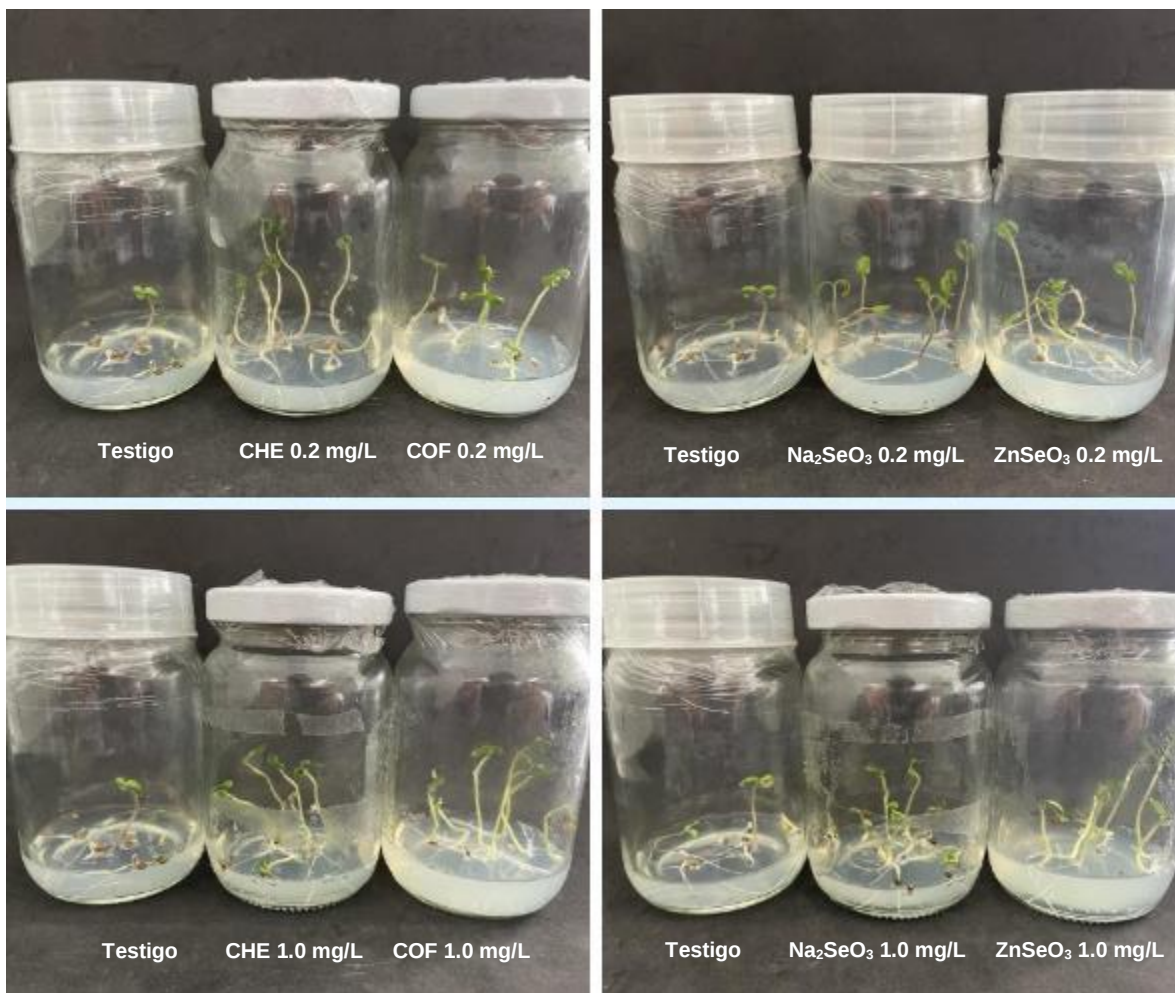


Figura 22. Establecimiento *in vitro* en medio de cultivo de semillas de tomate (*S. lycopersicum*) con fuentes de Se (fotografías tomadas a los 10 días del establecimiento).



Figura 23. Establecimiento *in vitro* en medio de cultivo de semillas de chile (*C. annuum*) con fuentes de Se (fotografías tomadas a los 10 días del establecimiento).

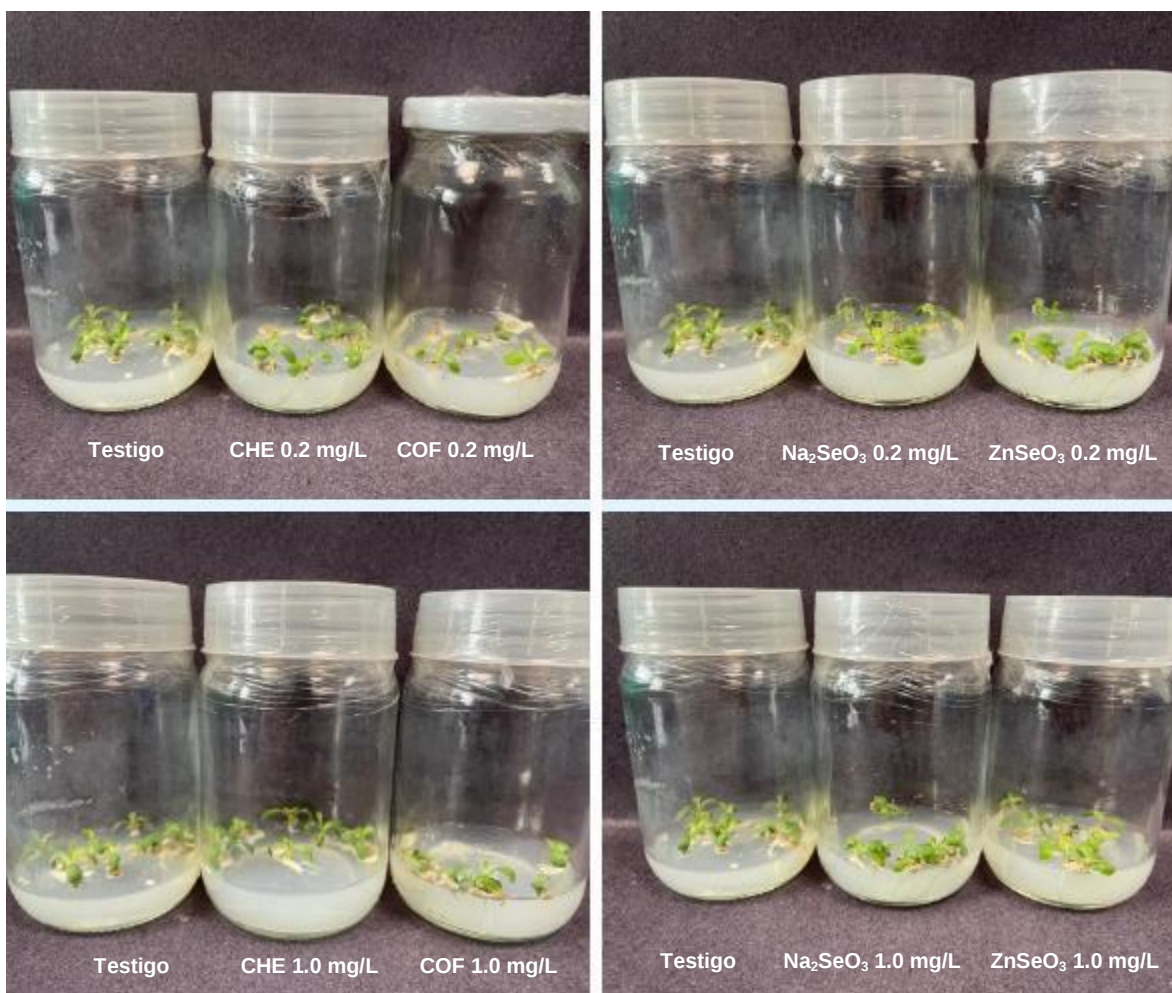


Figura 24. Establecimiento *in vitro* en medio de cultivo de semillas de lechuga (*L. sativa*) con fuentes de Se (fotografías tomadas a los 10 días del establecimiento).

Evaluación de la germinación del ensayo 2

Al igual que en el primer experimento, se evaluó el porcentaje de germinación de las semillas colocadas en los diferentes tratamientos para cada experimento. Esto se hizo con el objetivo de identificar los mejores tratamientos de la adición de Se. Los datos obtenidos son el promedio de las tres repeticiones de cada tratamiento y se muestran en las figuras 25 y 26.

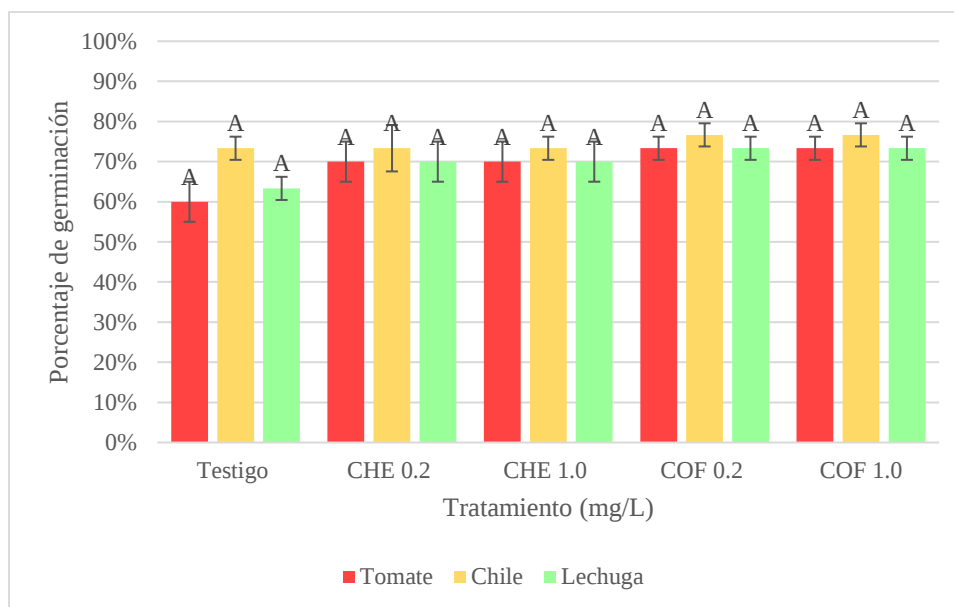


Figura 25. Porcentaje de germinación de hortalizas con SeNPs (germinación 2).

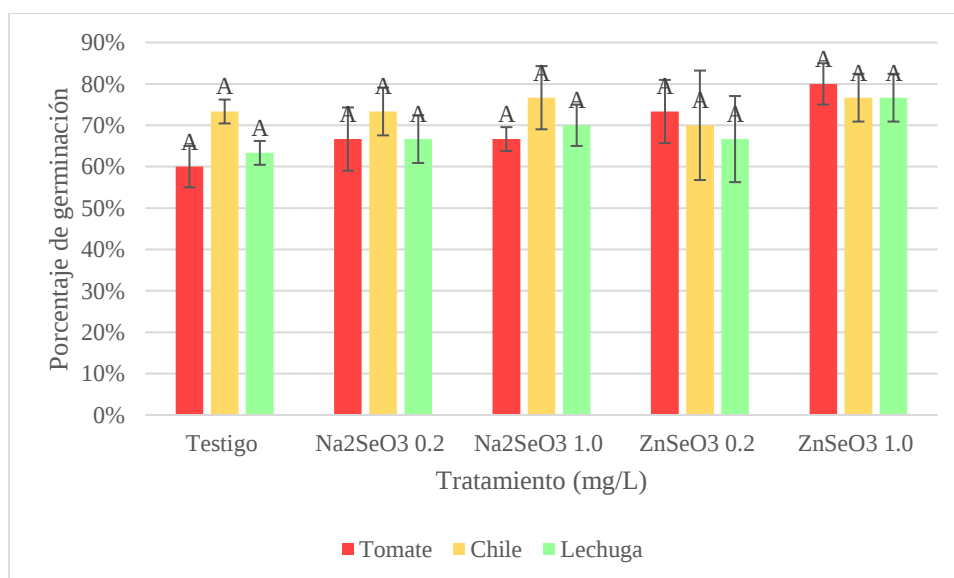


Figura 26. Porcentaje de germinación de hortalizas con selenitos (germinación 2).

En el ensayo de germinación 2 (en medio de cultivo), se encontraron porcentajes de germinación arriba del 50% para todos los tratamientos, tal como se observa en las figuras 25 y 26. Como se muestra en las gráficas, para cada especie no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, puesto que todos estos se encuentran en el mismo grupo homogéneo de acuerdo con la prueba de rangos múltiples de Duncan (95%).

Después de 14 días del experimento, se seleccionaron 2 plántulas de cada tratamiento para realizar una comparación fenotípica e identificar los mejores tratamientos, esto se observa en las figuras 27 a la 32.

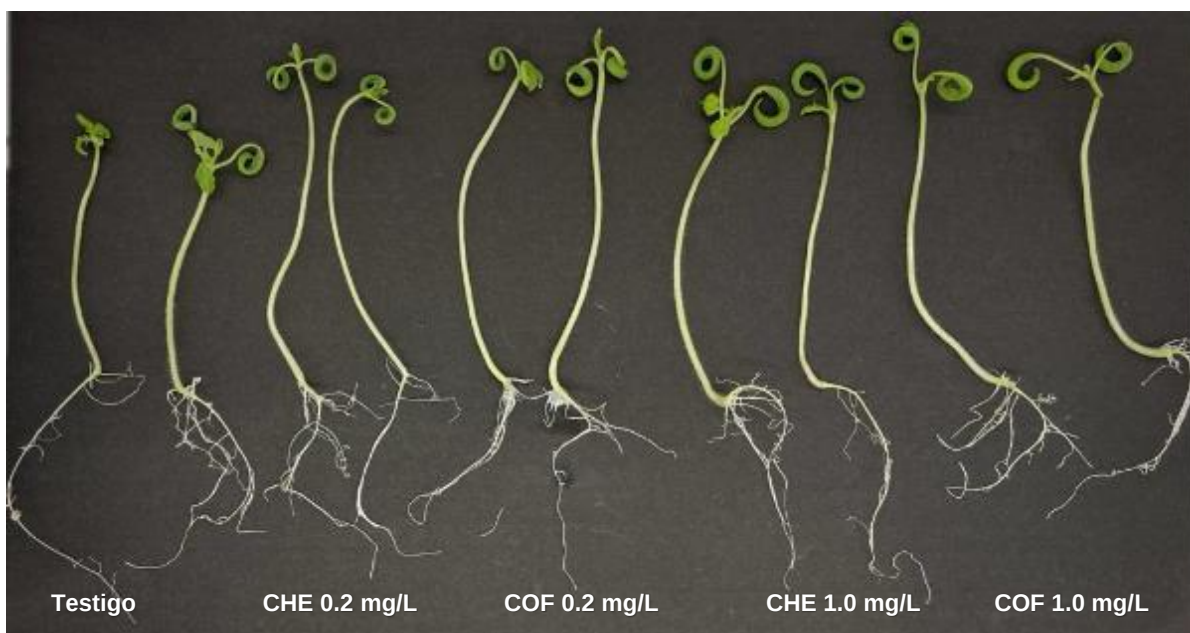


Figura 27. Comparación fenotípica de la germinación 2, de plantas de tomate (*S. lycopersicum*) con SeNPs (fotografías tomadas a los 14 del establecimiento).



Figura 28. Comparación fenotípica de la germinación de plantas de tomate (*S. lycopersicum*) con selenitos (fotografías tomadas a los 14 del establecimiento).

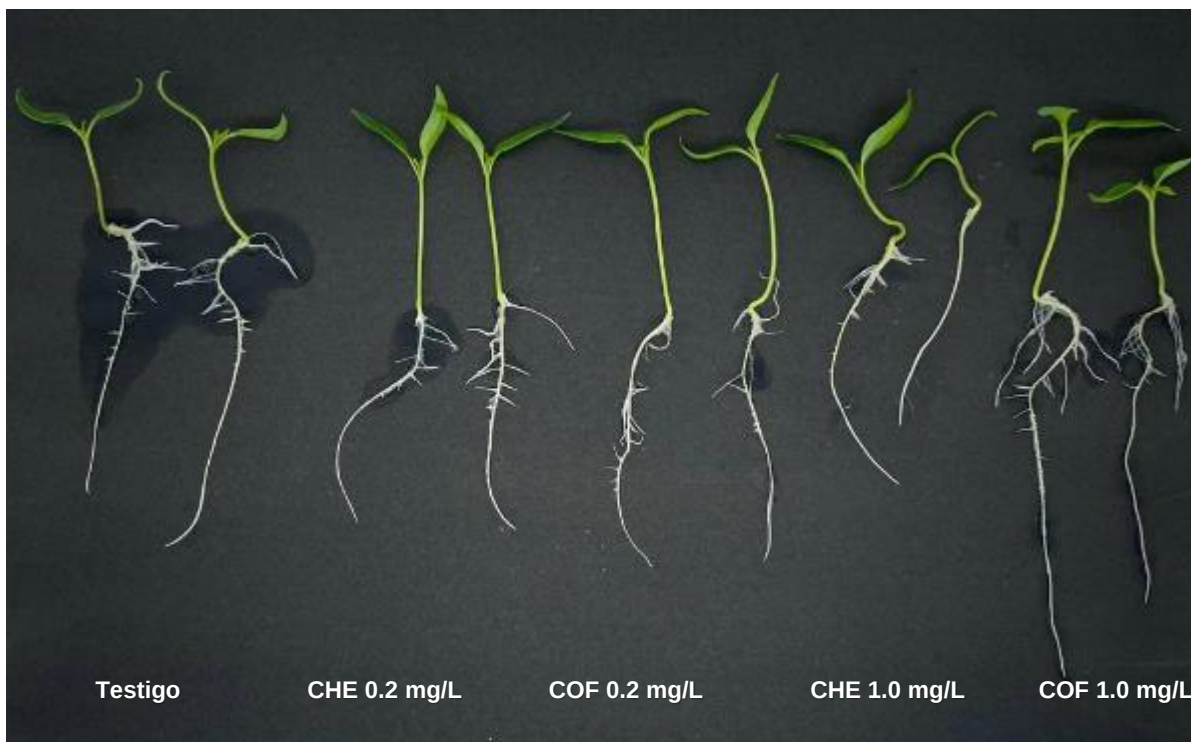


Figura 29. Comparación fenotípica de la germinación 2, de plantas de chile (*C. annuum*) con SeNPs (fotografías tomadas a los 14 del establecimiento).



Figura 30. Comparación fenotípica de la germinación 2, de plantas de chile (*C. annuum*) con selenitos (fotografías tomadas a los 14 del establecimiento).

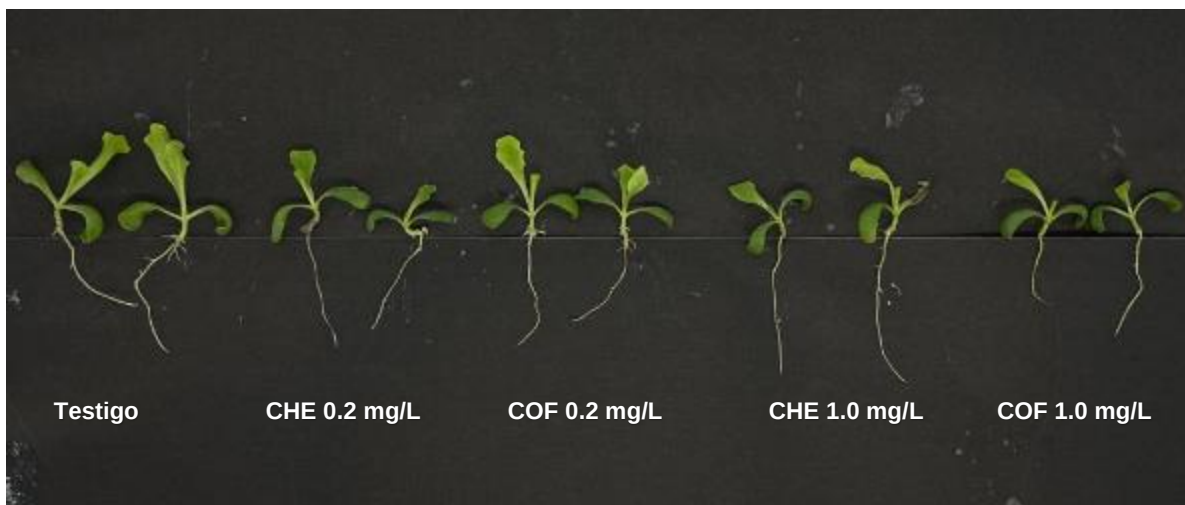


Figura 31. Comparación fenotípica de la germinación 2, de plantas de lechuga (*L. sativa*) con SeNPs (fotografías tomadas a los 14 del establecimiento).



Figura 32. Comparación fenotípica de la germinación 2, de plantas de lechuga (*L. sativa*) con selenitos (fotografías tomadas a los 14 del establecimiento).

Se seleccionaron 5 plántulas para medir su altura, la longitud de las raíces, el número de hojas y el peso fresco. Después, las 5 plántulas seleccionadas de cada repetición se guardaron en bolsas de papel para ser congeladas a -80 °C durante 24 horas y posteriormente ser liofilizadas durante 48 horas para obtener el peso seco, también se determinó el contenido de clorofilas totales. Los datos obtenidos corresponden al promedio de las repeticiones para cada tratamiento de todas las especies y se observan a en la tabla de la 33 a la 40.

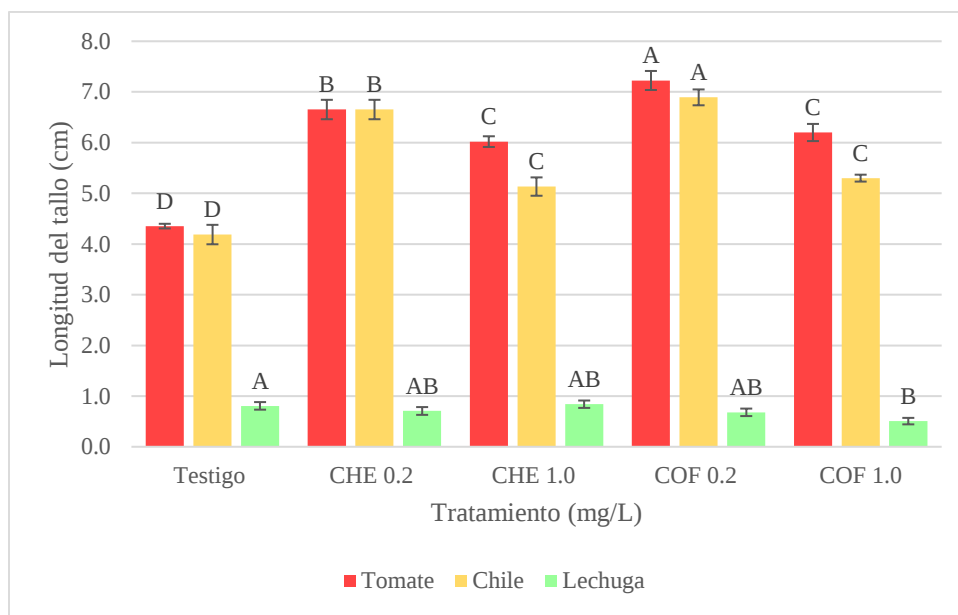


Figura 33. Longitud del tallo de las plantas con SeNPs (germinación 2).

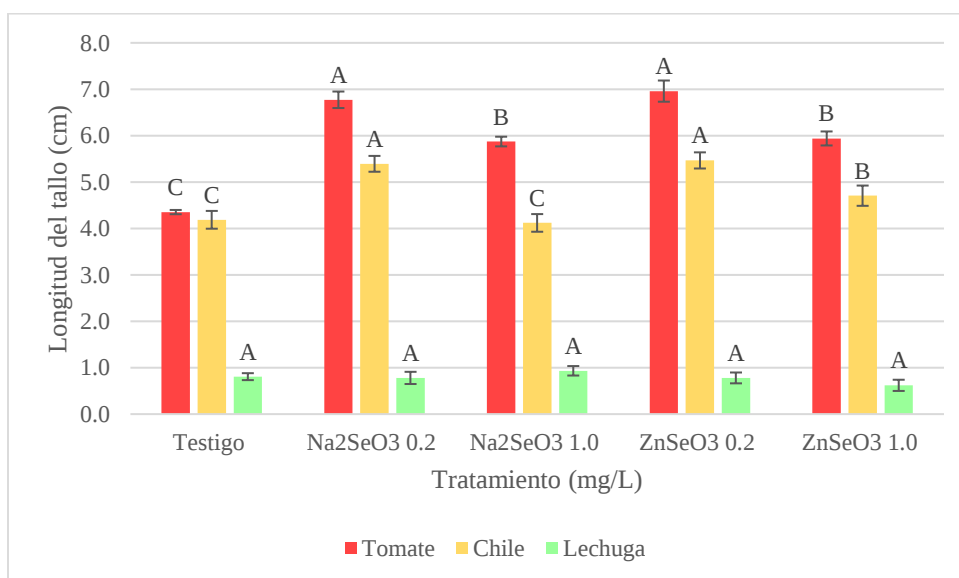


Figura 34. Longitud del tallo de las plantas con selenitos (germinación 2).

En cuanto a los parámetros de crecimiento en el ensayo 2, la longitud de tallos de *S. lycopersicum* presentó un mayor alargamiento con SeNPs COF a 0.2 mg/L y ZnSeO₃ 0.2 mg/L. Esto se denota de igual manera para *C. annuum*, además de que ambas especies presentan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Por otro lado, *L. sativa* presentó una longitud de tallo ligeramente superior en el tratamiento testigo en comparación con los tratamientos con SeNPs. Y en los tratamientos con selenitos todos

resultaron similares al testigo por lo que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (figuras 33 y 34).

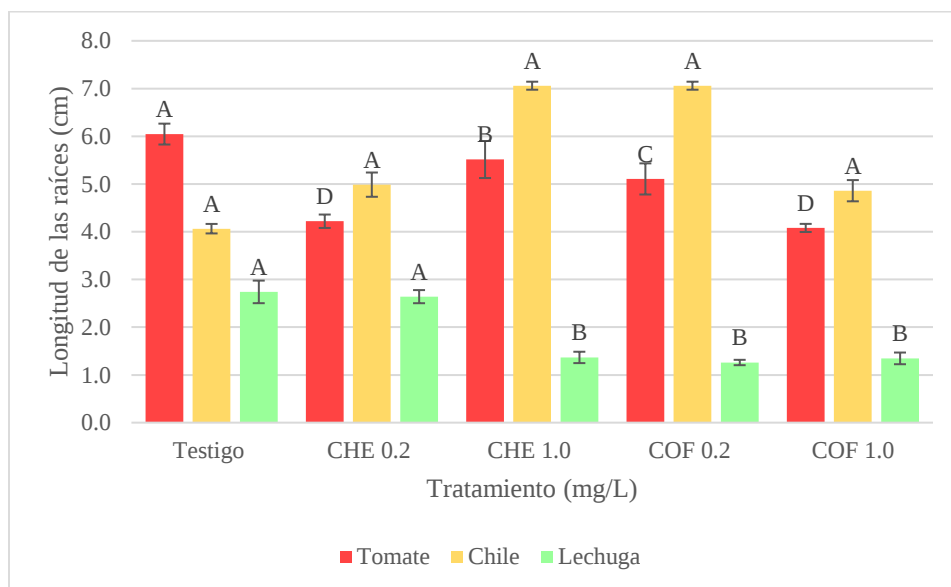


Figura 35. Longitud de las raíces de las plantas con SeNPs (germinación 2).

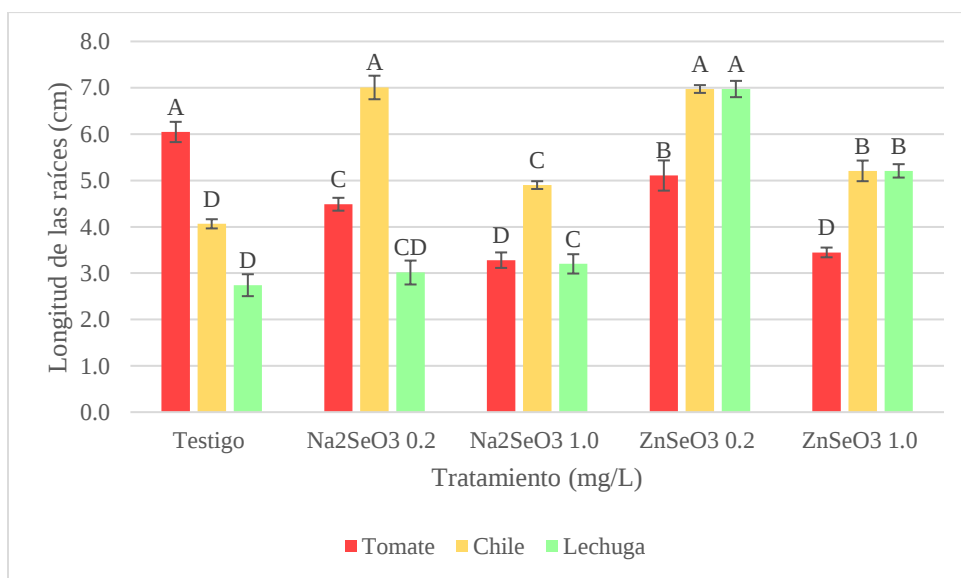


Figura 36. Longitud de las raíces de las plantas con selenitos (germinación 2).

En cuestión de las raíces, *S. lycopersicum* presentó el mayor alargamiento en el tratamiento testigo en comparación con los tratamientos con SeNPs y selenitos. Sin embargo, el resto de los tratamientos presentaron un sistema radicular más complejo. Para *C. annuum* todos los

tratamientos con SeNPs y selenitos fueron superiores al testigo, resaltando las concentraciones de SeNPs COF 0.2 y ZnSeO_3 0.2 mg/L como los tratamientos más efectivos. En *L. sativa* todos los tratamientos con SeNPs fueron inferiores al testigo, en cambio todos los tratamientos con selenitos fueron superiores a este, sobresaliendo ZnSeO_3 0.2 mg/L como el mejor tratamiento. Para todas las especies se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (figuras 35 y 36).

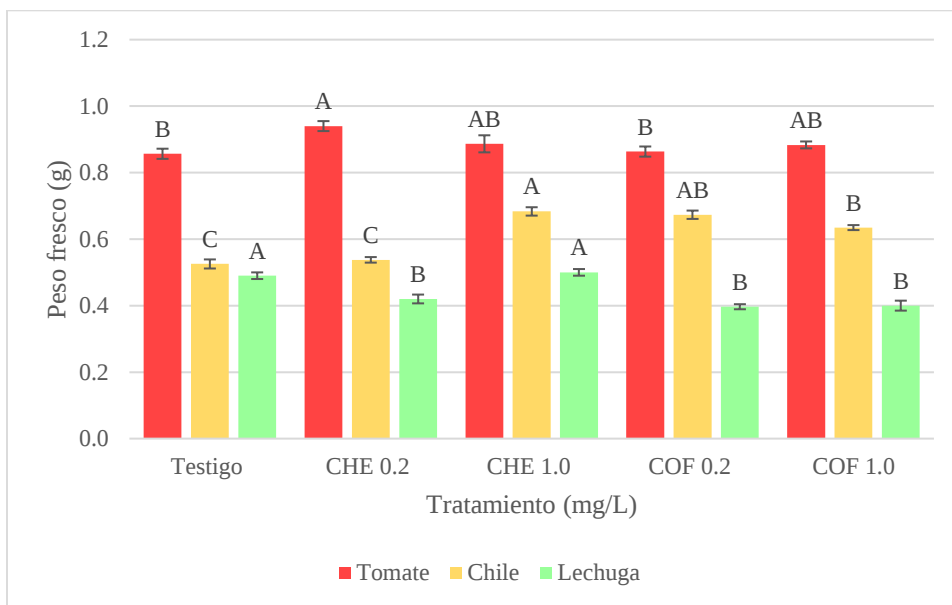


Figura 37. Peso fresco de las plantas con SeNPs (germinación 2).

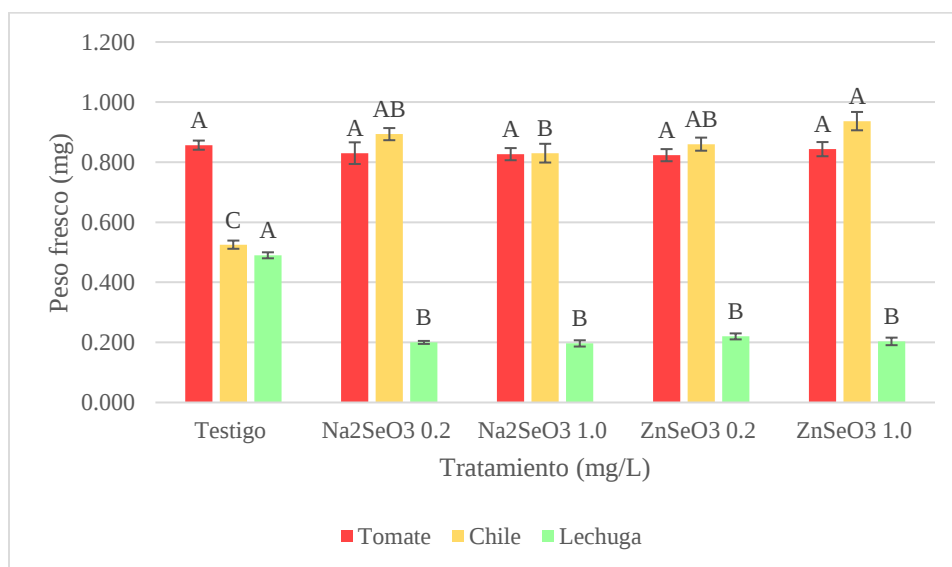


Figura 38. Peso fresco de las plantas con selenitos (germinación 2).

Para el peso fresco, *S. lycopersicum* presentó un mayor peso con una concentración de 0.2 mg/L de SeNPs CHE, y todos los pesos de los tratamientos con SeNPs fueron ligeramente superiores al testigo. Los tratamientos con selenitos resultaron similares al testigo, por lo tanto, no se encontraron diferencias significativas. *C. annuum* presentó un mayor peso con una concentración de 1.0 mg/L de ZnSeO_3 , y todos los tratamientos con selenitos y SeNPs fueron superiores al testigo. Para *L. sativa* se encontró un ligero incremento del peso fresco a una concentración de 1.0 mg/L de SeNPs CHE con respecto al testigo y para el resto de los tratamientos el testigo resultó superior (figuras 37 y 38).

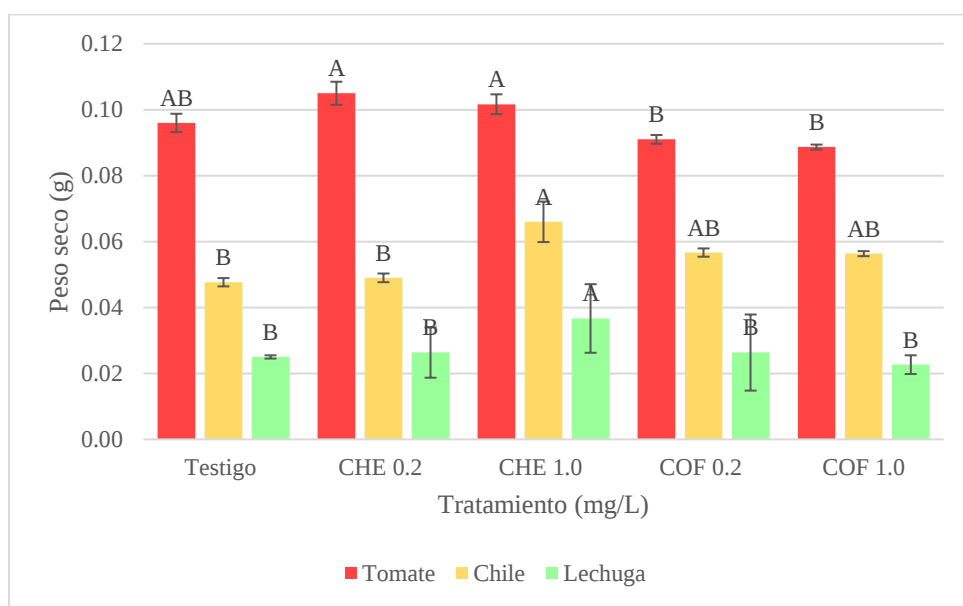


Figura 39. Peso seco de las plantas con SeNPs (germinación 2).

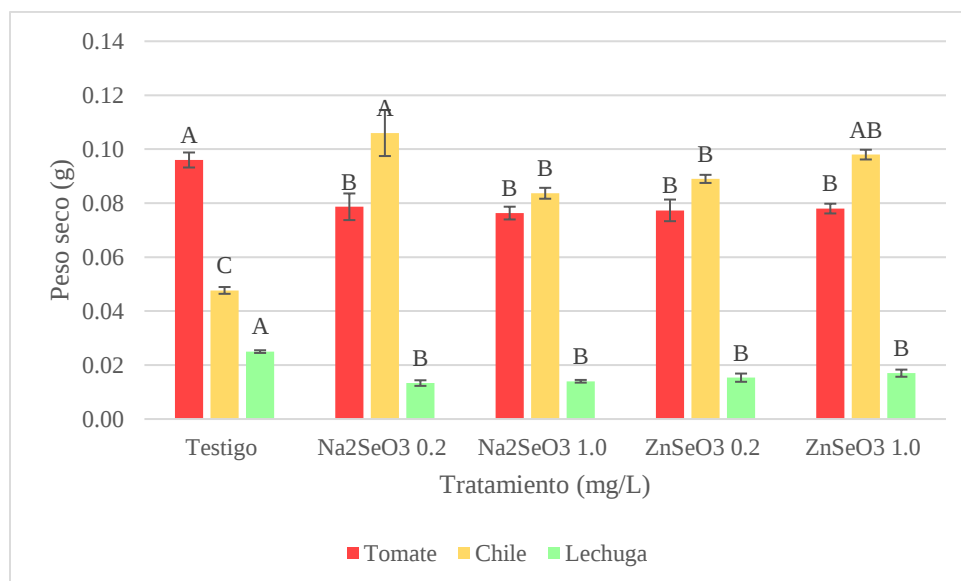


Figura 40. Peso seco de las plantas con selenitos (germinación 2).

En cuanto al peso seco se encontraron ligeras diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para cada especie. Esto posiblemente se debe a que algunas plantas perdieron mayor humedad con respecto a su peso fresco. *S. lycopersicum* registró un mayor peso seco a una concentración de SeNPs CHE 0.2 mg/L con respecto al testigo, no obstante, los pesos secos de los tratamientos con selenitos tuvieron un menor peso seco que el testigo. *C. annuum* registró un mayor peso seco a una concentración de SeNPs CHE 1.0 mg/L con respecto al testigo, y para los tratamientos con selenitos, el peso seco de todos los tratamientos fue notablemente superior al testigo. Para *L. sativa* SeNPs CHE 1.0 mg/L también fue el tratamiento con el mayor peso seco reportado y el resto de los tratamientos con SeNPs fueron similares al testigo. Y para los tratamientos con selenitos, el peso seco se encontró inferior para todas las concentraciones con respecto al testigo (figuras 39 y 40).

Cuantificación de clorofilas totales

La clorofila es un pigmento verde de las plantas que absorbe la energía lumínica y la transforma en energía química, a través de la fotosíntesis, usada para la síntesis de compuestos orgánicos que necesita la planta. Numerosos autores utilizan el método de Arnon (1949) y Davies (1976) para la determinación de clorofilas y carotenoides desde que en 1949 Arnon publicó las primeras fórmulas para el cálculo de clorofilas totales. Se utiliza tejido foliar de la muestra diluido en acetona al 80% [18].

Para la determinación de la concentración de clorofila total se mide la absorción de la muestra a longitudes de onda de 645 y 663 nm utilizando una muestra de acetona al 80% como blanco. El contenido de clorofila total se calcula con la siguiente ecuación [19].

$$\text{Clorofila total (mg g}^{-1}\text{)} = [20.2(A_{645}) - 4.68(A_{663})] \times \frac{V}{1000} \times W$$

Ecuación 1. Clorofila total.

Donde V es el volumen del extracto de cada muestra, W es el peso de la muestra y A_{645} y A_{663} son las absorbancias de la muestra a esas longitudes de onda.

Para el presente experimento, se prepararon 500 mL de una solución de acetona al 80%. En seguida se pesó 0.01 g de tejido foliar seco de las plantas (de cada repetición por tratamiento y por especie) y se colocaron en tubos de plástico con tapa. Después se agregó 1 mL de la solución de acetona a cada tubo y se taparon con papel aluminio para posteriormente dejar en incubación a 4 °C durante 48.



Figura 41. Determinación de clorofilas totales.

Finalmente, se midió la absorbancia del sobrenadante de las muestras a longitudes de onda de 645 y 663 nm, respectivamente. Para ello se utilizó un espectrofotómetro de celdas de la marca Thermo Scientific™ GENESYS 10 uv, USA. En la celda se colocaron aproximadamente 500 µL del sobrenadante de cada muestra, como se observa en la figura

41. Los datos obtenidos fueron el promedio de las 3 repeticiones por tratamiento para cada especie y se denotan en las figuras 42 a la 45.

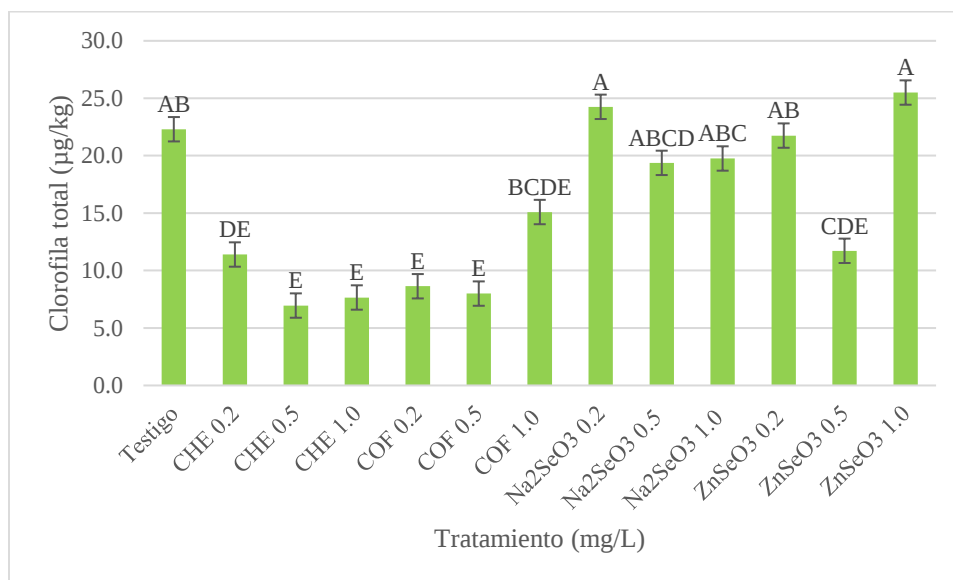


Figura 42. Contenido de clorofila total para tomate (*S. lycopersicum*) de la germinación 1.

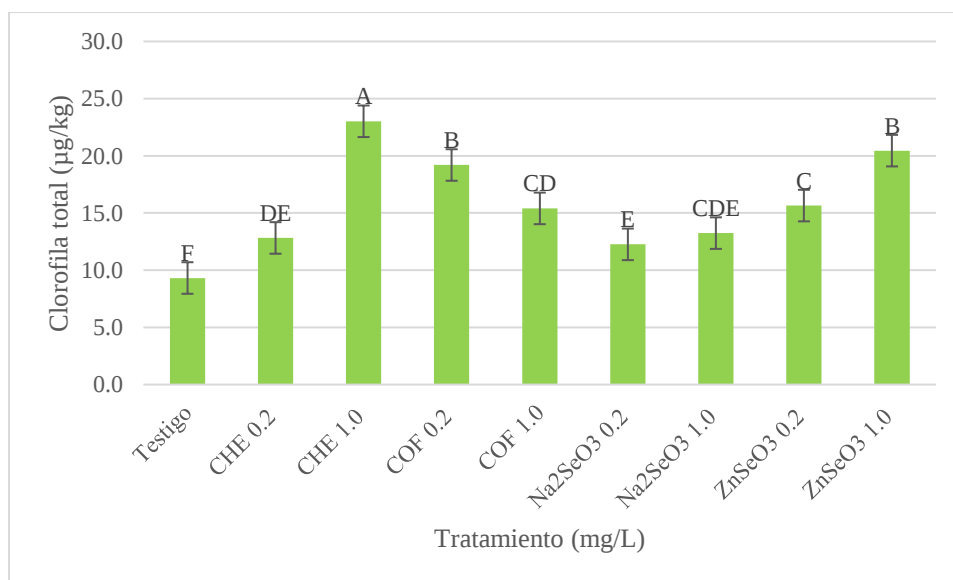


Figura 43. Contenido de clorofila total para tomate (*S. lycopersicum*) de la germinación 2.

Para las plantas de la primera germinación, los resultados arrojaron que el mayor contenido de clorofila total para *S. lycopersicum* se encontró a una concentración 1.0 mg/L de ZnSeO₃. Resulta interesante que para todos los tratamientos con SeNPs el contenido de clorofila fuera

inferior al testigo (figura 42). En cambio, para germinación en medio de cultivo se encontró un contenido de clorofila superior al testigo para todos los tratamientos, denotando la concentración de SeNPs CHE 1.0 mg/L como tratamiento con el mayor contenido de clorofila total (figura 43). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ambos experimentos para esta especie.

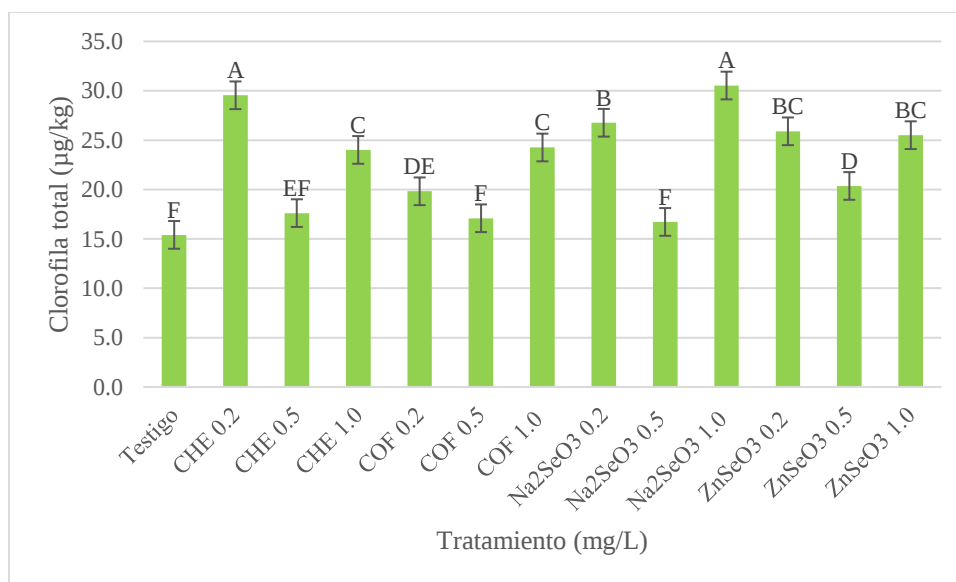


Figura 44. Contenido de clorofila total para chile (*C. annuum*) de la germinación 1.

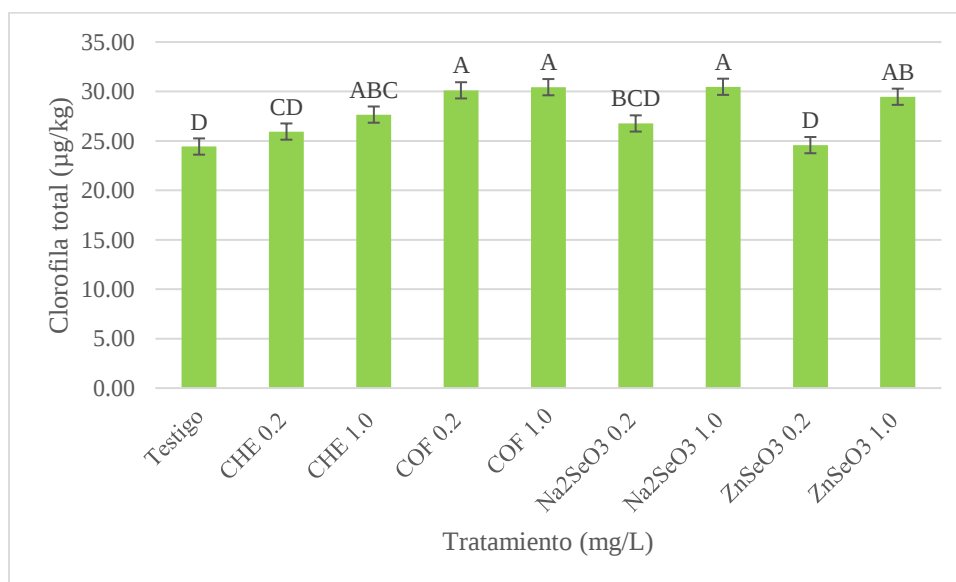


Figura 45. Contenido de clorofila total para chile (*C. annuum*) de la germinación 2.

Para las plantas de la primera germinación de *C. annuum* se encontró el mayor contenido de clorofila a una concentración 1.0 mg/L de Na_2SeO_3 . No obstante, todos los tratamientos restantes presentaron un contenido de clorofila superior al del testigo (figura 44). En la germinación en medio de cultivo se encontraron tres concentraciones resaltantes con el mayor contenido de clorofila. Estos fueron ambas concentraciones de SeNPs COF (0.2 y 1.0 mg/L) y Na_2SeO_3 1.0 mg/L, como se observa en la figura 45. Con excepción del tratamiento de ZnSeO_3 0.2 mg/L, todos los tratamientos presentaron un mayor contenido de clorofila total con respecto al testigo. Al igual que en la especie anterior, se denotan diferencias estadísticamente significativas en ambos experimentos para esta especie. No obstante, el experimento de clorofilas no se pudo efectuar para la especie de lechuga (*L. sativa*) puesto que se presentó contaminación por hongos y bacterias (figura 46) lo cual impidió que se tomaran las plantas para preparar las muestras. Por cuestiones de tiempo, no fue posible realizar una réplica del experimento y por ello no se reportan datos para esta especie.



Figura 46. Experimentos de lechuga (*L. sativa*) contaminados.

1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

Los resultados obtenidos para la caracterización de nanopartículas arrojan que las SeNPs COF cumplen con el rango dimensional de 1-100 nm ya que en promedio miden 87.7 (figura 2). En cambio, las SeNPs CHE rebasan el rango puesto que miden en promedio 161.4 nm (figura 1). No obstante, las SeNPs CHE pueden considerarse aún nanopartículas ya que no

poseen una morfología específica, y según un estudio [20], una nanopartícula se considera como tal si al menos una de sus dimensiones se encuentra en el rango de 1-100 nm.

Existen diversas morfologías de nanopartículas, tales como nanotubos, nanobarras, nanofibras, y nanoesferas, entre otras [20]. Por ende, se necesitaría realizar una caracterización más puntual de las SeNPs CHE en equipos más sofisticados para determinar su morfología real. Además, el tamaño promedio obtenido con la caracterización en Zetasizer posiblemente pudo deberse a una aglomeración de las partículas.

Los resultados muestran que el porcentaje de germinación es independiente de los procesos de biofortificación a las semillas (figuras 6-7 y 25-26), puesto que los cambios significativos se observan hasta obtener las plántulas. La biofortificación con Se a las semillas de hortalizas estudiada en el presente PAP puede contribuir a resolver la problemática planteada inicialmente: el contenido de Se en las plantas es completamente dependiente de la riqueza de Se del suelo, no obstante, las fuentes de Se que enriquecen el suelo son muy limitadas. Como se observa en las figuras 8 a la 13, la adición de Se en la germinación resulta en plantas con características fisiológicas singulares. No obstante, cuando el Se actúa en conjunto con otros nutrientes, como en el medio de cultivo MS, las plantas presentan características totalmente diferentes en comparación cuando se aplica solo (figuras 27 a la 32).

Como se observa en las figuras 15 y 26, para *C. annuum* los mayores porcentajes de germinación se encuentran con ZnSeO_3 y Na_2SeO_3 , lo cual concuerda con lo reportado por [21] donde se encontró que el Se, en forma de selenito o de selenato, incrementa el porcentaje de germinación de chile serrano (*C. annuum*).

Se determinó que el Se en forma de NPs y como selenito brinda funciones bioestimulantes a las plantas. Esto se ve reflejado en las características fisiológicas de las plantas como un alargamiento del tallo o en el incremento del sistema radicular y el aumento en el número de hojas, lo cual concuerda con los efectos benéficos del Se reportados en un estudio [22], entre los que se encuentran: mayor altura de planta, aumento en la longitud de la raíz y más acumulación de biomasa fresca y seca. Con la aplicación de Se en plántulas de tomate y

pimiento se ha encontrado un mejor crecimiento de la raíz, mayor volumen radical y área foliar, así como mayor contenido de compuestos fenólicos. Además, se puede concluir que dichas características proporcionan a las plantas la capacidad de producir un mayor contenido de clorofilas lo que hace más eficiente el proceso de fotosíntesis, permitiendo a las plantas obtener energía y los nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo (figuras 42-45).

Implementar las SeNPs como bioestimulante puede contribuir a la solución de una de las problemáticas a las que se enfrenta la agricultura actual; el uso de fertilizantes químicos convencionales. Según lo reportado por [2], las SeNPs pueden ser aplicarse durante todo el ciclo del cultivo, utilizando técnicas como la aspersión foliar o mediante la aplicación directa en la raíz, aunque el efecto puede variar, puesto que depende totalmente de la concentración en la que se encuentren, la forma de aplicación, especie y etapa de crecimiento de la planta. Para las hortalizas, el uso de SeNPs se vería reflejado en el mejoramiento de la calidad del fruto, así como en el aumento de la tolerancia a distintos factores de estrés.

Otro estudio [6], reporta el potencial de las SeNPs como agente con actividad antimicrobiana para el control de fitopatógenos, lo cual concuerda con lo experimentado en este PAP. Ningún experimento biofortificado con SeNPs presentó microorganismos contaminantes, con excepción de *L. sativa* en la germinación 2 donde todos los experimentos se contaminaron posiblemente por el tratamiento de desinfestación practicado a las semillas.

Es relevante revisar los protocolos de desinfección de las semillas a utilizar, puesto que no todas las especies son susceptibles al mismo tratamiento. La mayoría las hortalizas siguen la germinación epigea, es decir, el cotiledón se desarrolla por encima del suelo, y la parte aérea de la planta crece hacia arriba. Por ello, es necesario cuidar el tratamiento que se le da a las semillas para no ocasionar daños al embrión que puedan limitar la germinación [15].

Uno de los resultados más interesantes encontrados fue la pigmentación de los tallos de las plantas, específicamente de *S. lycopersicum* en la germinación en medio de cultivo, como se observa en la figura 22. Se realizó una indagación exhaustiva en la literatura y no se obtuvo

información concreta acerca de este fenómeno. Solamente se encontró que la pigmentación por selenio en plantas se ha atribuido a la formación de selenoproteínas no específicas [23].

Así mismo se encontró que *S. lycopersicum* fue la especie con mayor respuesta a cambios por la adición de fuentes de Se, lo cual se ve reflejado en los parámetros evaluados en este PAP. En cambio, *L. sativa* se consideró la especie con menos efectos presentados por la adición de Se. *C. annuum* mostró más cambios en el ensayo 2 (en medio de cultivo) que en el ensayo 1, posiblemente debido a la complementación de nutrientes que el medio MS ofrece a las plantas, puesto que cada especie tiene requerimientos específicos para su desarrollo. Para ambas fuentes de Se (SeNPs y selenitos), la concentración que menos cambios fenotípicos presentó en las especies, de acuerdo con los experimentos, fue de 0.5 mg/L. Por ende, esta concentración fue descartada para el ensayo de germinación 2.

Los parámetros evaluados en las plantas permiten concluir que las fuentes de Se que brindaron mejores resultados fueron las SeNPs COF y el selenito de zinc (ZnSeO_3). Por lo tanto, sería conveniente realizar más evaluaciones de estas fuentes de Se para poder establecer un límite permisible o una concentración adecuada, ya que en ningún experimento se encontraron índices de fitotoxicidad.

Se sugiere para una segunda etapa donde se dé continuación al proyecto para evaluar la viabilidad de las plantas después de la germinación, es decir, buscar la adaptación de las plantas en etapa de invernadero y hasta llegar al cultivo en suelo directo. Esto se puede lograr trasplantando las plantas a sustratos suplementados de igual forma con las fuentes de Se probadas. También se sugiere hacer pruebas y análisis para determinar qué ocasionó la pigmentación de los tallos de algunas de las plantas. Finalmente, se recomienda probar más concentraciones de las fuentes de Se para lograr estandarizar una metodología teniendo como referencia el proceso de hormesis (estimulación en dosis bajas inhibición para dosis altas).

1.7. Bibliografía y otros recursos

- [1] J. C. López-Velázquez, D. E. Navarro-López, J. A. Qui-Zapata, J. M. León-Morales, D. I. Saavedra-Loera & S. García-Morales. Efecto del selenito e inulina en la interacción *Capsicum annuum* L.-*Phytophthora capsici* en invernadero. *Biotechnología Vegetal*, 19(1), 25-34. Mar. 2019.
- [2] A. López-Gervacio, J. A. Hernández-Díaz, J. A. Qui-Zapata, I. C. Barrera-Martínez, M. I. Montero-Corte & S. García-Morales. Nanopartículas de Selenio para la agricultura sostenible. *Crónica MX*. Sep. 2023.
- [3] J. A. Hernández-Díaz. Actividad antimicrobiana de nanopartículas de selenio producidas mediante síntesis verde utilizando extractos de *Calendula officinalis* L. CIATEJ Campus Zapopan, Jalisco. Dic. 2021.
- [4] N. Prasad, A. Bhattacharyya & Q. D. Nguyen. Nanotechnology in sustainable agriculture: Recent developments, challenges, and perspectives. *Front. Microbiol.* 8, 1–13. 2017.
- [5] M. V. Deshpande. Nanobiopesticide perspectives for protection and nutrition of plants. In *NanoBiopesticides Today and Future Perspectives*. 2019.
- [6] J. J. Garza-García. Síntesis verde de nanopartículas de selenio con actividad antimicrobiana para el control de fitopatógenos y su efecto en ornamentales. CIATEJ Campus Zapopan, Jalisco. Dic. 2021.
- [7] CIATEJ. *Biotechnología Vegetal*. 2023. Recuperado de: <https://www.ciatej.mx/investigacion/biotechnologia-vegetal>
- [8] J. J. Garza-García, J. A. Hernández-Díaz, J. M. León-Morales, G. Velázquez-Juárez, A. Zamudio-Ojeda, J. Arratia-Quijada & S. García-Morales. Selenium nanoparticles based on *Amphipterygium glaucum* extract with antibacterial, antioxidant, and plant biostimulant properties. *Journal of Nanobiotechnology*, 21(1), pp. 1-19, 2023.
- [9] A. A. Nagdalian, A. V. Blinov, S. A. Siddiqui, A. A. Gvozdenko, A. B. Golik, D. G. Maglakelidze & M. A. Shah. Effect of selenium nanoparticles on biological and

morphofunctional parameters of barley seeds (*Hordéum vulgäre* L.). Scientific Reports, 13(1), pp. 6453, 2023.

[10] L. Li, S. Wu, S. Wang, X. Shi, S. Cheng & H. Cheng. Molecular Mechanism of Exogenous Selenium Affecting the Nutritional Quality, Species and Content of Organic Selenium in Mustard. Agronomy, 13(5), pp. 1425, May. 2023.

[11] A. M. Garduño-Zepeda & C. Márquez-Quiroz. Aplicación de selenio en cultivos agrícolas. Información Técnica Económica Agraria, 114(4), 327-343. 2018.

[12] L. Cao, J. Zhu, & N. Li. Selenium-agarose hybrid hydrogel as a recyclable natural substrate for selenium-enriched cultivation of mung bean sprouts. International Journal of Biological Macromolecules, pp. 194, 17-23, Nov. 2022.

[13] A. S. Macias-Sandoval. Efecto de las nanopartículas de selenio en las plantas, CIATEJ, Campus Zapopan, Jalisco. Ene. 2022.

[14] M. C. Alava-Vargas. Evaluación de diferentes frecuencias de onda lumínica en la germinación de hortalizas en un sistema controlado. 2015.

[15] J. S. Olarte-Urbe & G. Bermúdez-Mejía. Sistema de germinación bajo ambientes controlados de cultivos de hortalizas. 2022.

[16] W. Zurita-Valencia, J. E. Gómez-Cruz, E. Atrián-Mendoza, A. Hernández-García, M. E. Granados-García, J. J. García-Magaña & N. M. Sánchez-Vargas. Establecimiento de un método eficiente de germinación in vitro y micropropagación del cirimo (*Tilia mexicana* Schlecht.) (Tiliaceae). Polibotánica, (38), 129-144. 2014.

[17] O. Flores-Castaños, J. F. Cuéllar-Zometa, M. E. Montes de Godoy, M. R. Gámez-Pastrana, M. T. González-Arno, M. Guevara-Valencia & N. Aguilar-Rivera. Germinación in vitro de semillas de *Vanilla planifolia* Jacks y comparación de métodos de micropropagación. Avances en Investigación Agropecuaria, 21(2). 2017.

[18] F. L. Ruiz-Santiago, J. A. Ruiz-Velázquez, J. A. Hernández-Becerra, R. García-Jiménez & A. Valadez-Villarreal. Extracción y cuantificación de clorofila en hojas

comestibles del estado de Tabasco. Revista Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 4, 944-949. 2019.

[19] W. D. Saldaña-Sánchez, J. M. León-Morales, Y. López-Bibiano, M. Hernández-Hernández, E. C. Langarica-Velázquez & S. García-Morales. Effect of V, Se, and Ce on growth, photosynthetic pigments, and total phenol content of tomato and pepper seedlings. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 19, 678-688. 2019.

[20] M. Gómez-Garzón. Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. Revista Repertorio de Medicina y Cirugía, 27(2). 2018.

[21] J. M. León-Morales, W. Panamá-Raymundo, E. C. Langarica-Velázquez & S. García-Morales. Selenio y vanadio en la germinación y el crecimiento de plántulas de chile (*Capsicum annuum* L.) y rábano (*Raphanus sativus*). Revista Bio Ciencias, 6, 14-pág. 2019.

[22] R. G. Castillo-Godina, R. G. Expresión génica diferencial y antioxidantes en la planta de tomate (*Solanum lycopersicon* L. Mill) enriquecida con selenio (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León). 2015.

[23] M. E. Azpilcueta-Pérez. Biofortificación, bioacumulación e interacción del selenio en la planta frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) ariedad pinto Saltillo. Universidad Autónoma Chapingo. 2021.

1.8. Anexos generales

2. Productos

Se utilizó la información obtenida en el presente PAP para redactar un artículo científico que muestra los efectos del selenio brindados a las hortalizas cuando se aplica desde la germinación de las semillas. Además, se pretende que este estudio se complemente con otros también realizados en el CIATEJ bajo la misma línea de investigación. Dicha información se incluyó en el primer borrador del manuscrito que se redactó según los lineamientos para autores de la revista *Mexican Journal of Biotechnology*.

Nombre y código del PAP	4G03 PROGRAMA DE APOYO A CENTROS DE INVESTIGACIÓN EXTERNOS I
Nombre del proyecto	Estudio <i>in vitro</i> del efecto de diferentes fuentes de selenio en la germinación de hortalizas
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es)	Artículo científico Es un documento en el que se explican los efectos del selenio en forma de nanopartículas y como selenito en la germinación de hortalizas tales como tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) chile (<i>Capsicum annuum</i>) y lechuga (<i>Latuca sativa</i>). El documento describe los experimentos realizados y los resultados obtenidos como el porcentaje de germinación, y las características fisiológicas de las plantas de dichas especies y está realizado con el fin de ser publicado en el Mexican Journal of Biotechnology.
Autores	Leví Alberto González López

***In vitro* study of the effect of different selenium sources on vegetable germination**

Estudio *in vitro* del efecto de diferentes fuentes de selenio en la germinación de hortalizas

Leví Alberto González-López¹ & Soledad García-Morales², *

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Camino arenero 1227, El Bajío, Zapopan, Jalisco, C. P. 45019, México.

*Corresponding autor

E-mail address: smorales@ciatej.mx (S. García-Morales)

ABSTRACT

In the present work, the problem of using conventional chemical fertilizers to increase food production, along with the limiting sources of selenium that enrich crops, was addressed. The main objective is to evaluate the effect of different sources of selenium in several species of vegetable plants during their germination. The specific objectives consist of establishing a protocol for the application of distinct sources of selenium in tomato plants (*Solanum lycopersicum*), chili (*Capsicum annuum*), and lettuce (*Latuca sativa*) to determine the best selenium source based on the obtained results. Two germination experiments were executed utilizing different concentrations (0.2, 0.5 y 1.0 mg/L) of SeNPs CHE, COF, and Na₂SeO₃,

and ZnSeO₃ in aqueous solutions, or adding them to the Murashige and Skoog media. Plant growth parameters were evaluated. It was found that selenium provided biostimulation to the plants, which was reflected in stem growth, root elongation, increase in fresh weight, and a higher chlorophyll content determined through quantification. It is concluded that the best sources of selenium were the SeNPs COF (1.0 mg/L) and ZnSeO₃ (0.2 mg/L). *S. lycopersicum* showed the best response to the addition of selenium.

Keywords: Selenium, germination, biostimulant.

RESUMEN

En el presente trabajo, se abordó la problemática del uso de fertilizantes químicos convencionales para aumentar la producción alimentaria, así como las limitantes fuentes de selenio que enriquecen a los cultivos. El principal objetivo es evaluar el efecto de diferentes fuentes de selenio en especies vegetales de hortalizas durante su germinación. Se plantearon como objetivos específicos establecer un protocolo para la aplicación de fuentes de selenio en especies de tomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum annuum*) y lechuga (*Lactuca sativa*) y determinar la mejor fuente de selenio utilizada con base en los resultados obtenidos. Se realizaron dos experimentos de germinación utilizando diversas fuentes de selenio en tres concentraciones: 0.2, 0.5 y 1.0 mg/L, siendo estas las nanopartículas CHE, COF y selenitos como Na₂SeO₃ y ZnSeO₃, en solución acuosa, o adicionadas al medio de cultivo Murashige y Skoog. Se evaluaron los parámetros de crecimiento de las plantas y se encontró que el selenio brindó funciones bioestimulantes a las plantas, lo cual se vio reflejado en el crecimiento del tallo, alargamiento de las raíces, aumento del peso fresco y un mayor contenido de clorofilas determinado mediante una cuantificación. Se concluyó que las mejores fuentes de selenio fueron las SeNPs COF y el ZnSeO₃ a concentraciones de 1.0 y 0.2 mg/L, respectivamente. Finalmente, se enfatiza que la especie con mejor respuesta a cambios por la adición de selenio fue *S. lycopersicum*.

Palabras clave: Selenio, nanopartículas, selenito, hortalizas.

1. INTRODUCCIÓN

Debido al inminente crecimiento de la población mundial, se ha buscado la manera de acelerar la producción de alimentos para cumplir con la demanda alimenticia. La utilización de fertilizantes de origen químico basados comúnmente en compuestos como nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), entre otros productos como el glifosato, ha tomado un papel relevante para aumentar la productividad y el rendimiento de los cultivos (López *et al.*, 2023).

Actualmente la producción agrícola ha incrementado su demanda en cuestión de insumos que se enfoquen en la mejora de la producción de cultivos, brindar una mejor salud a las plantas y prolongar la vida postcosecha de los productos. También se ha buscado aumentar el valor agregado de los alimentos vegetales en el

mercado, ya sea potenciando sus propiedades nutricionales o mejorando sus características organolépticas (Garza *et al.*, 2023).

La germinación es el proceso a través del cual un embrión se desarrolla hasta convertirse en una planta. El proceso se desarrolla de manera gradual cuando el embrión se encuentra en condiciones adecuadas, como lo son la presencia de agua, oxígeno, luz y nutrientes. La germinación puede ser inmediata después de la dispersión de las semillas o puede pasar por un período de letargo más variado, que depende de las condiciones ambientales a las que se sometan las semillas (Alava, 2015).

La biofortificación agronómica y genética de los cultivos agrícolas con selenio representa una potencial estrategia para mejorar su producción y elevar la calidad nutricional de los productos agrícolas. Dicha técnica consiste en la aplicación del elemento químico de interés, como el selenio (Se), a las plantas cultivadas, ya sea vía foliar, por impregnación o directamente en la raíz, durante el ciclo de cultivo (Garduño & Márquez, 2018).

Hoy en día la agricultura hace uso de un gran número de nanomateriales, específicamente enfocados a la generación de fertilizantes, bioestimulantes o pesticidas biológicos, estos últimos para emplearlos en el combate contra fitopatógenos. Gracias a la generación de este tipo de tecnologías, se pretende que en un futuro se creen opciones viables y ecológicas como alternativas al uso de productos de origen químico (Deshpande, 2019). El selenio (Se), es un análogo químico del azufre, lo cual se reconoce como un micronutriente esencial. Estudios han demostrado que el Se es un componente importante de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), puesto que desempeña un papel relevante en la protección de la estructura de la membrana celular y en la reducción del estrés oxidativo, lo cual lo convierte en una sustancia clave esencial en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Li *et al.*, 2023).

La adición exógena del Se activa los mecanismos antioxidantes y reduce los procesos de senescencia. Además, se emplea la adición de Se en los germinados para incrementar el contenido de compuestos bioactivos en las plantas. El contenido de Se en las plantas es completamente dependiente de la riqueza de Se del suelo, no obstante, las fuentes de selenio que enriquecen el suelo son muy limitadas. También, la distribución de selenio en suelos naturales no es adecuadamente uniforme, lo que provoca problemas como un bajo contenido de Se y un enriquecimiento desigual de este elemento en los cultivos (Li *et al.*, 2023).

Debido a los efectos benéficos que el selenio proporciona a las plantas, se plantearon dos experimentos con el propósito de germinar semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum annuum*) y lechuga (*Latuca sativa*) utilizando selenio en forma de nanopartículas (SeNPs) y como selenito (Na_2SeO_3 y ZnSeO_3).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Caracterización de las SeNPs

Se utilizaron dos tipos de SeNPs: CHE (extracto de *Amphipterygium glaucum*) y COF (extracto de *Calendula officinalis*) provenientes de una síntesis verde. Para realizar la caracterización se utilizó la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS), utilizando un Zetasizer Nano series (Malvern). Esta técnica permite obtener el tamaño de las partículas en el rango de 0.1 nanómetros (nm) hasta 1 o 2 micrómetros (µm). Las muestras de nanopartículas se diluyeron 1:400 (v/v) con agua destilada, se colocaron aproximadamente 2 mL en una celda de plástico para cada muestra y se midieron en el Zetasizer. La distribución de tamaño fue evaluada por el software Zetasizer utilizando el índice de polidispersidad (Pdl).

2.2 Germinación *in vitro* ensayo 1

Para realizar la germinación de las semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum annuum*) y lechuga (*Latuca sativa*), se prepararon 12 soluciones de Se en total (6 de SeNPs y 6 de selenitos). De acuerdo con la experimentación diseñada, se estableció que se evaluarían tres diferentes concentraciones de las distintas fuentes de Se, las cuales fueron: 0.2 mg/L, 0.5 mg/L y 1.0 mg/L como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Soluciones de selenio (Se) preparadas.

Soluciones de Se	Concentración
SeNPs CHE	0.2 mg/L
SeNPs CHE	0.5 mg/L
SeNPs CHE	1.0 mg/L
SeNPs COF	0.2 mg/L
SeNPs COF	0.5 mg/L
SeNPs COF	1.0 mg/L
Na ₂ SeO ₃	0.2 mg/L
Na ₂ SeO ₃	0.5 mg/L
Na ₂ SeO ₃	1.0 mg/L
ZnSeO ₃	0.2 mg/L
ZnSeO ₃	0.5 mg/L
ZnSeO ₃	1.0 mg/L

Para este primer ensayo de germinación *in vitro* se utilizaron recipientes de plástico como contenedor, donde se colocó, a manera de soporte, papel filtro impregnado con 10 mL de cada una de las soluciones de Se, según el tratamiento correspondiente. Posteriormente, dentro de campana de flujo laminar y con ayuda de pinzas estériles, se colocaron en los respectivos recipientes de plástico, 50 semillas de cada una de las siguientes hortalizas: tomate (*S. lycopersicum*) de la marca FAX, chile (*C. annuum*) y lechuga (*L. sativa*) estas dos últimas de la marca ITSCO. Los recipientes se taparon herméticamente y enseguida, se dejaron en incubación a 25 °C durante 21 días. También se agregó un tratamiento testigo (0

mg/L de Se) para comparar el comportamiento del experimento sin adición de fuentes exógenas de este elemento. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

2.3 Germinación *in vitro* ensayo 2

Para el segundo ensayo de germinación *in vitro*, se evaluó la germinación de las semillas en medio de cultivo MS (Murashige y Skoog 1962) adicionado con las soluciones de Se. De acuerdo con el análisis de la germinación del ensayo 1, las concentraciones con mejores resultados fueron de 0.2 y 1.0 mg/L de Se, y se seleccionaron tomando en cuenta parámetros como el porcentaje de germinación, longitud de tallo y raíces, y el peso fresco de las plantas. Se descartó la concentración de 0.5 mg/L de Se puesto que en la mayoría de los experimentos esta concentración no mostró características significativas.

Para ello, se preparó medio basal MS, el cual fue adicionado con las soluciones de Se para cada tratamiento. Se preparó 1 L de medio para cada experimento, es decir, 3 L en total puesto que se evaluó el experimento con semillas de tomate, chile o lechuga. En la tabla 2 se especifican los componentes y la cantidad requerida para la preparación del medio basal MS (considerando que serían posteriormente diluidos al aforar a 1 L).

Tabla 2. Componentes del medio de cultivo MS para el experimento.

Soluciones stock	Para aforar a 1 L
Macronutrientes	10 mL
Micronutrientes	5 mL
CaCl ₂ ·2H ₂ O	22 mL
Fe·EDTA	10 mL
Sacarosa	10 g

Los componentes se vertieron uno a uno en un vaso de precipitados de 2 L junto con 500 mL de agua destilada, esto sobre una placa de agitación a 300 rpm para facilitar la disolución de los componentes y posteriormente se aforó a 1. Una vez disueltos todos los componentes, con ayuda de un potenciómetro se ajustó el pH del medio a 5.8 (± 0.2). Enseguida se dividió el medio en matraces Erlenmeyer de 125 mL para adicionarlo con las fuentes de Se de manera correspondiente a cada tratamiento.

Se agregaron 100 mL de medio basal en cada matraz y posteriormente las soluciones de Se (SeNPs y selenitos) a concentraciones 0.2 y 1.0 mg/L. Cabe resaltar que los tratamientos con selenitos se agregaron a los medios antes de esterilizarlos, sin embargo, las SeNPs se adicionaron una vez esterilizado el medio y dentro de la campana de flujo laminar. Este último punto se realizó de esa manera puesto que se desconoce si la esterilización puede afectar a las SeNPs.

Una vez adicionados los medios con Se, se agregaron 6 g/L de agar a cada uno de los matraces, es decir, 0.6 g de agar por cada 100 mL de medio y se disolvió con ayuda de microondas. Ya disuelto el agar, se vertieron 30 mL de cada uno de los medios en frascos de vidrio, para posteriormente esterilizar en autoclave y después dejar gelificar. En total, se hicieron 3 repeticiones para cada uno de los tratamientos.

Para esta parte del experimento, las semillas utilizadas pasaron por un proceso de desinfección, el cual consistió primero en lavar las semillas en una solución de detergente comercial durante 5 minutos. Posteriormente, dentro de la campana de flujo laminar, se realizaron enjuagues con agua destilada estéril para retirar el excedente de jabón. En seguida se traspasaron las semillas a una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 10 minutos y, una vez más, se realizaron 3 enjuagues con agua destilada para eliminar el exceso de cloro. Finalmente, las semillas se sumergieron en una solución de etanol al 70% durante 1 minuto y con agitación constante, después se enjuagaron de nuevo con agua destilada estéril y se dejaron secar sobre papel absorbente estéril.

Con ayuda de pinzas estériles y previamente flameadas para garantizar la esterilidad, se colocaron 10 semillas de tomate (*S. lycopersicum*), chile (*C. annuum*) o lechuga (*L. sativa*), respectivamente, en cada frasco. Cada tratamiento se realizó por triplicado; después, los frascos se dejaron en incubación a 25 °C durante 14 días. También se agregó un tratamiento testigo (0 mg/L de Se) para comparar el comportamiento de la germinación sin adición de fuentes exógenas de este elemento.

2.4 Cuantificación de clorofila total

Para este experimento, siguiendo el método de Arnon (1949) y Davies (1976), se prepararon 500 mL de una solución de acetona al 80%. En seguida se pesó 0.01 g de tejido foliar seco de las plantas (de cada experimento, de cada repetición por tratamiento y por especie) y se colocaron en tubos de plástico con tapa. Después se agregó 1 mL de la solución de acetona a cada tubo y se taparon con papel aluminio para posteriormente dejar en incubación a 4 °C durante 48.

Finalmente se midió la absorbancia del sobrenadante de las muestras a longitudes de onda de 645 y 663 nm respectivamente. Para ello se utilizó un espectrofotómetro de celdas de la marca Thermo Scientific™ GENESYS 10 uv. En la celda se colocaron aproximadamente 500 µL del sobrenadante de cada muestra para medir las absorbancias.

2.5 Análisis estadístico

Se trabajó con 3 repeticiones por tratamiento para las 3 especies y en cada experimento. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y se comprobó la homogeneidad de varianzas mediante una prueba de Duncan. Se utilizó un valor de P de 0.05 y un nivel de confianza de 95%. Todos los análisis se realizaron utilizando el programa STATGRAPHICS Versión 18.2.06.

3. RESULTADOS

3.1 Tamaño de nanopartículas

El tamaño promedio de las SeNPs CHE resultó de 161.4 nm; mientras que, las SeNPs COF fue de 87.70 nm como se denota en en las figuras 1 y 2.

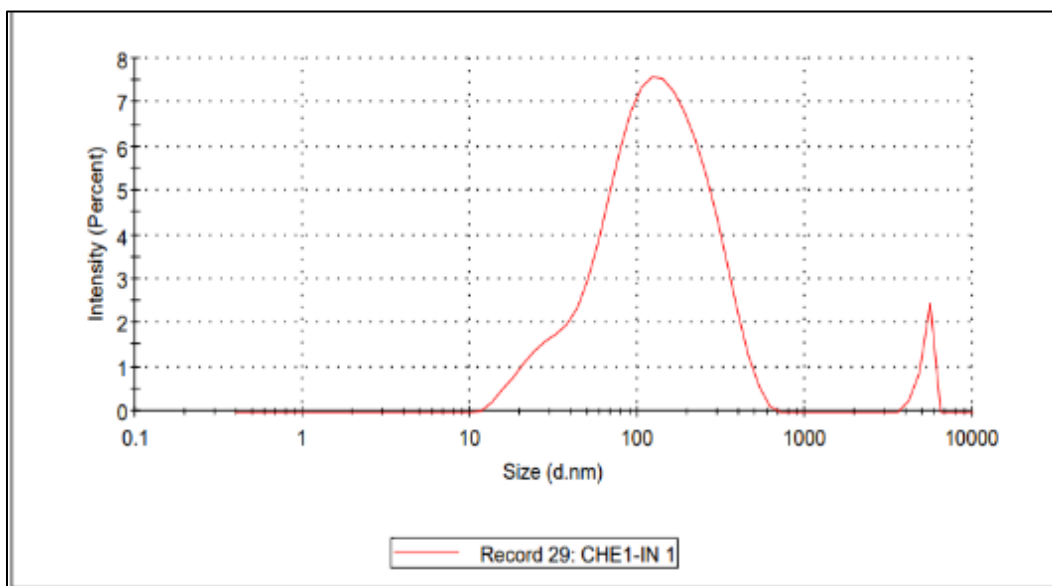


Figura 1. Tamaño de partícula de las SeNPs CHE.

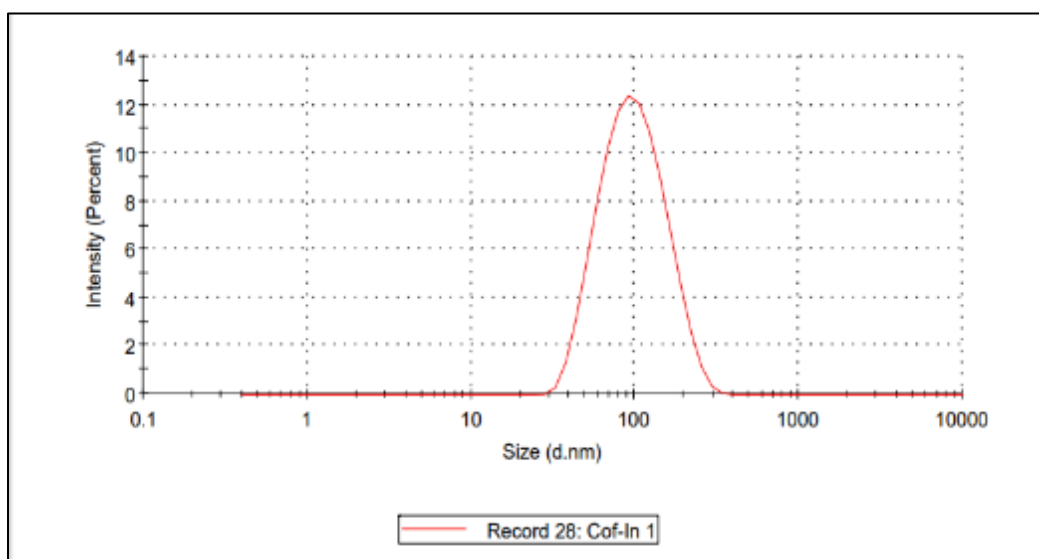


Figura 2. Tamaño de partícula de las SeNPs COF.

3.2 Porcentaje de germinación

Como primer parámetro se evaluó el porcentaje de germinación de las semillas colocadas en los diferentes tratamientos para cada experimento. Esto se hizo con el objetivo de identificar los mejores tratamientos para el segundo ensayo de germinación. Los datos obtenidos son el promedio de las tres repeticiones de cada tratamiento y se muestran a continuación en las siguientes figuras.

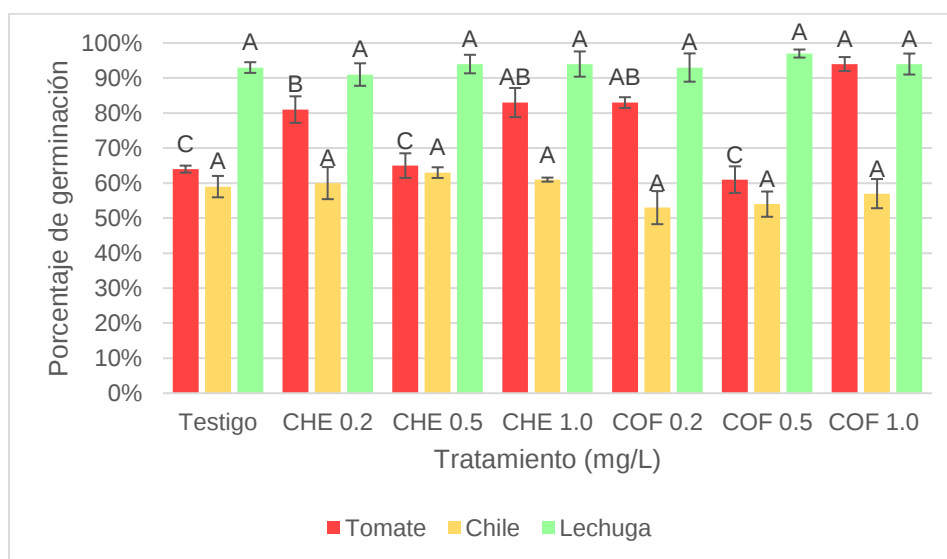


Figura 3. Gráfica del porcentaje de germinación de hortalizas con SeNPs (germinación 1).

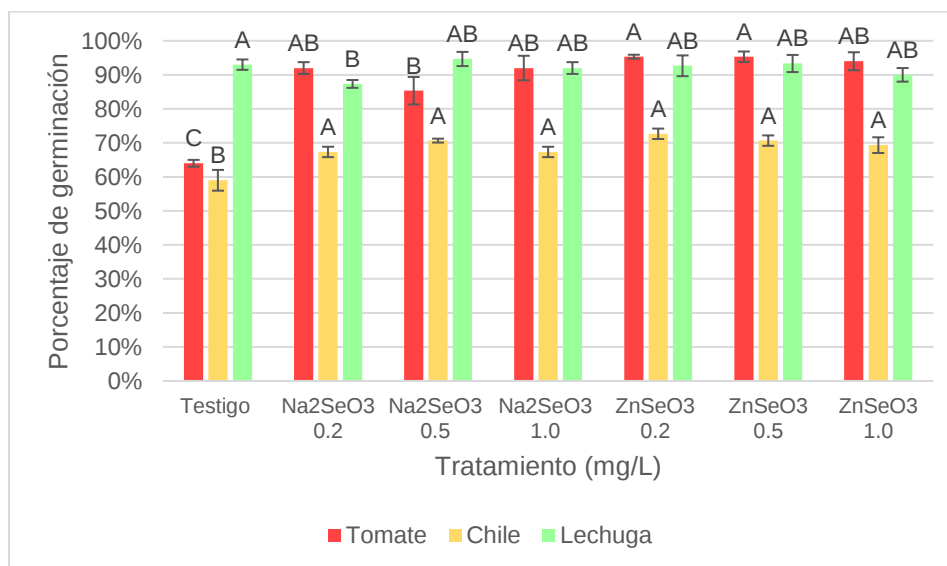


Figura 4. Gráfica del porcentaje de germinación de hortalizas con selenitos (germinación 1).

Para el ensayo de germinación 1, se encontraron porcentajes de germinación arriba del 50% para todos los tratamientos, incluido el testigo tal como se observa en las figuras 3 y 4. Se realizaron análisis de varianza utilizando el método de Duncan

(95%) para cada tratamiento por especie, y con ello se encontraron los grupos homogéneos denotados. Para *S. lycopersicum* se encontró que las SeNPs COF a una concentración de 1.0 mg/L tuvo el mayor porcentaje de germinación. Con los selenitos, ZnSeO_3 a concentración de 0.2 y 0.5 mg/L obtuvo el porcentaje de germinación máximo con respecto al testigo. Esto indica que si se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos. Cabe resaltar que todos los tratamientos de SeNPs y selenitos obtuvieron porcentajes de germinación superiores al testigo.

Para *C. annuum* no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con SeNPs y con selenito. Para *L. sativa* en los tratamientos con SeNPs tampoco se denotan diferencias estadísticamente significativas (figura 3 y 4). Sin embargo, en los tratamientos con selenitos se denotan pequeñas diferencias, encontrando que el testigo presentó un mayor porcentaje de germinación en comparación con los tratamientos tal como muestra en la figura 4.

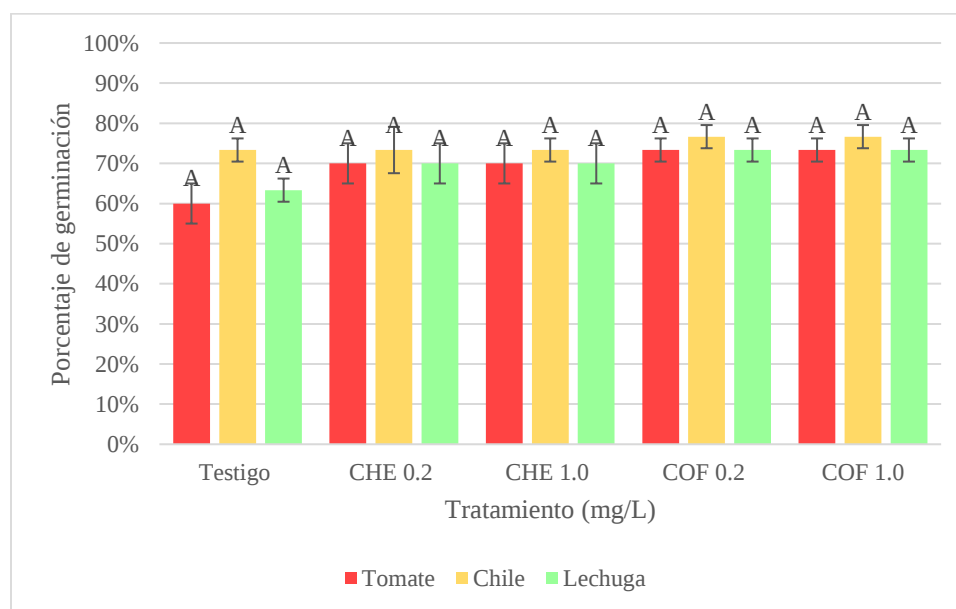


Figura 5. Gráfica del porcentaje de germinación de hortalizas con SeNPs (germinación 2).

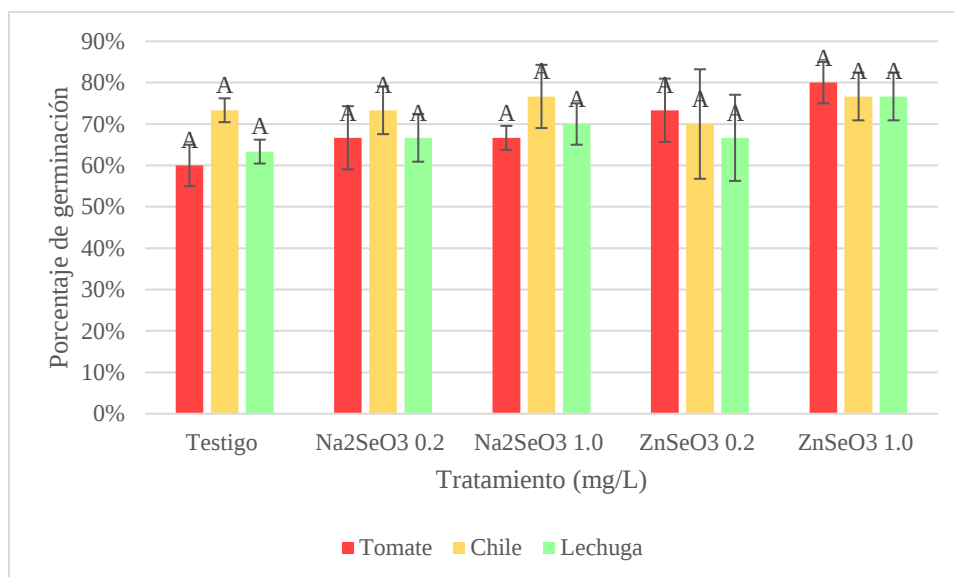


Figura 6. Gráfica del porcentaje de germinación de hortalizas con selenitos (germinación 2).

En el ensayo de germinación 2 (en medio de cultivo), se encontraron porcentajes de germinación arriba del 50% para todos los tratamientos, tal como se observa en las figuras 5 y 6. Se realizaron análisis de varianza utilizando el método de Duncan (95%) para cada tratamiento por especie, y con ello se encontraron los grupos homogéneos denotados. Como se muestra en las gráficas, para cada especie no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, puesto que todos estos se encuentran en el mismo grupo homogéneo.

3.3 Parámetros de crecimiento (tallos y raíces)

Para la germinación 1, se seleccionaron 10 plántulas de todas las repeticiones de cada tratamiento para medir la altura de estas, la longitud de las raíces y el peso fresco. Después, las 10 plántulas seleccionadas de cada repetición se guardaron en bolsas de papel para ser congeladas a -80 °C durante 48 horas y posteriormente se liofilizaron durante 12 horas para obtener el peso seco. Este proceso también fue necesario para preparar la masa foliar de las plantas para realizar la cuantificación de clorofilas totales.

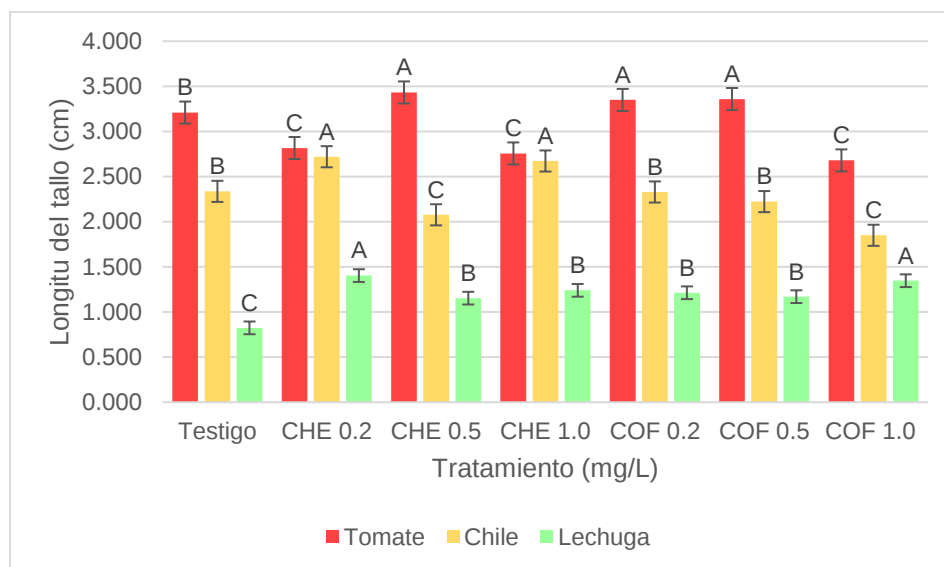


Figura 7. Gráfica de la longitud del tallo de las plantas con SeNPs (germinación 1).

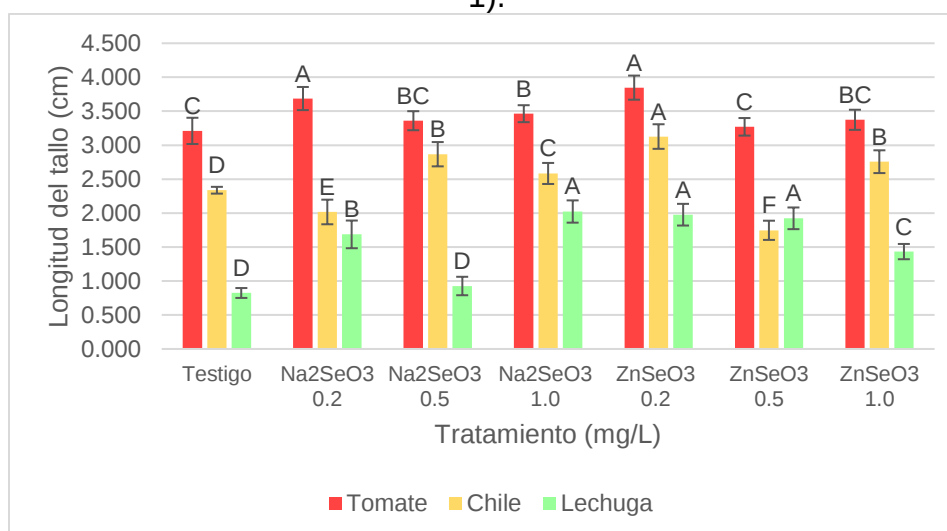


Figura 8. Gráfica de la longitud del tallo de las plantas con selenitos (germinación 1).

En cuanto a los parámetros de crecimiento de la germinación 1, la longitud de tallos para *S. lycopersicum*, presentó un mayor alargamiento con SeNPs COF a 0.2 y 0.5 mg/L respectivamente. La mitad de los tratamientos con SeNPs fueron superior al testigo y la otra mitad fue inferior, lo que representa que si existen diferencias significativas. Para *C. annuum* se observa un mayor crecimiento del tallo con SeNPs CHE 0.2 y 1.0 mg/L (figura 7) y el resto de los tratamientos fueron inferiores al testigo. En cuanto a *L. sativa* la mayor longitud se encontró a una concentración de SeNPs CHE 0.2 mg/L, y para todos los tratamientos la longitud del tallo fue superior al testigo.

Con los selenitos *S. lycopersicum*, presentó una mayor longitud de tallo con ZnSeO_3 a 0.2 mg/L, y el mismo efecto se denota para *C. annuum*. Para *L. sativa* la mayor longitud se encontró con Na_2SeO_3 a 1.0 mg/L. Todos los tratamientos para las tres especies presentan diferencias estadísticamente significativas (figura 8).

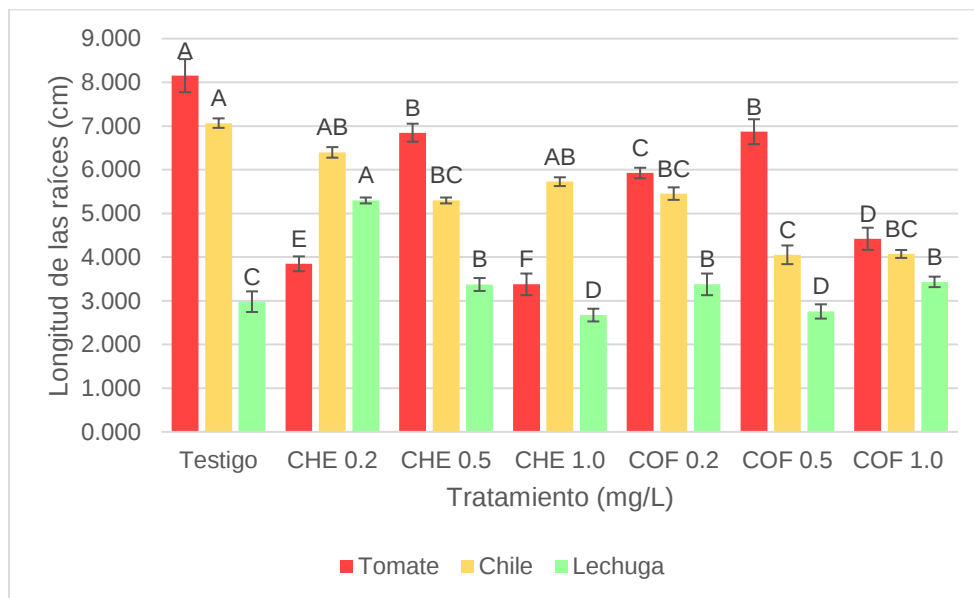


Figura 9. Gráfica de la longitud de las raíces de las plantas con SeNPs (germinación 1).

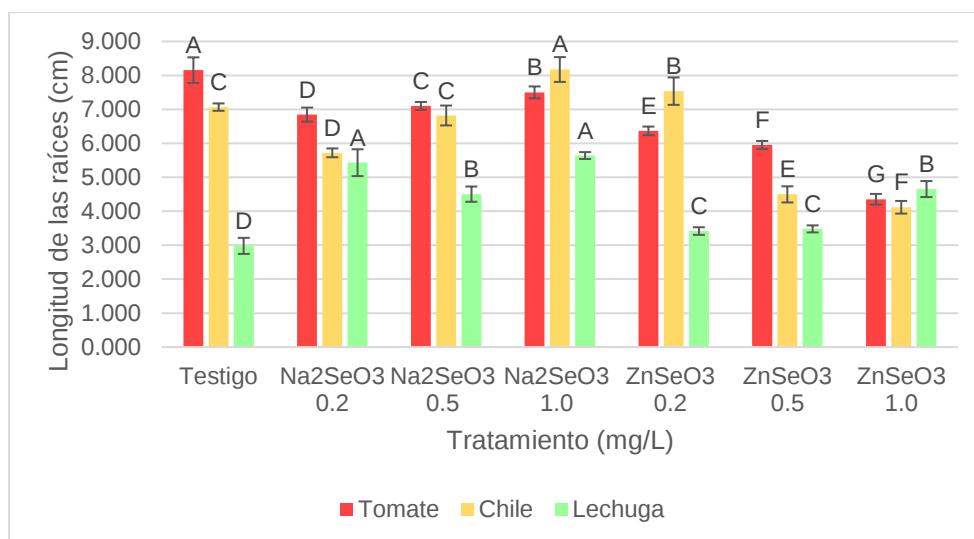


Figura 10. Gráfica de la longitud de las raíces de las plantas con selenitos (germinación 1).

En cuestión de las raíces, *S. lycopersicum* presentó un mayor alargamiento de raíz en el testigo en comparación con las SeNPs y los selenitos. Para *C. annuum* Na_2SeO_3 1.0 mg/L resultó con la longitud de raíz superior en comparación con el

resto de los tratamientos. Y para *L. sativa* SeNPs CHE a 0.2 mg/L y Na₂SeO₃ 1.0 mg/L fueron los tratamientos más efectivos en cuanto al alargamiento de la raíz. En todas las especies se denotan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (figuras 9 y 10). Cabe resaltar que, aunque algunos tratamientos presentaron mayor alargamiento de la raíz principal, otros tratamientos presentan una formación más prominente de raíces secundarias, tal como se observa en las figuras 27 a la 30. Para la germinación 2 (en medio de cultivo) se seleccionaron 5 plántulas para medir su altura, la longitud de las raíces, el número de hojas y el peso fresco. Después, las 5 plántulas seleccionadas de cada repetición se guardaron en bolsas de papel para ser congeladas a -80 °C durante 48 horas y posteriormente ser liofilizadas durante 12 horas para obtener el peso seco. Este proceso también fue necesario para preparar la masa foliar de las plantas para realizar la cuantificación de clorofilas totales.

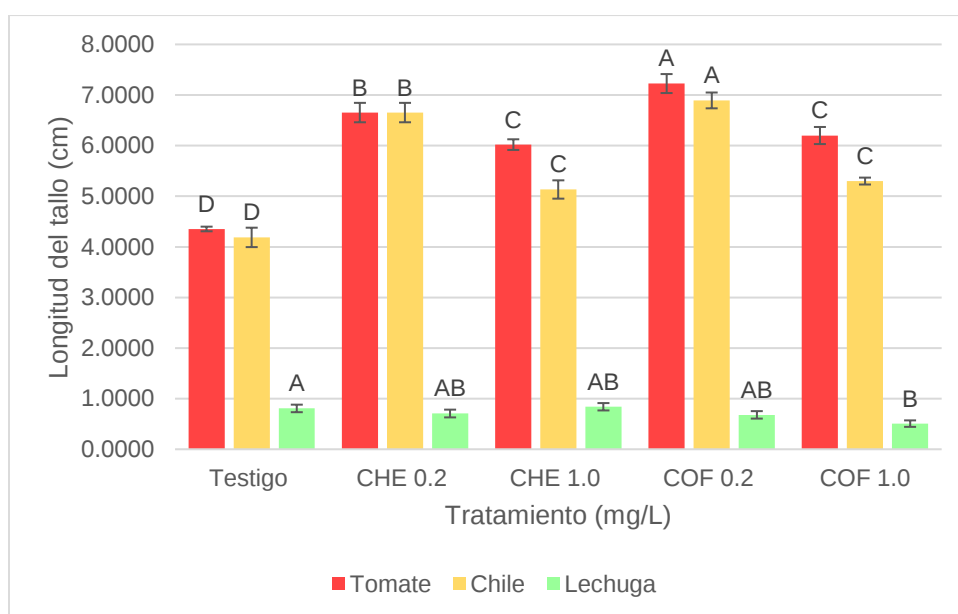


Figura 11. Gráfica de la longitud del tallo de las plantas con SeNPs (germinación 2).

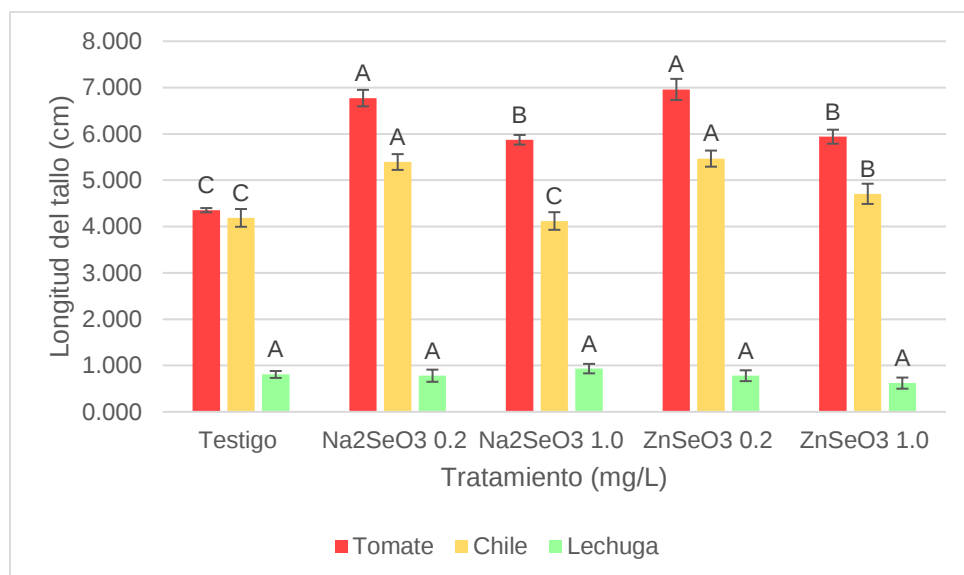


Figura 12. Gráfica de la longitud del tallo de las plantas con selenitos (germinación 2).

La longitud de tallos para *S. lycopersicum*, presentó un mayor alargamiento con SeNPs COF a 0.2 mg/L y ZnSeO₃ 0.2 mg/L respectivamente. Esto se denota de igual manera para *C. annuum*, además de que ambas especies presentan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Por otro lado, *L. sativa* presentó una longitud de tallo ligeramente superior en el tratamiento testigo en comparación con los tratamientos con SeNPs. Y en los tratamientos con selenitos todos resultaron similares al testigo por lo que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (figuras 11 y 12).

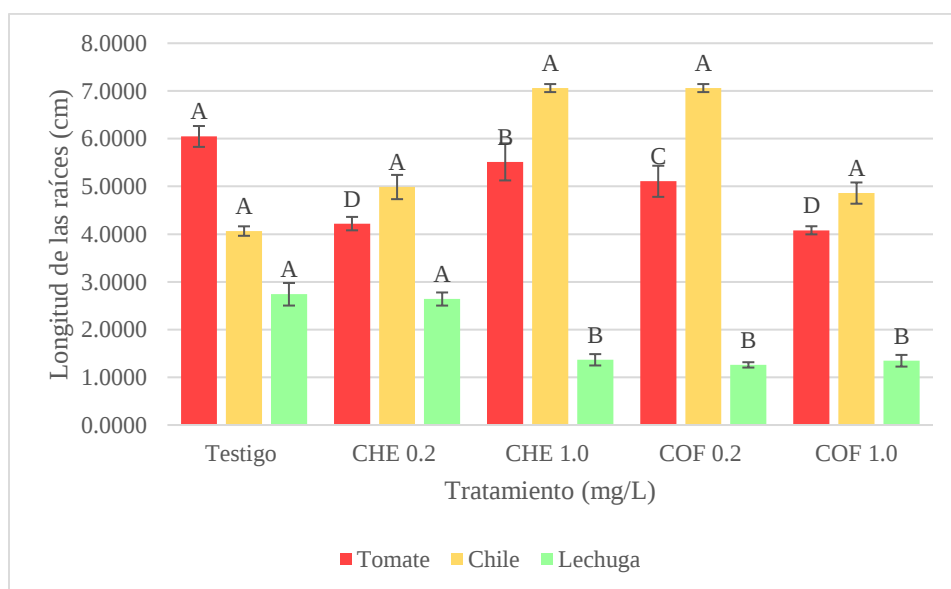


Figura 13. Gráfica de la longitud de las raíces de las plantas con SeNPs (germinación 2).

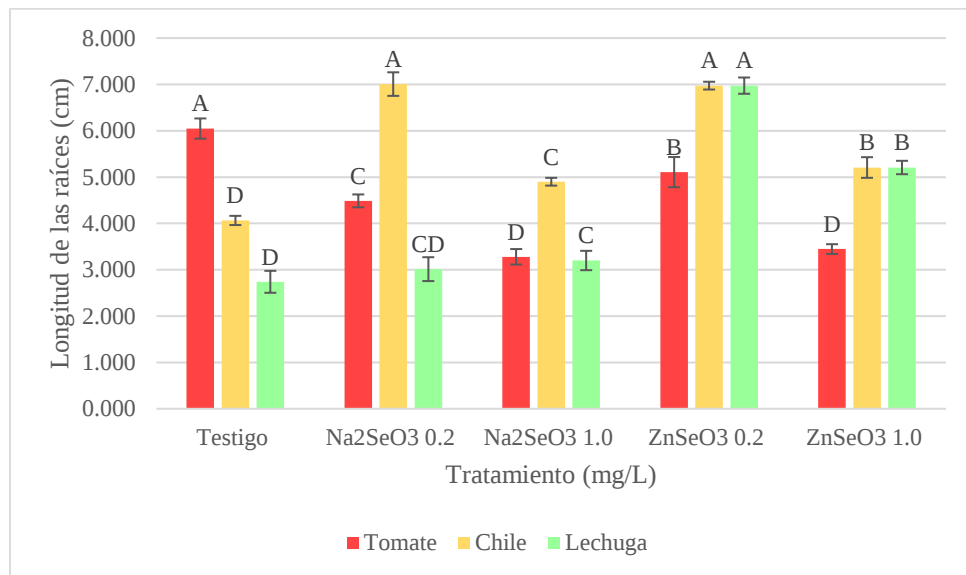


Figura 14. Gráfica de la longitud de las raíces de las plantas con selenitos (germinación 2).

En cuestión de las raíces, *S. lycopersicum* presentó el mayor alargamiento en el tratamiento testigo en comparación con los tratamientos con SeNPs y selenitos. Sin embargo, el resto de los tratamientos presentaron un sistema radicular más complejo. Para *C. annuum* todos los tratamientos con SeNPs y selenitos fueron superiores al testigo, resaltando las concentraciones de SeNPs COF 0.2 y ZnSeO₃ 0.2 mg/L como los tratamientos más efectivos.

En *L. sativa* todos los tratamientos con SeNPs fueron inferiores al testigo, en cambio todos los tratamientos con selenitos fueron superiores a este, sobresaliendo ZnSeO₃ 0.2 mg/L como el mejor tratamiento. Para todas las especies se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (figuras 13 y 14).

3.4 Peso de la biomasa

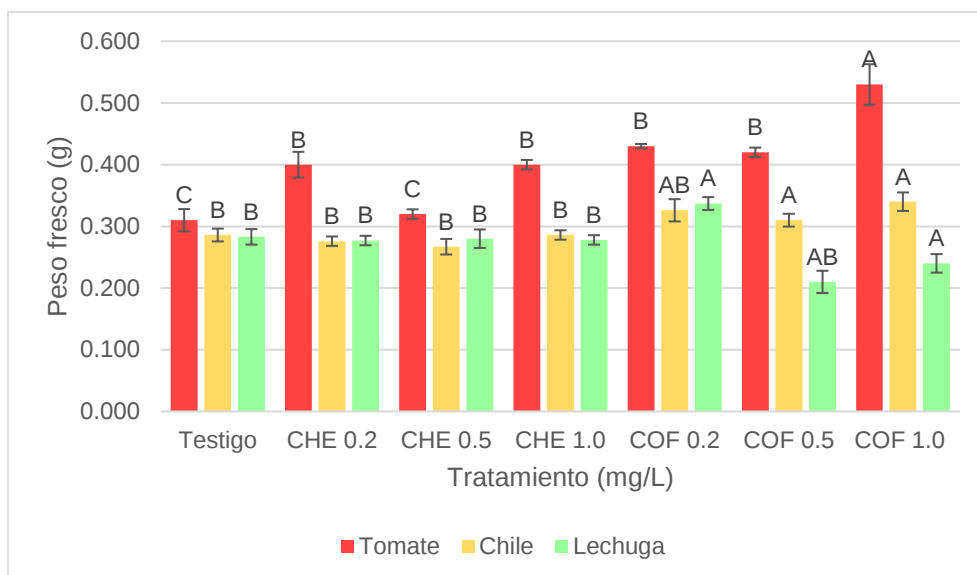


Figura 15. Gráfica del peso fresco de las plantas con SeNPs (germinación 1).

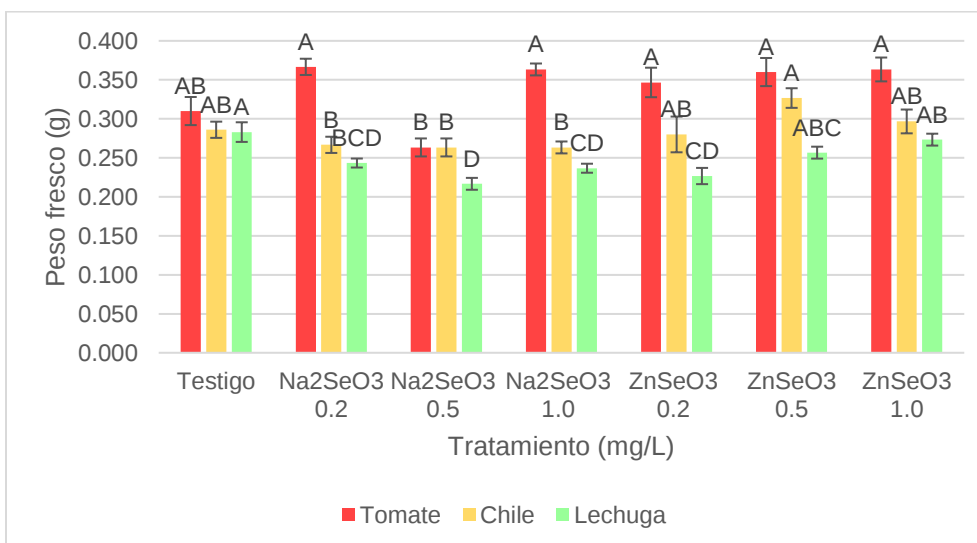


Figura 16. Gráfica del peso fresco de las plantas con selenitos (germinación 1).

Para el peso fresco, *S. lycopersicum* presentó un mayor peso con una concentración de 1.0 mg/L de SeNPs COF, y todos los pesos de los tratamientos con SeNPs y selenitos con excepción de Na₂SeO₃ 0.5 mg/L fueron superiores al peso fresco del testigo. *C. annuum* también presentó un mayor peso con una concentración de 1.0 mg/L de SeNPs COF, sin embargo, para el resto de los tratamientos con SeNPs, los pesos fueron similares al del testigo. Esta especie presenta diferencias significativas en los tratamientos con selenitos. *L. sativa* presentó el mayor peso fresco a una concentración de 0.2 mg/L de SeNPs COF y para todos los tratamientos de selenitos el testigo resultó superior (figuras 15 y 16).

La gráfica del peso seco de las plantas con SeNPs es directamente proporcional a la gráfica de peso fresco (figura 15) y los tratamientos que resultaron mayores en peso fresco se mantienen igual en peso seco (figura 17). Para el peso seco de las

plantas con selenitos se presentan pequeñas diferencias significativas para *C. annuum* y *L. sativa*, sin embargo, para *S. lycopersicum* los tratamientos resultaron similares (figura 18).

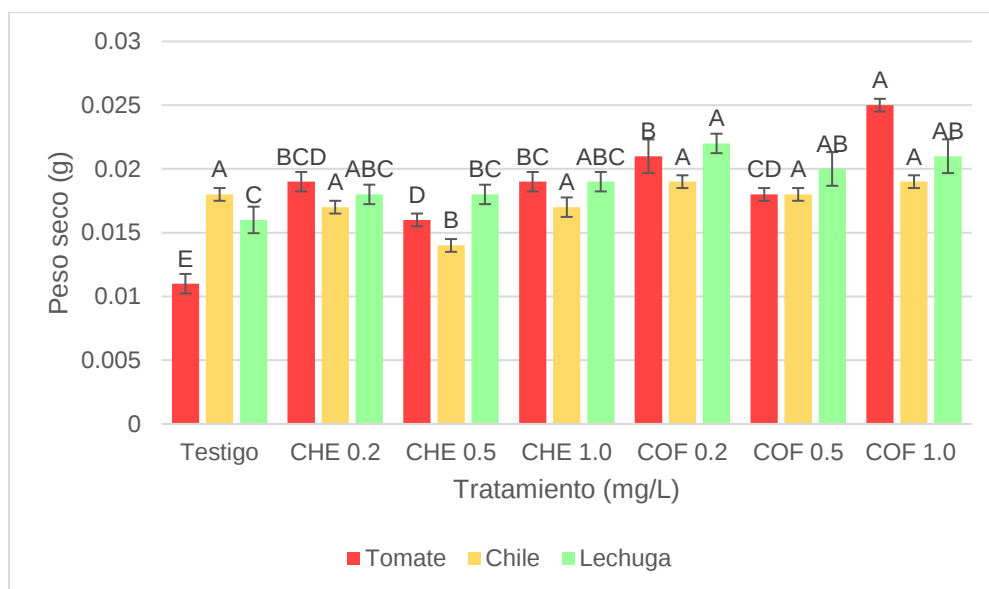


Figura 17. Gráfica del peso seco de las plantas con SeNPs (germinación 1).

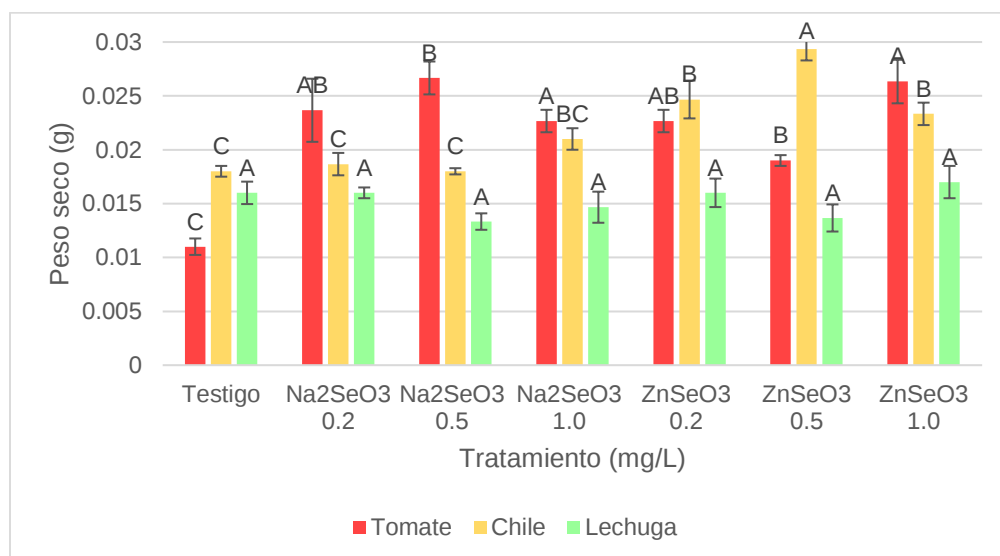


Figura 18. Gráfica del peso seco de las plantas con selenitos (germinación 1).

Para la germinación 2:

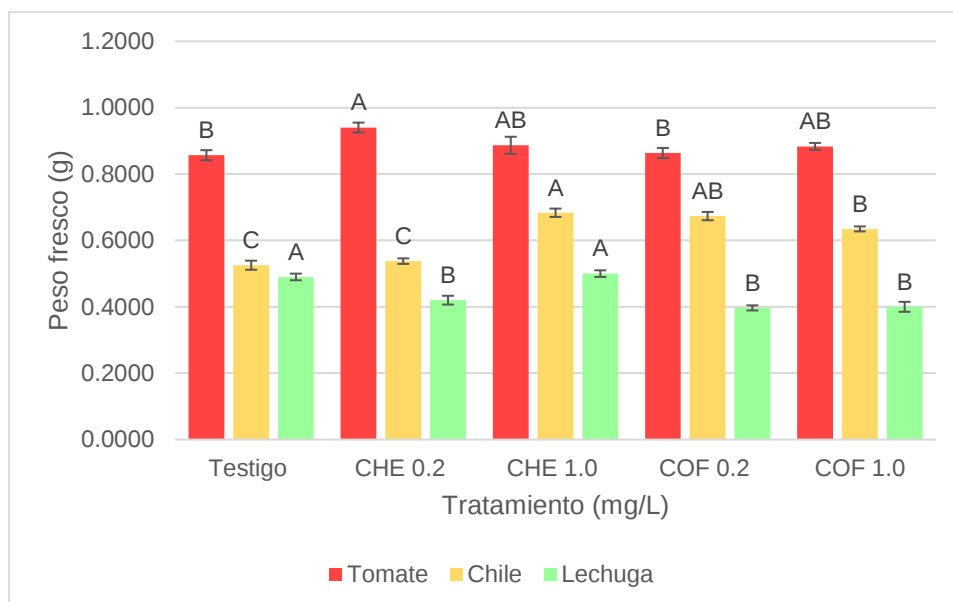


Figura 19. Gráfica del peso fresco de las plantas con SeNPs (germinación 2).

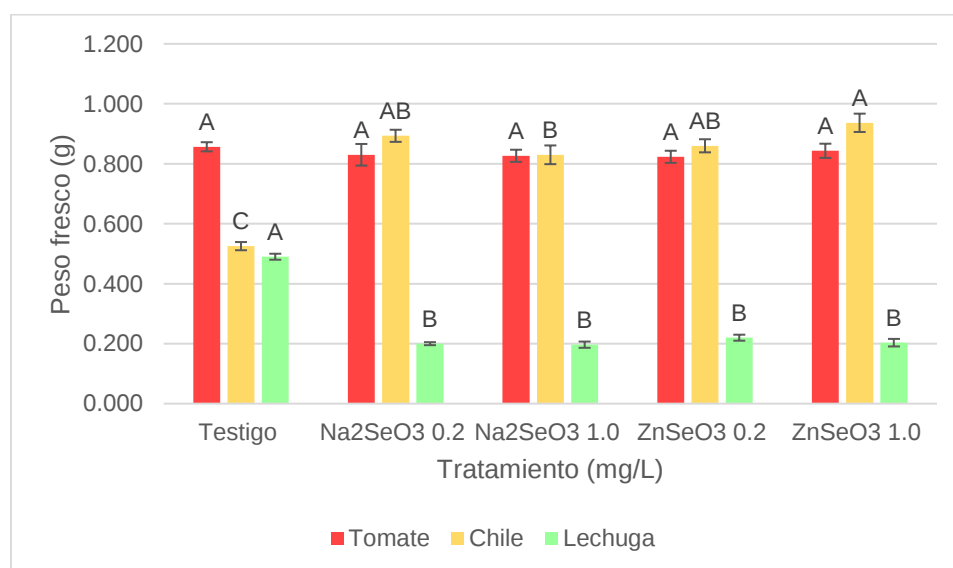


Figura 20. Gráfica del peso fresco de las plantas con selenitos (germinación 2).

Para el peso fresco, *S. lycopersicum* presentó un mayor peso con una concentración de 0.2 mg/L de SeNPs CHE, y todos los pesos de los tratamientos con SeNPs fueron ligeramente superiores al testigo. Los tratamientos con selenitos resultaron similares al testigo, por lo tanto, no se encontraron diferencias significativas. *C. annuum* presentó un mayor peso con una concentración de 1.0 mg/L de ZnSeO₃, y todos los tratamientos con selenitos y SeNPs fueron superiores al testigo. Para *L. sativa* se encontró un ligero incremento del peso fresco a una concentración de 1.0 mg/L de SeNPs CHE con respecto al testigo y para el resto de los tratamientos el testigo resultó superior (figuras 19 y 20) sin diferencias significativas entre ellos.

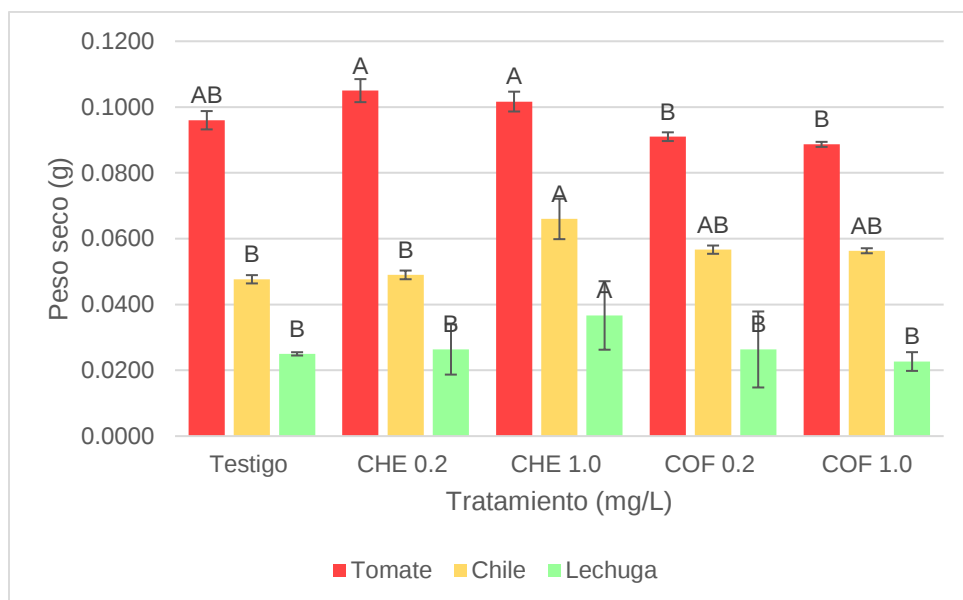


Figura 21. Gráfica del peso seco de las plantas con SeNPs (germinación 2).

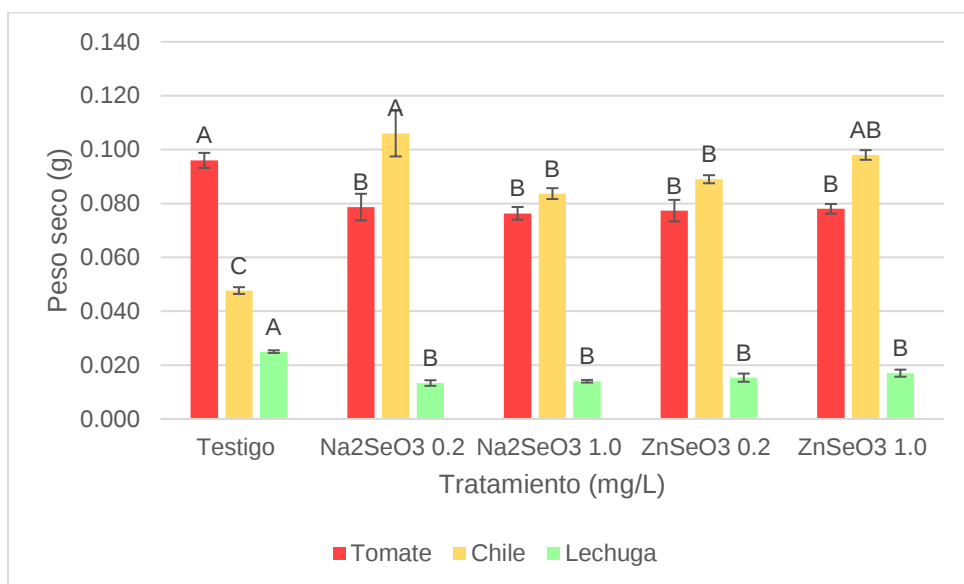


Figura 22. Gráfica del peso seco de las plantas con selenitos (germinación 2).

En cuanto al peso seco se encontraron ligeras diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para cada especie. Esto quiere decir que el proceso de liofilización al cual se sometieron las plantas no fue uniforme, por lo tanto, el peso seco no siempre será directamente proporcional al peso fresco de las muestras (figuras 21 y 22).

3.5 Cuantificación de clorofilas

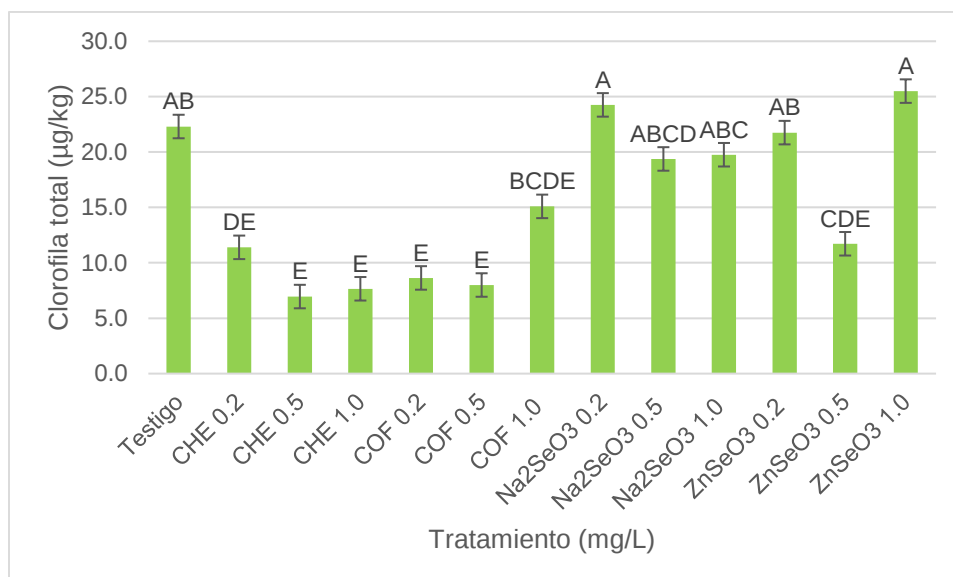


Figura 23. Gráfica del contenido de clorofila total para tomate (*S. lycopersicum*) de la germinación 1.

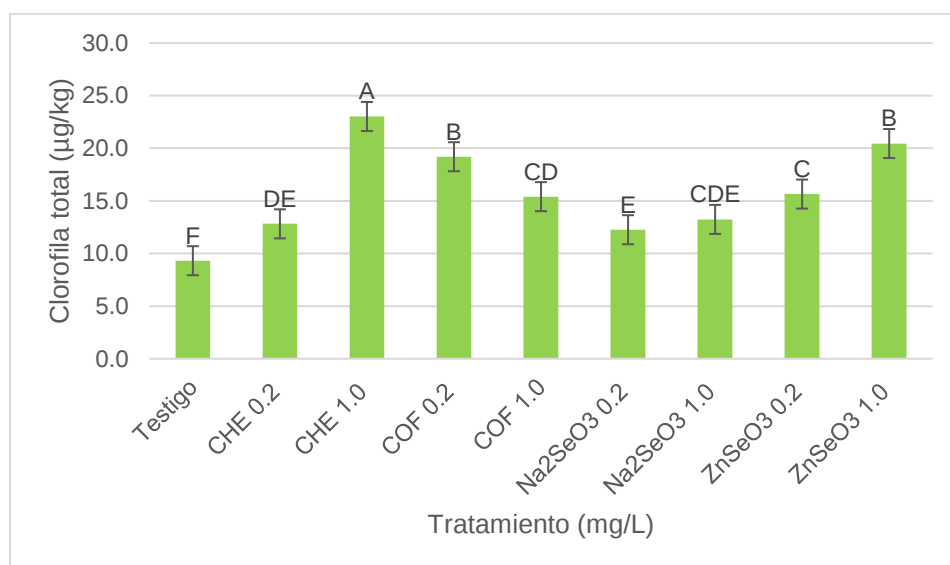


Figura 24. Gráfica del contenido de clorofila total para tomate (*S. lycopersicum*) de la germinación 2.

Para las plantas de la primera germinación, los resultados arrojaron que el mayor contenido de clorofila total para *S. lycopersicum* se encontró a una concentración 1.0 mg/L de ZnSeO₃. Resulta interesante que para todos los tratamientos con SeNPs el contenido de clorofila fuera inferior al testigo (figura 23). En cambio, para germinación en medio de cultivo se encontró un contenido de clorofila superior al testigo para todos los tratamientos, denotando la concentración de SeNPs CHE 1.0 mg/L como tratamiento con el mayor contenido de clorofila total (figura 24). De acuerdo con el análisis de varianza con el método de Duncan, se denotan

diferencias estadísticamente significativas en ambos experimentos para esta especie.

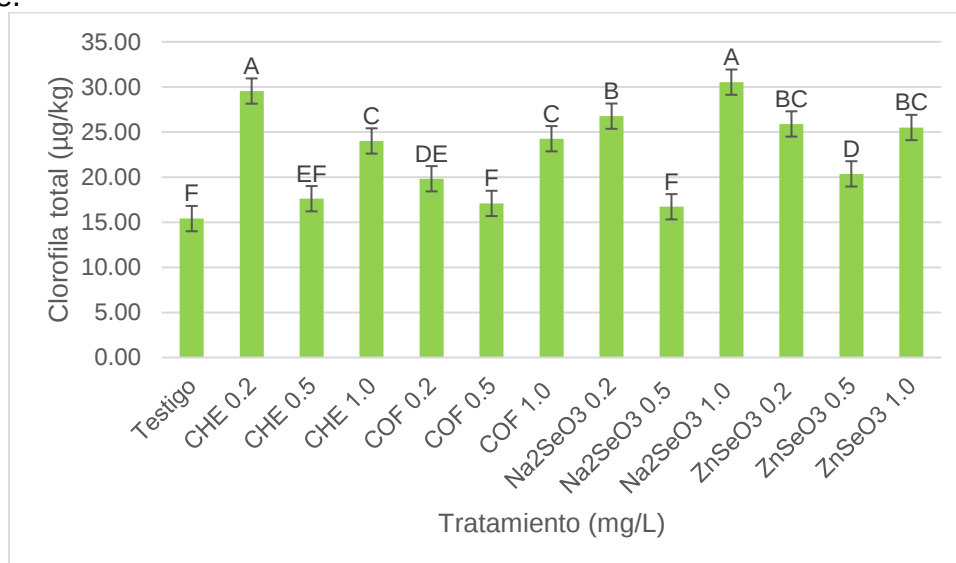


Figura 25. Gráfica del contenido de clorofila total para chile (*C. annuum*) de la germinación 1.

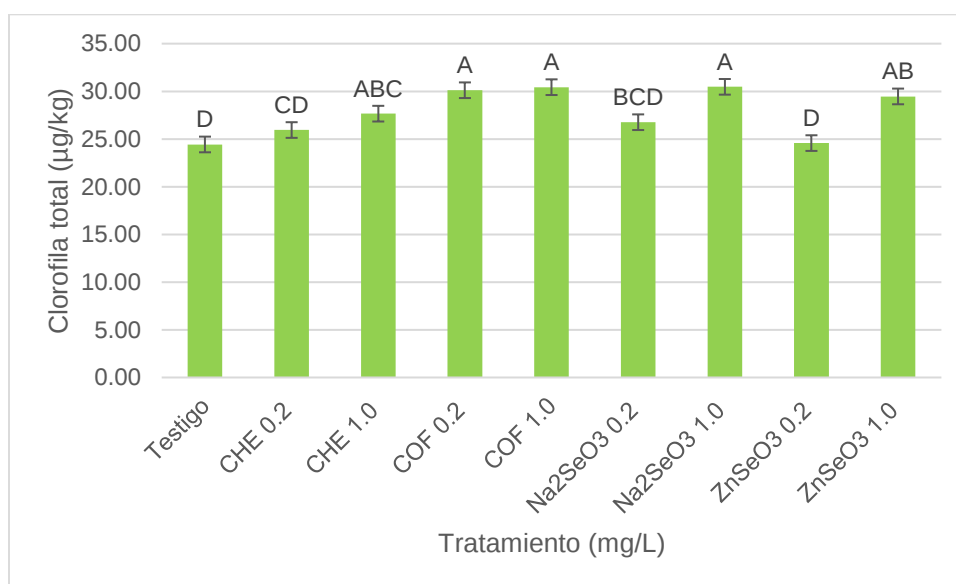


Figura 26. Gráfica del contenido de clorofila total para chile (*C. annuum*) de la germinación 2.

Para las plantas de la primera germinación de *C. annuum* se encontró el mayor contenido de clorofila a una concentración 1.0 mg/L de Na₂SeO₃. No obstante todos los tratamientos restantes presentaron un contenido de clorofila superior al del testigo (figura 25). En la germinación en medio de cultivo se encontraron tres concentraciones resaltantes con el mayor contenido de clorofila. Estos fueron

ambas concentraciones de SeNPs COF (0.2 y 1.0 mg/L) y Na_2SeO_3 1.0 mg/L. Con excepción del tratamiento de ZnSeO_3 0.2 mg/L, todos los tratamientos presentaron un mayor contenido de clorofila total con respecto al testigo (figura 26). Al igual que en la especie anterior, se denotan diferencias estadísticamente significativas en ambos experimentos para esta especie.

No obstante, el experimento de clorofilas no se pudo efectuar para la especie de lechuga (*L. sativa*) puesto que presentaron contaminación por hongos y bacterias y esto impidió que se tomaran las plantas de muestra. Por cuestiones de tiempo no fue posible realizar una réplica del experimento y por ello no se reportan datos para esta especie.

En las siguientes figuras se muestra una comparación fenotípica entre las plantas obtenidas para cada tratamiento en las dos germinaciones.

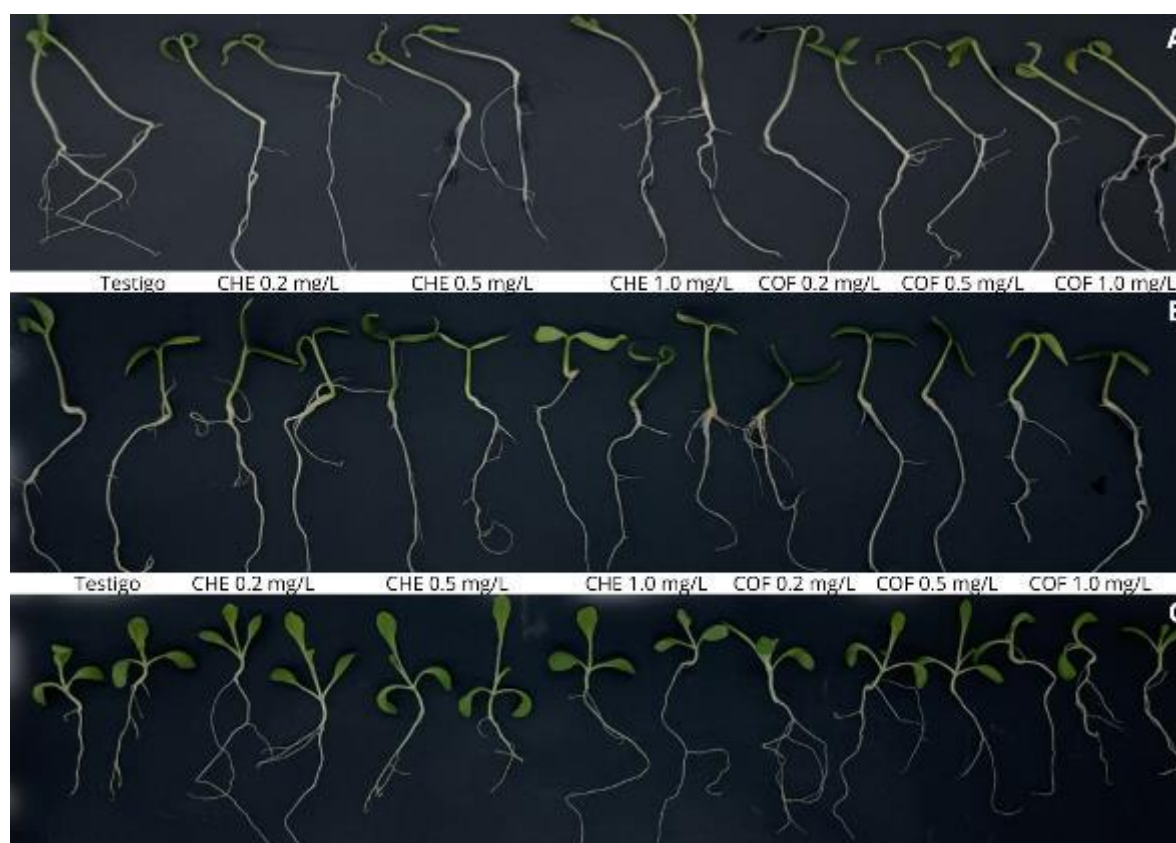


Figura 27. Comparación fenotípica de las plantas de los tratamientos con SeNPs, donde A: *S. lycopersicum*, B: *C. annuum*, C: *L. sativa* (germinación 1).



Figura 28. Comparación fenotípica de las plantas de los tratamientos con selenitos, donde D: *S. lycopersicum*, E: *C. annuum*, F: *L. sativa* (germinación 1).

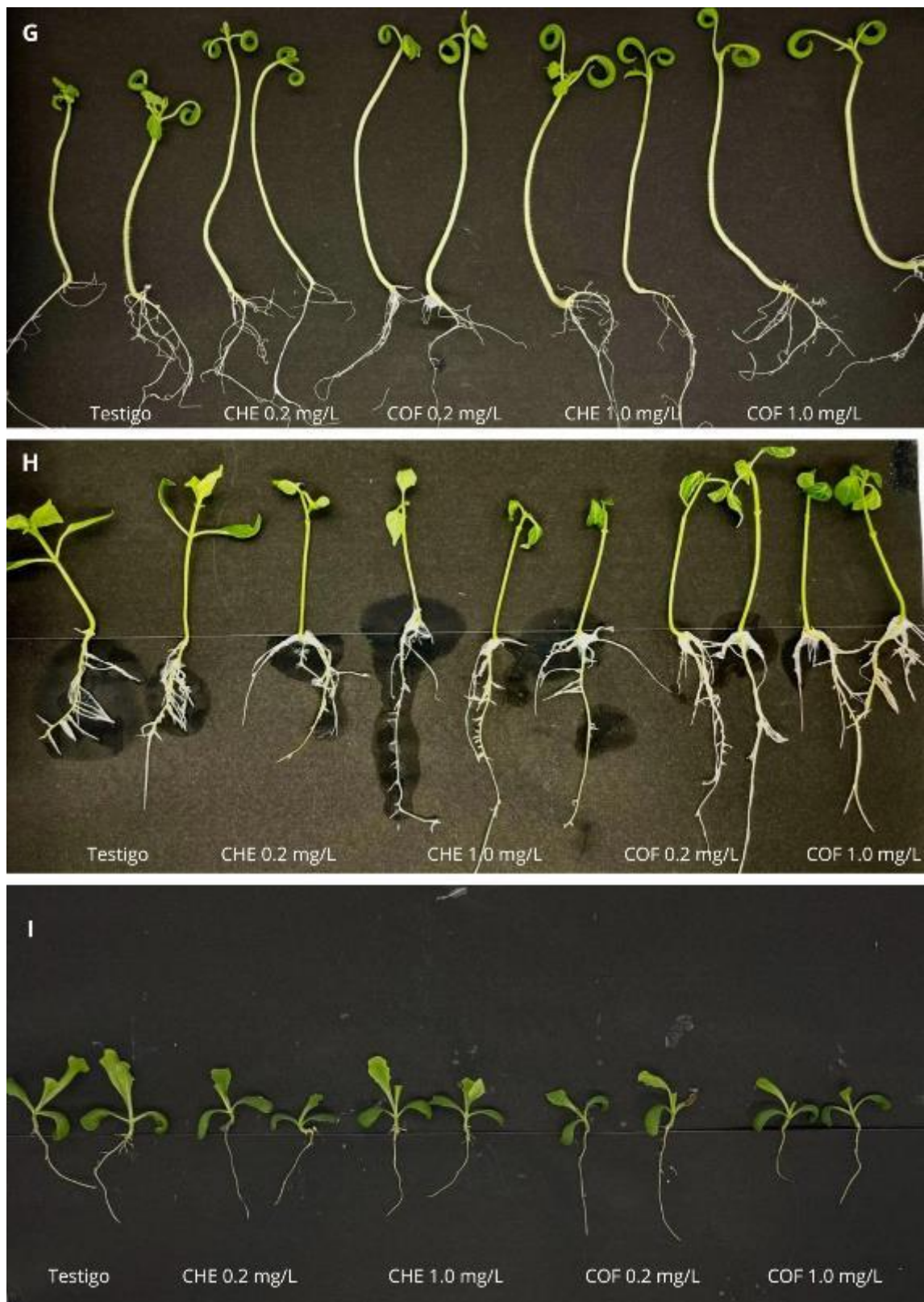


Figura 29. Comparación fenotípica de las plantas de los tratamientos con SeNPs, donde G: *S. lycopersicum*, H: *C. annuum*, I: *L. sativa* (germinación 2).

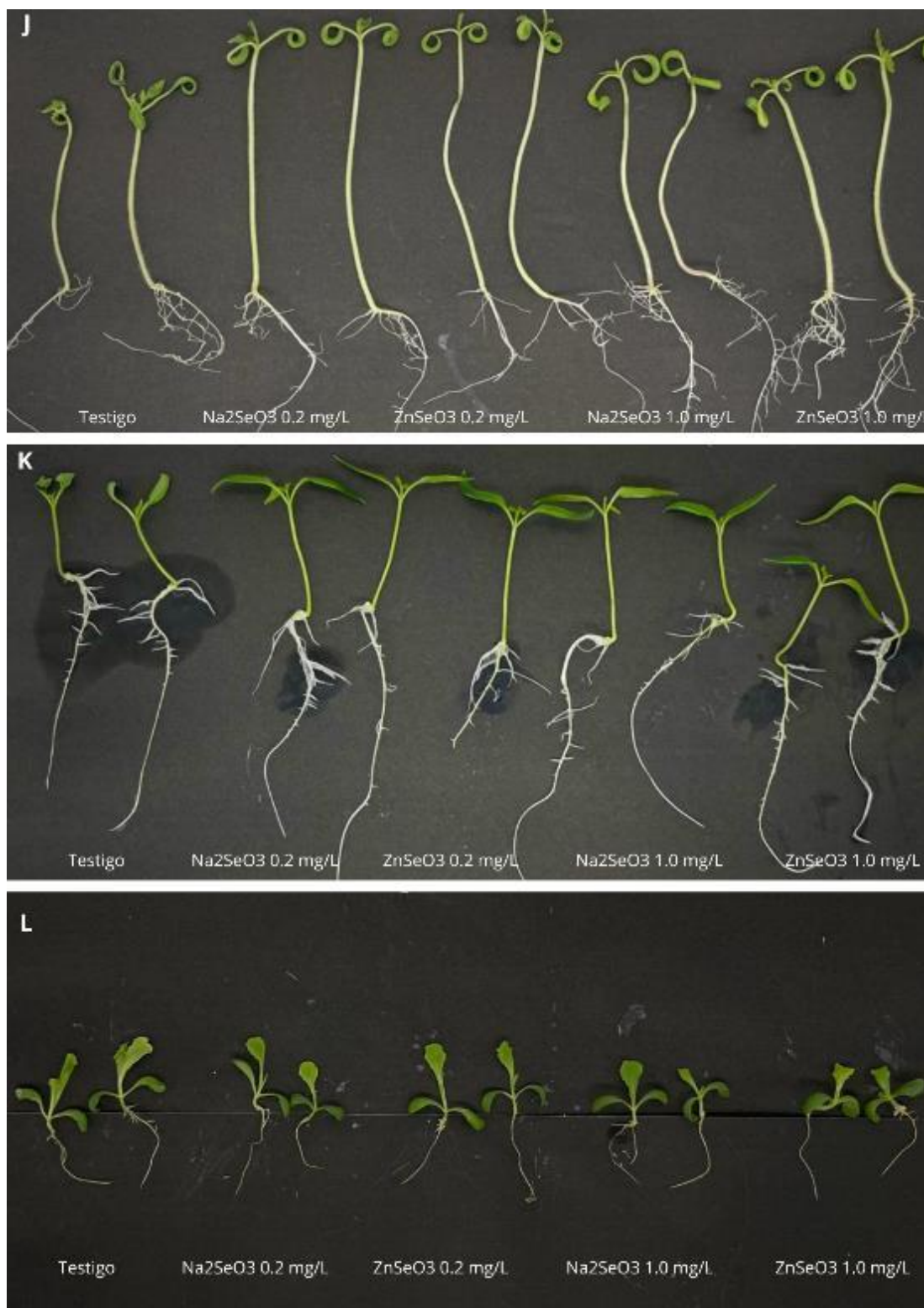


Figura 30. Comparación fenotípica de las plantas de los tratamientos con selenitos, donde J: *S. lycopersicum*, K: *C. annuum*, L: *L. sativa* (germinación 2).

4. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para la caracterización de nanopartículas arrojan que las SeNPs COF cumplen con el rango dimensional de 1-100 nm ya que en promedio miden 87.7 (figura 2). En cambio, las SeNPs CHE rebasan dicho rango puesto que miden en promedio 161.4 nm (figura 1). No obstante, las SeNPs CHE pueden considerarse aún nanopartículas ya que no poseen una morfología específica, y según un estudio (Gómez, 2018), una nanopartícula se considera como tal si al menos una de sus dimensiones se encuentra en el rango de 1-100 nm.

Existen diversas morfologías de nanopartículas, tales como nanotubos, nanobarras, nanofibras, nanoesferas entre otras (Gómez, 2018). Por ende, se necesitaría realizar una caracterización más puntual de las SeNPs CHE en equipos más sofisticadas para determinar su morfología real. Además, el tamaño promedio obtenido con la caracterización en Zetasizer posiblemente pudo deberse a una aglomeración de las partículas.

Los resultados muestran que el porcentaje de germinación es independiente de los procesos de biofortificación a las semillas (figuras 3-6), puesto que los cambios significativos se observan hasta obtener las plántulas. La biofortificación con Se a las semillas de hortalizas estudiada en el presente estudio puede contribuir a resolver la problemática planteada inicialmente: el contenido de Se en las plantas es completamente dependiente de la riqueza de Se del suelo, no obstante, las fuentes de Se que enriquecen el suelo son muy limitadas. Como se observa en las figuras 27 y 28, la adición de Se en la germinación resulta en plantas con características fisiológicas singulares. No obstante, cuando el Se actúa en conjunto con otros nutrientes, como en el medio de cultivo MS, las plantas presentan características totalmente diferentes en comparación cuando se aplica solo (figuras 29 y 30).

Como se observa en las figuras 4 y 6, para *C. annuum* los mayores porcentajes de germinación se encuentran con ZnSeO_3 y Na_2SeO_3 , lo cual concuerda con lo reportado por (Morales *et al.*, 2019) donde se encontró el Se, en forma de selenito o de selenato incrementa el porcentaje de germinación de chile serrano (*C. annuum*).

Se determinó que el Se en forma de NPs y como selenito brinda funciones bioestimulantes a las plantas. Esto se ve reflejado en las características fisiológicas de las plantas como un alargamiento del tallo o en el incremento del sistema radicular y el aumento en el número de hojas, lo cual concuerda con los efectos benéficos del Se reportados en un estudio (Castillo, 2015) entre los que se encuentran: mayor altura de planta, aumento en la longitud de la raíz y más acumulación de biomasa fresca y seca. También se describe que con la aplicación de Se en plántulas de tomate y pimiento se ha encontrado un mejor crecimiento de la raíz, mayor volumen radical y área foliar, así como mayor contenido de compuestos fenólicos.

Además, se puede concluir que dichas características proporcionan a las plantas la capacidad de producir un mayor contenido de clorofilas lo que eficienta el proceso de fotosíntesis el cual le permite a las plantas obtener energía y los nutrientes necesarios para su crecimiento y desarrollo (figuras 23-26).

Implementar las SeNPs como bioestimulante puede contribuir a la solución de una de las proleméticas a las que se enfrenta la agricultura actual; el uso de fertilizantes químicos convencionales. Según lo reportado por (López *et al.*, 2023) las SeNPs pueden ser aplicarse durante todo el ciclo del cultivo, utilizando técnicas como la aspersión foliar o mediante la aplicación directa en la raíz. Aunque, el efecto puede variar, puesto que depende totalmente de la concentración en la que se encuentren, la forma de aplicación, especie y etapa de crecimiento de la planta. Para las hortalizas esto se vería reflejado en el mejoramiento de la calidad del fruto, así como en el aumento de la tolerancia a distintos factores de estrés.

En otro estudio (Garza *et al.*, 2023) se reporta el potencial de las SeNPs como agente con actividad antimicrobiana para el control de fitopatógenos, lo cual concuerda con lo experimentado en este proyecto, puesto que ningún experimento biofortificado con SeNPs presentó la presencia de microorganismos contaminantes, con excepción de *L. sativa* donde todos los experimentos se contaminaron posiblemente por el tratamiento de desinfección practicado a las semillas.

Es relevante revisar los protocolos de desinfección de las semillas a utilizar, puesto que no todas las especies son susceptibles al mismo tratamiento. La mayoría las hortalizas siguen la germinación epigea, es decir el embrión se desarrolla por encima del suelo, y la parte aérea de la planta crece hacia arriba. Por ello es necesario cuidar el tratamiento que se le da a las semillas para no ocasionar daños al embrión que puedan limitar la germinación (Olarte & Bermúdez, 2022).

Uno de los resultados más interesantes encontrados fue la pigmentación de los tallos de las plantas, específicamente de *S. lycopersicum* en la germinación en medio de cultivo. Se realizó una indagación exhaustiva en la literatura y no se obtuvo información concreta acerca de este fenómeno. Solamente se encontró que la pigmentación por selenio en plantas se ha atribuido a la formación de selenoproteínas no específicas (Hilton, 2017).

Así mismo se encontró que *S. lycopersicum* fue la especie con mayor respuesta a cambios por la adición de fuentes de Se, lo cual se ve reflejado en los parámetros evaluados en este experimento. En cambio *L. sativa* se consideró la especie con menos efectos presentados por la adición de Se. *C. annuum* mostró más cambios en la germinación 2 (en medio de cultivo) que en la germinación 1, posiblemente debido a la complementación de nutrientes que el medio MS ofrece a las plantas, puesto que cada especie tiene requerimientos específicos para su desarrollo. Para ambas fuentes de Se (SeNPs y selenitos) la concentración que menos cambios fenotípicos presentó en las especies, de acuerdo con los experimentos fue de 0.5 mg/L. Por ende, esta concentración fue descartada para el ensayo de germinación 2.

Los parámetros evaluados en las plantas permiten concluir que las fuentes de Se que brindaron mejores resultados fueron las SeNPs COF y el selenito de zinc (ZnSeO_3), por lo que sería conveniente realizar más evaluaciones de estas fuentes de Se para poder establecer un límite permisible o una concentración adecuada, ya que en ningún experimento se encontraron índices de fitotoxicidad.

Se sugiere para una segunda etapa de estudio donde se dé continuación al proyecto, evaluar la viabilidad de las plantas después de la germinación, es decir, buscar la adaptación de las plantas en etapa de invernadero y hasta llegar al cultivo en suelo directo. Esto se puede lograr traspasando las plantas a sustratos suplementados de igual forma con las fuentes de Se probadas. También se sugiere hacer pruebas y análisis para determinar qué ocasionó la pigmentación de los tallos de algunas de las plantas. Finalmente se recomienda probar más concentraciones de las fuentes de Se para lograr estandarizar una metodología teniendo como referencia el proceso de hormesis (estimulación en dosis bajas inhibición para dosis altas).

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Secretaría de Innovación, Ciencia y Tecnología de Jalisco y al COECYTJAL por el financiamiento del proyecto 9851-2022, y al CIATEJ por el financiamiento del proyecto 2004800099 SELENIO.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS

Alava-Vargas M. C. 2015. Evaluación de diferentes frecuencias de onda lumínica en la germinación de hortalizas en un sistema controlado.

Castillo-Godina R. G. 2015. Expresión génica diferencial y antioxidantes en la planta de tomate (*Solanum lycopersicon* L. Mill) enriquecida con selenio (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).

Deshpande M. V. 2019. Nanobiopesticide perspectives for protection and nutrition of plants. In *NanoBiopesticides Today and Future Perspectives*.

Garduño-Zepeda A. M. & Márquez-Quiroz C. 2018. Aplicación de selenio en cultivos agrícolas. *Información Técnica Económica Agraria*, 114(4), 327-343.

Garza-García J. J., Hernández-Díaz J. A., León-Morales J. M., Velázquez-Juárez V, Zamudio-Ojeda A., Arratia-Quijada J. & García-Morales S. 2023. Selenium nanoparticles based on *Amphipterygium glaucum* extract with antibacterial, antioxidant, and plant biostimulant properties. *Journal of Nanobiotechnology*, 21(1), pp. 1-19.

Gómez-Garzón M. 2018. Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. Revista Repertorio de Medicina y Cirugía, 27(2).

Hilton B. 2017. Cultivos biofortificados ¿Qué son, cómo funcionan y por qué deberíamos sembrarlos?. Echo community. EDN Número 135.

León-Morales J. M., Panamá-Raymundo W., Langerica-Velázquez E. C. & García-Morales S. 2019. Selenio y vanadio en la germinación y el crecimiento de plántulas de chile (*Capsicum annuum* L.) y rábano (*Raphanus sativus*). Revista Bio Ciencias, 6, 14-pág.

Li L., Wu S., Wang S., Shi X., Cheng S. & Cheng H. 2023. Molecular Mechanism of Exogenous Selenium Affecting the Nutritional Quality, Species and Content of Organic Selenium in Mustard. Agronomy, 13(5), pp. 1425.

López-Gervacio A., Hernández-Díaz J. A., Qui-Zapata J. A., Barrera-Martínez I. C., Montero-Corte M. I. & García-Morales S. 2023. Nanopartículas de Selenio para la agricultura sostenible. Crónica MX.

Olarte-Urbe J. S. & Bermúdez-Mejía G. 2022. Sistema de germinación bajo ambientes controlados de cultivos de hortalizas.

3. Reflexión crítica y ética de la experiencia

El RPAP tiene también como propósito documentar la reflexión sobre los aprendizajes en sus múltiples dimensiones, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto para compartir una comprensión crítica y amplia de las problemáticas en las que se intervino.

3.1 Sensibilización ante las realidades

Mediante el estudio realizado tomé conciencia sobre las problemáticas a las cuales se enfrenta la agricultura en la actualidad. Ante el inminente aumento de la población, los sistemas agroalimentarios buscan satisfacer la demanda de alimentos, y para lograrlo implican el uso desmedido de fertilizantes y pesticidas que terminan causando más daños que proporcionando beneficios a los cultivos. Me di cuenta de que el campo mexicano requiere de métodos e insumos alcanzables en cuestiones económicas y tecnológicas para los agricultores.

El uso de alternativas sustentables como la biofortificación resulta ser un proceso interesante en cuestiones agroalimentarias, puesto que puede enriquecer los cultivos con elementos de interés, lo cual se ve reflejado en los productos alimentarios como hortalizas. La técnica de biofortificación propuesta en este PAP resulta ser efectiva proporcionando efectos bioestimulantes a los cultivos, sin causar efectos desfavorables en el medio ambiente o la salud humana, lo que puede tener un impacto positivo en la sociedad. No obstante, se debe considerar que la implementación de estas alternativas podría requerir de inversiones significativas en términos de tiempo, recursos y capacitación. Aunque la síntesis verde de nanopartículas resulta ser menos costosa frente a una síntesis física, es necesario el uso de equipos y operadores con conocimientos básicos sobre síntesis y caracterización de nanopartículas. También, debido a la falta de información sobre el tema, existe la posibilidad de que los agricultores no tengan disposición para implementar en sus cultivos técnicas e insumos con base bionanotecnológica si para ello se requieren conocimientos o costos más elevados, lo que resulta uno de los desafíos por afrontar.

Finalmente, considero que la implementación de biofertilizantes en los cultivos agrícolas en México contribuye a una alternativa ética que puede repercutir de manera positiva en la salud del medio ambiente, del ser humano y en la economía. Sin embargo, es necesario informar a los productores sobre la ventaja que ofrecen estos productos y contribuir con los conocimientos empíricos que se emplean en la agricultura para poder complementarlos de forma eficiente.

Por otro lado, al desenvolverme en un ámbito más profesional, fue importante ser consciente del espacio de trabajo, puesto que involucra el espacio de más personas. Cada experimentación requirió del trabajo de manera correcta y precisa para asegurar la integridad de las personas que se desenvuelven en ese entorno. El trabajar a la par con otras personas enfocadas en diversos proyectos, me aportó una cantidad importante de conocimiento con respecto a diferentes temas, técnicas y sobre todo metodologías que contribuyen de manera relevante al ámbito de investigación. Fue necesaria la contribución de diversas personas, principalmente investigadores y estudiantes del centro de investigación, ya que

contribuyeron al proyecto a través de su ayuda física, así como de sustento bibliográfico postulado en sus trabajos y estudios previos.

3.2 Aprendizajes logrados

Durante este PAP tuve la oportunidad de involucrarme en diferentes experimentaciones que requirieron la planeación de alternativas, el uso de técnicas y la implementación de procesos que enriquecieron mis aprendizajes. La integración de las áreas de bio y nanotecnología resultó en un proceso interesante donde se pudo experimentar con las herramientas que proporcionan para dar solución a un determinado problema.

El proceso de germinación me resulta fascinante puesto que, es un proceso que permite observar el desarrollo de una vida completamente nueva. Trabajar con especies que se consideran básicas en la alimentación global fue relevante en el sentido de reflexión y cuestionarse el qué contienen los alimentos que consumimos. La implementación de recursos como los nanomateriales para dar solución a problemáticas alarmantes sobre el uso de agroquímicos, suena a una realidad inalcanzable. Sin embargo, el poder trabajar con nanopartículas y utilizar técnicas desconocidas para caracterizarlas como la dispersión dinámica de luz (DLS) resultó muy enriquecedor y complementario en cuanto a mi formación académica y profesional. Considero que uno de los mayores aprendizajes que obtuve fue el desarrollar la parte ingenieril de mi carrera y dar soluciones a problemas, es decir encontrar el porqué de la realización de un trabajo y no solo experimentar de manera injustificada.

El área de investigación demanda la indagación de estudios o experimentaciones que sustenten el trabajo realizado, por lo que pude desarrollar un pensamiento más analítico para dar respuesta y comparar lo que encontré con lo que ya existe o lo que se ha encontrado. Durante mi estancia en el CIATEJ, pude poner en práctica los conocimientos de mi formación académica para realizar las experimentaciones postuladas. El desarrollo de capacidades, como la paciencia, el compromiso y la organización, fueron piezas clave para culminar con éxito el presente PAP.

Pude reforzar habilidades y técnicas aprendidas a lo largo de la carrera, especialmente tener un desempeño favorable con base en las buenas prácticas de laboratorio. Fue muy valioso el poner a prueba mis capacidades planteando propuestas y alternativas o estableciendo protocolos que dieran solución a las problemáticas presentadas. Compartir con la doctora Soledad García Morales me permitió conocer toda una sublínea de investigación y la manera en la que se desempeñan las experimentaciones. A pesar de realizar el trabajo completamente de manera *in vitro*, tuve la oportunidad de conocer proyectos en condiciones diferentes lo cual fue muy enriquecedor para mí.

Estoy inmensamente agradecido y satisfecho por haber tenido la oportunidad de colaborar en este proyecto que, aunque se sustentaba en estudios previos, fue realizado desde la planeación de las experimentaciones hasta la consolidación de los resultados. Considero que, al fusionar mis aprendizajes académicos con los aprendizajes adquiridos durante este PAP, puedo decir que soy una persona distinta en cuanto al sentido académico y sobre todo en el sentido personal, puesto que logré desarrollar conocimientos y aptitudes que me ayudan mejorar como persona y tener un mejor desenvolvimiento en el entorno social.

3.3 Inventario de competencias Inicial (ingreso del PAP) e Inventario de competencias Final (salida al PAP).

	Competencia		Evidencia	Relevancia/ Fortaleza*	Competencias nuevas	Competencias potencializadas
Categoriza las competencias en conocimientos, habilidades y actitudes. Escribe la o las evidencias de cada competencia y su relevancia.	Conocimientos	Diseño de experimentos.	Diseñé experimentos para diversos casos de estudio para analizar los factores de este, así como los resultados más significativos.	Me permite obtener conclusiones sólidas que ayudarán a optimizar los procesos de un proyecto de manera eficiente.	Uso de software para realizar diseños de experimentos y análisis estadísticos que avalen mis resultados.	Planteamiento de los diseños de experimentos e identificación de factores y variables que intervienen.
		Entendimiento del uso de la principal herramienta de bioprocesos (biorreactor).	Realicé un proyecto de producción de metabolitos de interés en biorreactor.	Me permite entender cómo funciona un biorreactor, comprender las fases del bioproceso para aplicarlas en la producción de un bioproducto.	Operaciones de bioprocesos.	Entendimiento de la función de un bioproceso de producción, así como ampliación del panorama que abarcan los bioprocesos.
		Principios de biología	Diversas experimentaciones	Puedo aportar un diseño de proceso	Desarrollo del sentido analítico	Identificación de procesos

		molecular e ingeniería genética.	teóricas y prácticas sobre el entendimiento de los diversos procesos a los que se somete el ADN.	donde el objeto de estudio sea el ADN como una PCR, una mutación, etc.	para identificar procesos genéticos que afecten el fenotipo de los organismos.	metabólicos que impliquen alteraciones en el ADN.
		Entendimiento de la biotecnología como una disciplina interdisciplinaria.	He participado en áreas de investigación, desarrollo de productos, regulación, gestión de proyectos, entre otras situaciones como estudiante de biotecnología.	Puedo combinar principios de biología, química, genética, microbiología y otras ciencias para utilizar organismos vivos o sus componentes para desarrollar productos o procesos que benefician a la humanidad.	Implementación de diversas áreas de la biotecnología con la misma finalidad.	Hacer uso correcto de las herramientas que implica la biotecnología para utilizarlas de la forma más éticamente posible.
		Trabajo y experimentación de laboratorio.	Utilizar equipos y material de laboratorio para ejecutar diferentes técnicas.	Puedo realizar experimentaciones de índole científica en un laboratorio aplicando las técnicas aprendidas.	Uso de nuevas técnicas y equipos como la dispersión dinámica de luz (DLS) en el Zetasizer.	Profundización de técnicas como el cultivo celular, preparación de medios de cultivo, soluciones y tratamientos de desinfección.
	Habilidades	Habilidades de investigación científica.	A lo largo de la carrera he realizado diversos reportes de investigación sobre temas científicos por lo que puedo sustentar o comparar en bibliografía adecuadamente la información.	Me permite ejecutar de manera personal o colaborativa a la investigación para sustentar resultados de procesos o proyectos y poder elaborar un reporte de ello.	Buscar, analizar e identificar información de artículos, estudios, y otras fuentes para avalar mis resultados o tomar referencias para experimentar.	Desarrollo de un pensamiento científico, analítico y reflexivo para sustentar lo encontrado en mis experimentos.
		Comunicación y desenvolvimiento.	He realizado diversas presentaciones de forma individual o en compañía donde doy a conocer la información más relevante sobre un trabajo.	Puedo interactuar ante diversas personas para mostrar información generada con experimentaciones e investigaciones a manera de presentación.	Formulación de una presentación destinada a un público específico.	Desenvolvimiento ante un público especialista en el tema.
		Análisis de información utilizando herramientas digitales.	Los conocimientos generados en la carrera me han hecho experimentar y trabajar con diversas herramientas digitales y softwares para el	Con el análisis y la interpretación de datos e información puedo contribuir al estudio de un proyecto o proceso para reportar sus resultados más relevantes.	Uso de STATGRAPHIC S y software de ZETASIZER para analizar información y datos de los resultados encontrados.	Mejoras en la comprensión lectora y redacción de los datos obtenidos.

			análisis e interpretación de datos.			
		Facilidad para trabajar en diferentes ambientes.	Adaptación para trabajar en ambientes presenciales o virtuales dependiendo de la situación que se requiera.	Puedo participar de diferentes maneras en algún proyecto aportando las necesidades que se requieran.	Desenvolvimiento en un entorno laboral y profesional.	Sentido de la responsabilidad que implica trabajar en instalaciones de nivel profesional.
		Desenvolvimiento para trabajar en equipo.	A lo largo de la carrera he aprendido a trabajar con distintas personas en diferentes equipos y de diferentes entornos.	Puedo adaptarme a trabajar con distintas personas para en conjunto dar solución a problemas o sacar una idea o proyecto adelante.	Trabajar en compañía con personas enfocadas en diferentes proyectos.	Empatía y ayuda a mis compañeros a pesar de no trabajar en el mismo proyecto.
	Actitudes	Proactividad.	Me he desenvuelto en situaciones donde es necesario implica tomar la iniciativa y estar dispuesto a asumir responsabilidades adicionales para sacar el trabajo adelante.	Esto me permite tomar decisiones conscientes y dirigir mis acciones hacia metas y resultados específicos que serán mi responsabilidad.	Tomar la iniciativa para investigar y trabajar por mi cuenta con la finalidad de dar solución a los conflictos presentados.	Autoanalizar y reflexionar sobre las situaciones que impliquen la toma de decisiones.
		Empatía y resolución de conflictos.	El trabajar con diversas personas con diferentes maneras de trabajar, pensar y de ser ha generado en mí una empatía y aceptación que busca evadir situaciones de conflicto en el equipo.	Considero que la capacidad de comprender y mostrar empatía hacia los compañeros de trabajo es importante para crear relaciones favorables, con ello manejar conflictos de manera efectiva y encontrar soluciones constructivas en el entorno.	Compartir ideas y alternativas con personas de diferentes áreas de la investigación.	Escuchar y respetar las ideas y pensamientos de mis compañeros de trabajo con respeto y tolerancia.

Realizar el inventario de competencias inicial y final marca un antes y un después para la realización de mis actividades académicas y profesionales. Considero que es una forma muy valiosa de evaluar mis capacidades y aptitudes y como se pueden transforman durante la ejecución de un proceso. Bajo este sentido, puedo reflexionar y hacer hincapié una vez más sobre los aprendizajes adquiridos y los potenciados a lo largo de este PAP y considero al inventario como una herramienta útil para registrar mi transición en actividades futuras.