

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES



Por:

ROLANDO ÁLVAREZ RIVAS

**Efecto de la Fertilización Sobre la Dinámica Poblacional de Tallos
de *Lotus corniculatus* L.**

TESIS

Presentada Como Requisito Parcial Para
Obtener El Título De:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, mayo del 2025.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Efecto de la Fertilización Sobre la Dinámica Poblacional de Tallos de *Lotus
corniculatus* L.

POR:

ROLANDO ÁLVAREZ RIVAS

TESIS

Que somete a la consideración del H. Jurado Examinador como
Requisito para obtener el título de:

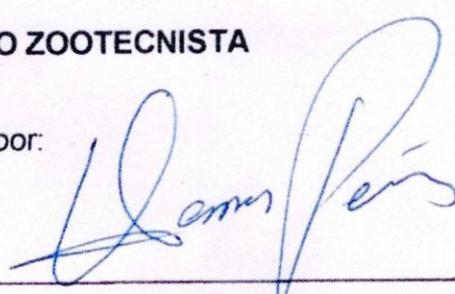
INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Aprobada por:



Dr. Perpetuo Álvarez Vázquez

Director



Dr. Hermes Pérez Hernández

Co-director



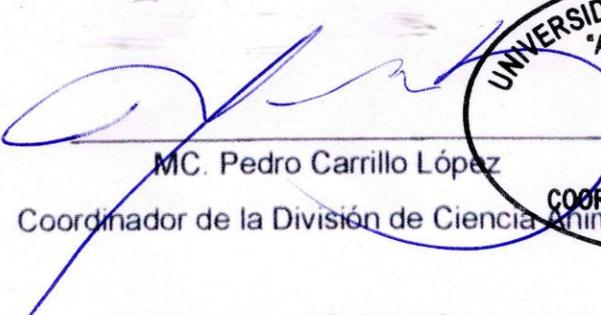
Dr. Alejandro García Salas

Asesor



Dr. José Javier Ochoa Espinoza

Asesor



MC. Pedro Carrillo López

Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, mayo del 2025.

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE RECUERSOS NATURALES**

**Efecto de la Fertilización Sobre la Dinámica Poblacional de
Tallos de *Lotus corniculatus* L.**

POR:

ROLANDO ÁLVAREZ RIVAS

TESIS

Que somete a la consideración del H. Jurado Examinador como
Requisito para obtener el título de:

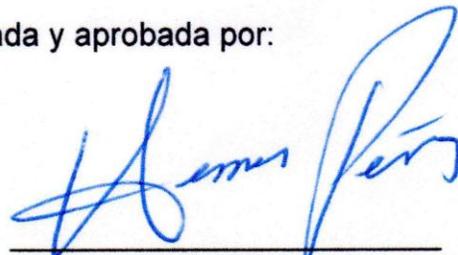
INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

La cual fue revisada y aprobada por:



Dr. Perpetuo Álvarez Vázquez

Director



Dr. Hermes Pérez Hernández

Co-director

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, mayo del 2025.

DECLARATORIA DE NO PLAGIO

Saltillo, Coahuila, mayo 2025.

DECLARO QUE:

El trabajo de investigación titulado **“Efecto de la Fertilización Sobre la Dinámica Poblacional de Tallos de *Lotus corniculatus* L.”** es una producción personal, donde no se ha copiado, replicado, utilizado ideas, citas integrales e ilustraciones diversas, obtenidas de cualquier tesis, obra intelectual, artículo, memoria, (en versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor.

En este sentido, lo anterior puede ser confirmado por el lector, estando consciente de que en caso de comprobarse plagio en el texto o no se respetaron los derechos de autor; esto será objeto de sanciones del Comité Editorial y/o legales a las que haya lugar; quedando, por tanto, anulado el presente documento académico sin derecho a la aprobación de este, ni a un nuevo envío.

ROLANDO ÁLVAREZ RIVAS

Nombre

Rolando Alvarez R.

Firma

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Terra Mater por, haberme abierto sus puertas, para formarme como profesionalista durante cuatro años y medio, y por darme la oportunidad de haber vivido de las mejores experiencias durante mi estancia universitaria.

A mi asesor, el Dr. Perpetuo Álvarez Vázquez, por aceptarme y confiar en mi para realizar este proyecto de investigación. Gracias por su tiempo y paciencia.

Al Dr. Hermes Pérez Hernández, por haberme dado la oportunidad de trabajar en este proyecto de investigación y por haberme orientado en las dudas durante el experimento.

A mis amigos, Juan Pablo Rivas Luna y Jesús Gerardo Mendoza Reyes, por haberme brindado su amistad y haberme ayudado a establecer el experimento de este proyecto de investigación.

DEDICATORIA

A Dios por mantenerme con salud y darme fortaleza y sabiduría en todo momento en el que lo he necesitado.

A mis padres, Juan Antonio Álvarez Barrios y Belén Rivas Rodríguez por ser las personas más importantes que tengo en la vida, y por el gran esfuerzo que han realizado para sacar adelante a todos sus hijos y darnos la oportunidad de tener una carrera universitaria y por los valores que me han inculcado.

A mis hermanas Estefanía, Belén, Natalia y a mi hermano Luis Antonio, que son una pieza fundamental en mi vida y cada uno me ha enseñado algo en la vida a pesar de los buenos o malos momentos.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 OBJETIVOS	3
1.1.1 Objetivo general	3
1.1.2 Objetivos específicos.....	3
1.2 HIPÓTESIS.....	3
2 REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Antecedentes de la especie en estudio.....	4
2.2 Dinámica poblacional de tallos.....	7
2.3 Factores que afectan la producción de materia seca	9
2.3.1 Meristemas de crecimiento	9
2.3.2 Reservas de carbohidratos	9
2.3.2 Condiciones de suelo	9
2.3.3 Humedad.....	10
2.3.4 Temperatura.....	10
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
3.1 Área de estudio.....	11
3.2 Manejo y diseño experimental	12
3.3 Determinación de la dinámica poblacional de tallos.....	13
3.3.2 Tasa de Aparición de Tallos o ahijamiento (TATa)	13
3.3.3 Tasa de Muerte de Tallos (TMTa).....	13
3.3.4 Tasa de sobrevivencia de tallos (TSTa).....	14
3.4 Rendimiento de materia seca (RMS)	14

3.5 Altura de la planta	15
3.6 Análisis estadístico	15
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
4.1 Tasa de aparición de tallos	16
4.2 Tasa de mortalidad de tallos.....	18
4.3 Tasa de sobrevivencia de tallos.....	21
4.3 Rendimiento de materia seca	24
4.4 Altura de planta	27
5 CONCLUSIONES	30
6 LITERATURA CITADA	31
7 ANEXOS	40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de <i>Lotus corniculatus</i> L.	4
Cuadro 2. Tasa de Aparición de Tallos (TATa) posterior a la aplicación de diferentes fertilizantes en <i>Lotus corniculatus</i> L.	40
Cuadro 3. Mortalidad de Tallos (TMTa) posterior a la aplicación de diferentes fertilizantes en <i>Lotus corniculatus</i> L.	41
Cuadro 4. Tasa de Supervivencia de Tallos (TST) posterior a la aplicación de diferentes fertilizantes en <i>Lotus corniculatus</i> L.	42
Cuadro 5. Rendimiento de Materia Seca (g planta ⁻¹) posterior a la aplicación de diferentes fertilizantes en <i>Lotus corniculatus</i> L.	43
Cuadro 6. Altura de planta posterior a la aplicación de diferentes fertilizantes en <i>Lotus corniculatus</i> L.	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Componentes morfológicos de <i>Lotus corniculatus</i> L. (Mentz y Ostenfeld, 1917).....	6
Figura 2. Países con más de 100 mil hectáreas con especies de <i>Lotus</i> , el área de siembra se representa en miles de hectáreas (Díaz et al., 2005).	7
Figura 3. Medias semanales de humedad y temperatura, temperatura máxima y mínima, registradas por higrómetro digital en el invernadero de RNR UAAAN Saltillo durante el periodo estudiado (16 de agosto a 05 de diciembre 2023).	11
Figura 4. Tasa de Aparición de Tallos (TATa) en <i>Lotus corniculatus</i> L., por efecto de cinco fertilizantes y un testigo	17
Figura 5. Tasa de Mortalidad de Tallos (TMTa) en <i>Lotus corniculatus</i> L., por efecto de cinco fertilizantes y un testigo	20
Figura 6. Tasa de Supervivencia de Tallos (TSTa) en <i>Lotus corniculatus</i> L., por efecto de cinco fertilizantes y un testigo	23
Figura 7. Rendimiento de Materia Seca (RMS) en <i>Lotus corniculatus</i> L., por efecto de cinco fertilizantes y un testigo	26
Figura 8. Altura de Planta (AP) en <i>Lotus corniculatus</i> L., por efecto de cinco fertilizantes y un testigo	28

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de diferentes fuentes de fertilizantes, sobre la dinámica poblacional de tallos en *Lotus corniculatus* L. Se realizaron evaluaciones semanales desde los 7 a los 77 días después del trasplante (DDT). Los factores evaluados fueron: días después del trasplante y aplicación de fertilizantes como, diferentes dosis de nanopartículas de óxido de zinc (NPs de ZnO), micronutrientes, trehalosa y un testigo (plantas sin fertilizar). Los tratamientos fueron distribuidos en un diseño de bloques completamente al azar, con diez repeticiones (planta individual), totalizando un total de 60 unidades experimentales. Las variables evaluadas fueron: tasa de aparición de tallos (TATa), tasa de mortalidad de tallos (TMTa), tasa de sobrevivencia de tallos (TSTa), rendimiento de materia seca (RMS) y altura de la planta (AP). Los datos fueron analizados mediante el procedimiento lineal general (MLG). Cuando los análisis mostraron diferencias significativas se realizó una comparación de medias con la prueba Tukey ($p < 0.05$) utilizando el programa SAS. Dentro de los resultados, no se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos en la dinámica poblacional de tallos, rendimiento de materia seca y altura de planta ($p < 0.05$), pero si entre días después del trasplante, y entre componentes del rendimiento ($p < 0.05$). Las mayores tasas se registraron a los 14, 7 y a partir de los 56 DDT, para la TATa, TMTa y TSTa, con valores 46, 45 y 86 %, respectivamente. En contraste, los menores valores para la TATa y TMTa, se presentaron a los 77 DDT, con 28 y 11%, y a los 7 DDT para la TSTa con 57 %. Entre componentes, la hoja fue el que mayor aporte al RMS con un promedio de 2.12 g MS planta⁻¹, seguido por el tallo y raíz con 1.82 y 1.67 g MS planta⁻¹, respectivamente. En conclusión, la fuente de fertilizante no tuvo efecto sobre la dinámica poblacional de tallos de *Lotus corniculatus* L., pero si, el tiempo después del trasplante, la cual modificó las tasas de tasa de aparición, muerte y sobrevivencia de tallos y el rendimiento de materia seca y sus componentes morfológicos.

Palabras clave: *Lotus corniculatus*, dinámica poblacional de tallos, micronutrientes, nanopartículas de zinc, trehalosa.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the application of different fertilizer sources on the population dynamics of stems in *Lotus corniculatus* L. Weekly assessments were performed from 7 to 77 days post-transplant (DDT). The factors evaluated were: days after transplantation and application of fertilizers such as different doses of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs), micronutrients, trehalose and a control (unfertilized plants). The treatments were distributed in a completely randomized block design, with ten replicates (individual plant), totaling a total of 60 experimental units. The variables evaluated were: stem emergence rate (TATa), stem mortality rate (TMTa), stem survival rate (TSTa), dry matter yield (RMS) and plant height (AP). The data were analyzed using the general linear procedure (GLM). When the analyses showed significant differences, a comparison of means was made with the Tukey test ($p < 0.05$) using the SAS program. Within the results, there were no statistical differences between treatments in stem population dynamics, dry matter yield and plant height ($p < 0.05$), but between days after transplantation, and between performance components ($p < 0.05$). The highest rates were recorded at 14, 7 and from 56 DDT, for TATa, TMTa and TSTa, with values of 46%, 45 and 86 %, respectively. In contrast, the lowest values for TATa and TMTa were presented at 77 DDT, with 28 and 11%, and at 7 DDT for TST with 57%. Among components, the leaf was the one that contributed the most to the RMS with an average of 2.12 g DM plant⁻¹, followed by the stem and root with 1.82 and 1.67 g DM plant⁻¹, respectively. In conclusion, the source of fertilizer did not have an effect on the population dynamics of *Lotus corniculatus* L. stems, but the time after transplantation did, which modified the rates of occurrence, death and survival of stems and the yield of dry matter and its morphological components.

Keywords: *Lotus corniculatus*, stem population dynamics, micronutrients, zinc nanoparticles, trehalose.

I. INTRODUCCIÓN

El género *Lotus* cuenta con alrededor de 200 especies anuales y perennes, siendo el trébol pata de pájaro (*Lotus corniculatus* L.) la más importante de este género, ya que cuenta con un alto valor nutritivo (Gatarić *et al.*, 2013), además, tiene una buena producción de forraje de alta calidad, el cual puede utilizarse en ensilaje, heno o consumo en verde. Cabe destacar, que *Lotus corniculatus* L., posee taninos condensados que impiden el timpanismo en rumiantes y elude que las proteínas sean degradadas en el rumen (Álvarez *et al.*, 2018), siendo esta una de sus características principales, además de que su calidad nutritiva es similar a la de la alfalfa (*Medicago sativa* L.) y a la del trébol blanco (*Trifolium repens* L.) (García y Steiner, 2003). El *Lotus corniculatus* L., tiene una distribución a lo largo de las regiones templadas de Europa, Asia Menor, Norte de África y Sudamérica (Gunn *et al.*, 1992).

Por otro lado, el uso de nanopartículas (NPs) en concentraciones adecuadas puede llegar a tener efectos positivos sobre la germinación de semillas, en el crecimiento, rendimiento y la resistencia de las plantas (Zhu, *et al.*, 2020), además, tienen una mayor eficiencia en comparación con el uso de otros fertilizantes (Lira Saldívar *et al.*, 2023). El zinc es un nutriente esencial de gran importancia para las plantas, ya que está presente en diversos procesos fisiológicos en las plantas como en la síntesis de proteínas y carbohidratos, en el crecimiento y desarrollo de las plantas y ofrece resistencia a estrés biótico y abiótico (Subbaiah *et al.*, 2016), aumenta la biodisponibilidad y la absorción de micronutrientes en las plantas, está presente en la biosíntesis de la clorofila y participa en diversos procesos metabólicos (Vargas-Martínez *et al.*, 2023).

En cuanto a los micronutrientes, están presentes en pequeñas cantidades en los tejidos vegetales. La aplicación de los micronutrientes en la planta puede ser a través del suelo, foliar e incluso combinada, al realizar la aplicación en el suelo aumenta el contenido de estos en la planta (Izydorczyk *et al.*, 2020). La mayoría de estos micronutrientes están relacionados en procesos como la fotosíntesis y la síntesis

de clorofila (Torri *et al.*, 2014), además, funcionan como activadores de enzimas y hormonas que ayudan a reducir el estrés biótico y abiótico, además, regulan el crecimiento y desarrollo de las plantas (Izydorczyk *et al.*, 2020). A su vez, las concentraciones de micronutrientes en forrajes varía debido a factores ambientales y fisiológicos de la planta. Además, se ha demostrado que las leguminosas poseen mayores cantidades de cobre y zinc que las gramíneas forrajeras (Lindström *et al.*, 2012).

Por otra parte, en la actualidad se ha comprobado que los azúcares como la glucosa, la sacarosa y la fructosa no solamente influyen en el crecimiento de las plantas, sino que también están presentes en los cambios de expresión génica (Ibrahim y Abdellatif, 2016). La trehalosa es un disacárido no reductor de la glucosa, con la capacidad de estabilizar las estructuras biológicas, proteínas y lípidos de las membranas celulares bajo deficiencia hídrica (Lou *et al.*, 2010), además, actúa como una molécula osmoprotectora (Hernández-Bernal *et al.*, 2022). A pesar de encontrarse en plantas en pequeñas cantidades, desempeña un papel importante en los procesos importantes. Además, se ha reportado que al aplicar trehalosa exógenamente es fácilmente absorbida por tejidos de las hojas y raíces para transportarla a otras partes de la planta (Ali y Ashraf, 2011).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de diferentes fuentes de fertilizantes en la dinámica poblacional de tallos y producción de materia seca de *Lotus corniculatus L.*, días después del trasplante.

1.1.2 Objetivos específicos

- Calcular las tasas de aparición, mortalidad y sobrevivencia de tallos por efecto de cinco fertilizantes sobre *Lotus corniculatus L.*, en condiciones semicontroladas de invernadero.
- Determinar el rendimiento de materia seca total de *Lotus corniculatus L.*, desde los 7 hasta los 77 días después del trasplante, por efecto de la aplicación de fuentes de micronutrientes.
- Evaluar el efecto de la aplicación de las fuentes de fertilización sobre la producción de materia seca total de *Lotus corniculatus L.*, desde los 7 hasta los 77 días después del trasplante.

1.2 HIPÓTESIS

- Al menos uno de las fuentes de fertilizantes y los días después del trasplante afectará la dinámica poblacional de tallos, y producción de materia seca de *Lotus corniculatus L.*
- El componente morfológico de la hoja obtendrá un mayor aporte al rendimiento de materia seca seguido por el tallo y raíz en todos los tratamientos.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes de la especie en estudio

El *Lotus corniculatus* L., pertenece a la familia de las fabáceas (leguminosas), una especie nativa de Europa (Canals *et al.*, 2009). Actualmente se encuentra distribuida principalmente en Estados Unidos, Argentina y Chile (Castillo-Cabrera *et al.*, 2022). También conocido como trébol pata de pájaro, que se extiende desde Europa hasta Asia y el norte de África (Gauthier *et al.*, 1997). En el Cuadro 1, se presenta la información de la taxonomía de la especie de *Lotus corniculatus* L.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Lotus corniculatus* L.

Reino	<i>Plantae</i>
Phylum o División	<i>Tracheophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Fabales</i>
Familia	<i>Leguminosae</i>
Genero	<i>Lotus</i>
Especie	<i>corniculatus</i>
Nombre científico	<i>Lotus corniculatus</i> L.

Fuente: IBUNAM (2011).

Entre las principales características morfológicas de la especie en estudio y se ilustran los componentes morfológicos y reproductivos del género *Lotus* en la Figura 1.

Raíz: Pivotante con numerosas raíces laterales, además, tiene una gran capacidad para estabilizar suelos por su raíz pivotante, estolonífera y fibrosa (Dougall, 1973).

Tallo: Miden aproximadamente 50 cm y son macizos, su crecimiento varía ya que puede ser erecto decumbente o postrados, por otra parte, su hábito de crecimiento es a partir de una corona de la cual emergen los rebrotes que dan origen a nuevos tallos (Silveira, 2011).

Hojas: Son pentafoliadas, de las cuales dos de ellos son basales y tres apicales digitadas, son imparipinadas, los tres folíolos superiores ovados y los inferiores ovales, además se asemejan a una estípula. Las hojas emergen desde puntos de crecimiento ubicados en los cotiledones, lo que permite diferenciarla de los géneros *Medicago* y *Trifolium* (Ayala y Carámbula, 2009)

Inflorescencia: Son en forma de umbelas, compuestas de 1 a 12 flores sostenidas por un pedúnculo floral insertado en las axilas de las hojas superiores de los tallos (Canals *et al.*, 2009). Son de color amarillo brillante y en ocasiones se pueden presentar teñidas de rojo (Heuzé *et al.*, 2016)

Fruto: son vainas de 2.5 cm aproximadamente que crecen en ángulo recto (Heuzé *et al.* 2016), tiene la forma característica de una pata de pájaro (carácter del cual toma su nombre común en inglés: “birdsfoot trefoil”). Contiene de 10 a 30 semillas y tiene un alto grado de dehiscencia en la madurez, retorciéndose en forma espiral, especialmente cuando su humedad es inferior al 40% (Miñón *et al.*, 1990).

Semilla: Es redonda de 1 a 1.5 mm de diámetro, de color marrón a veces punteadas de violeta (Miñón *et al.*, 1990). Comparativamente son más grandes que los demás géneros de *Lotus* (Ayala y Carámbula, 2009).

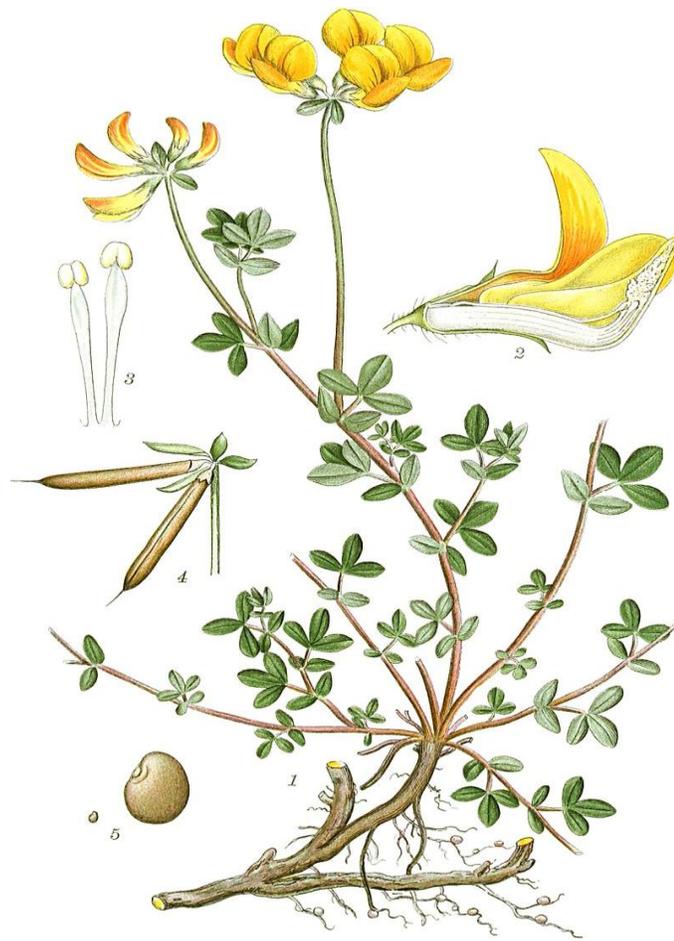


Figura 1. Componentes morfológicos de *Lotus corniculatus* L. (Mentz y Ostenfeld, 1917).

El género *Lotus* cuenta con una distribución mundial excepto en regiones que son muy frías, además de algunas áreas tropicales del sudeste asiático y América central (Escaray *et al.*, 2012). Las principales regiones en las que el *Lotus corniculatus* L., se explota para usos agronómicos son América del Sur (1.85 Millones de Ha), América del Norte (1.39 Millones de Ha) y Europa (1.38 millones de Ha) (Escaray *et al.*, 2012). El 95 % de las especies de *Lotus* que se siembran, se concentran en solamente 10 países, y dentro de las especies de este género, el 90 % corresponde a *Lotus corniculatus* L. (Díaz *et al.*, 2005). Por sus atributos agronómicos, se han empezado a utilizar especies de *Lotus* para dar solución a la mejora del heno y de los pastos donde otras especies de leguminosas no son adecuadas (Papadopulous y Kelman, 1999).



Figura 2. Países con más de 100 mil hectáreas con especies de *Lotus*, el área de siembra se representa en miles de hectáreas (Díaz *et al.*, 2005).

2.2 Dinámica poblacional de tallos

El rebrote del forraje es considerado como el tiempo que tarda la planta en recuperar la biomasa perdida después de la defoliación, de tal manera que es importante conocer la fenología de la planta, ya que, permite decretar la mejor frecuencia de la cosecha y con ello obtener una mayor producción de forraje de alta calidad (Montes *et al.*, 2016). Del mismo modo, la tasa de aparición de hojas juega un papel importante debido a la gran influencia que tienen en la densidad de macollos y número de hojas por macollo (Hernández *et al.*, 2000). La subsistencia de las praderas depende en gran medida de la capacidad de la planta para mantener la densidad poblacional de los tallos y la capacidad para renovar los tallos muertos, y que junto con factores estacionales están relacionados con la aparición, muerte y supervivencia de tallos (Ramírez *et al.*, 2011).

La dinámica de ahijamiento de tallos es determinada por ciertos factores como la etapa de desarrollo, el fotoperiodo, la temperatura, intensidad de luz y la disponibilidad de agua y nutrientes (de Carvalho *et al.*, 2006). También, Ramírez *et al.*, (2011), menciona que los rebrotes de tallos pueden presentar variación en la tasa de aparición y muerte de tallos dependiendo del manejo a la pradera. La sobrevivencia de la planta depende de la capacidad de renovar los tallos muertos y de mantener la densidad de tallos (Ramírez *et al.*, 2011). Por lo tanto, para poder lograr la estabilidad de la población de tallos es importante conocer la tasa de mortalidad y de aparición de tallos (Ramírez *et al.*, 2020).

También, es importante conocer la dinámica de tallos a lo largo del tiempo, para aumentar la eficiencia de utilización, y asegurar la sobrevivencia de las plantas como respuesta a ciertas condiciones ambientales: temperatura, precipitación, sequías, radiación solar, entre otros (Lucio *et al.*, 2023). Cuando se presentan temperaturas cercanas al óptimo se favorece el crecimiento de las plantas, mientras que, cuando se presentan temperaturas por debajo del umbral mínimo se limita el crecimiento y con temperaturas mayores al nivel óptimo pueden ser perjudiciales esto combinado sino se tiene humedad suficiente en el suelo (Orozco *et al.*, 2012).

En el caso de las leguminosas, las yemas juegan un papel importante, ya que son responsables del nuevo crecimiento se encuentran en la corona en la base de los tallos, lo que ayuda a las plantas a mantener condiciones productivas durante años (Olivares, 2009). Todavía más, el crecimiento de los rebrotes depende del agua absorbida por la raíz y la disponibilidad de fotosintatos para el rebrote (Ramazan, 2020), además, las reservas de carbohidratos influyen en la velocidad del crecimiento de las plantas para la formación tanto de órganos aéreos como subterráneos (Olivares, 2009). Aparte, los contenidos de materia seca y de proteína cruda en las plantas forrajeras, comienzan a disminuir conforme van aumentando la edad de los rebrotes por lo que ocasiona una disminución en tallos y hojas conforme aumenta su estado de madurez (Fomoso, 1993).

2.3 Factores que afectan la producción de materia seca

2.3.1 Meristemas de crecimiento

Los meristemas de crecimiento son tejidos embrionarios que están formados a partir de células diferenciadas las cuales poseen la capacidad de originar tejidos y órganos especializados, por medio de divisiones continuas, para dar origen al rebrote (Briske, 1991). La mayoría de los meristemas se ubican próximas a la corona de la planta, por lo que al realizar cortes sobre los 5 cm el desarrollo de los rebrotes es más rápido, por lo tanto, la respuesta de la planta después del corte o pastoreo depende de la cantidad de yemas disponibles (Soto, 2000).

2.3.2 Reservas de carbohidratos

Las reservas de carbohidratos están conformadas por azúcares y almidón, que se acumulan en la raíz y corona de las plantas, los cuales los va a utilizar para la producción de rebrotes y otros procesos fisiológicos (Soto, 2000), de esta manera, el uso de los carbohidratos de reserva durante el crecimiento de los rebrotes van a variar dependiendo de las condiciones ambientales, la capacidad fotosintética de las hojas remanentes y la capacidad de la planta para reanudar su crecimiento (Maroso *et al.*, 2007).

2.3.2 Condiciones de suelo

El *Lotus corniculatus* L. se aclimata a una gran diversidad de condiciones de suelo, los cuales incluyen suelos ácidos y alcalinos, además de suelos con baja fertilidad (Putnam y Orloff, 2014), tolera suelos con pH de entre 5.5 y 7.5 (Canals *et al.*, 2009). Se debe agregar que, a pesar de que el *Lotus corniculatus* se adapta a suelos pobres, requiere contar con cantidades adecuadas de fósforo y potasio para lograr un crecimiento óptimo (Seaney y Henson, 1970).

2.3.3 Humedad

En diversos estudios se ha comprobado que la poca humedad en el suelo es un factor que influye en la germinación y el establecimiento del *Lotus Corniculatus* (Hunt *et al.*, 2015). Además, se menciona que posee una amplia adaptabilidad, ya que puede tolerar la sequía, además puede desarrollarse en lugares con precipitación media anual de los 650 – 1000 mm (Ayres *et al.*, 2006).

2.3.4 Temperatura

Al ser de origen europeo, el género *Lotus* se adapta a climas templados y fríos, aunque también puede desarrollarse en latitudes del trópico (García-Bonilla *et al.*, 2014). A su vez, el *Lotus corniculatus* tolera las altas temperaturas y se ha demostrado que presenta un mejor crecimiento en temperaturas entre los 13 y 25 °C (Blumenthal y McGraw, 1999), mientras que la temperatura óptima para su crecimiento es de 22 °C (Álvarez-Vázquez *et al.*, 2018).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Área de estudio

El experimento se realizó durante las estaciones de verano-otoño, del 21 de agosto al 05 de diciembre de 2023, en las instalaciones del invernadero de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Las condiciones ambientales dentro del invernadero se registraron con un higrómetro digital modelo WS08 el cual se colocó a dos metros de altura del suelo. Las mayores temperaturas registradas fueron de 33 °C y las menores de 4 °C, con un promedio de 19 °C. Mientras que la humedad promedio fue de 66 % con un máximo de 86 % (Figura 3).

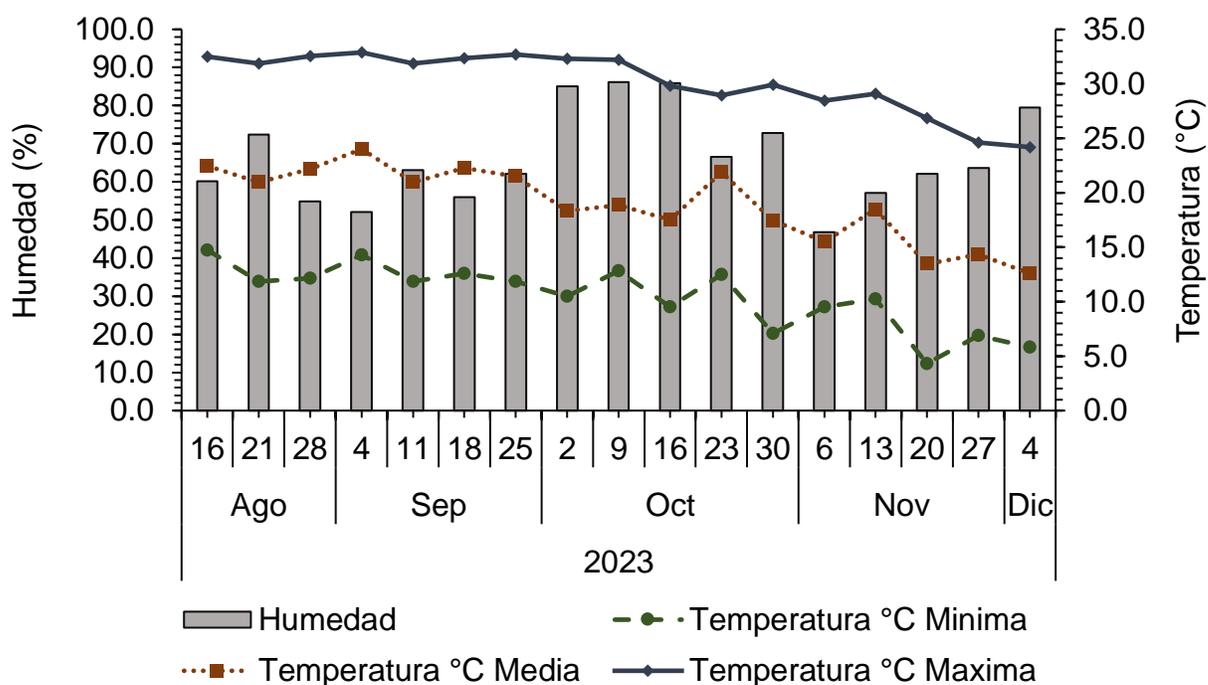


Figura 3. Medias semanales de humedad y temperatura, temperatura máxima y mínima, registradas por higrómetro digital en el invernadero de RNR UAAAN Saltillo durante el periodo estudiado (16 de agosto a 04 de diciembre 2023).

3.2 Manejo y diseño experimental

Se utilizaron plantas del genotipo 255301 de *Lotus corniculatus* L., establecidas previamente por reproducción vegetal mediante trasplante en bolsas negras de plástico con capacidad de 1.5 kg, con medidas de 10 x 21 cm de ancho x largo, con un periodo de adaptación de dos semanas. Posteriormente fueron trasplantadas a macetas de plástico de capacidad de 10 kg con suelo típico de la región cuyas características fueron de una textura migajón arcilla-arenoso, con pH de 7.38 y un porcentaje de materia orgánica del 3.026 %. Las unidades experimentales se regaron diariamente a capacidad de campo y mensualmente se aplicaron los tratamientos: Tratamiento 1 (T1): nanopartículas (NPs de ZnO) a 50 mg planta⁻¹, Tratamiento 2 (T2): NPs de ZnO a una dosis de 250 mg planta⁻¹, Tratamiento 3 (T3): NPs de ZnO a 500 mg planta⁻¹, Tratamiento 4 (T4): dosis de 5 g planta⁻¹ de una fuente de micronutrientes de la fuente UltraSol micro®, Tratamiento 5 (T5): dosis de 5 g planta⁻¹ de Trehalosa Complejo Mineral® y un testigo (T6) al cual no se le aplicó ninguna fertilización más que solo riego. Posteriormente, a los tratamientos con NPs de zinc, en la segunda aplicación de tratamientos se les aplicó una dosis de 500 mg de NPs de hierro vía foliar, por la observación de deficiencia. En todos los tratamientos los productos fueron disueltos en 1 L de agua y aplicados a una dosis de 1 L para los tratamientos con NPs de zinc, además de 10 ml de NPs de hierro planta⁻¹ día⁻¹ y 11.1 ml planta⁻¹ día⁻¹, para el T4 y T5. La aplicación de los tratamientos fueron el 15 y 16 de septiembre del 2023.

El diseño experimental fue en bloques completamente al azar con diez repeticiones para cada tratamiento, totalizando 60 unidades experimentales. Los muestreos se realizaron durante once semanas después del trasplante. El inicio de las evaluaciones fueron el día el 21 de septiembre de 2023, contabilizando: números de rebrotes (NR), número de tallos vivos (NTV), números de tallos muertos (NTM), y altura de planta (AP). Al día 05 de diciembre de 2023, final de las evaluaciones, se realizó la destrucción de las unidades experimentales para evaluar rendimiento de materia seca y composición morfológica.

3.3 Determinación de la dinámica poblacional de tallos

Con los datos obtenidos semanalmente de cada unidad experimental de NTV, NTM y NR, por unidad experimental, se calculó la densidad poblacional de tallo, mediante la siguiente fórmula:

$$DPTa = NTV + NR$$

Donde:

DPTa= Densidad poblacional de tallos (No. de tallos vivos en cada muestreo)

NTV= Número de Tallos Vivos

NR = Número de Rebrotos

Con los cálculos de DPTa, se calcularon las siguientes tasas o índices de sobrevivencia:

3.3.2 Tasa de Aparición de Tallos o ahijamiento (TATa)

Se determinó dividiendo el Número de Rebrotos (NR) entre la Densidad Poblacional de Tallos (DPTa), lo anterior multiplicando por 100. Se utilizó la fórmula:

$$TATa = \frac{NR}{DPTa} * 100$$

Donde:

TATa= Tasa de Aparición de Tallos o ahijamiento

NR= Número de Rebrotos en cada muestreo

DPTa= Densidad Poblacional de Tallos anterior

3.3.3 Tasa de Muerte de Tallos (TMTa)

Se determinó dividiendo el número de tallos muertos (NTM) entre la densidad poblacional de tallos multiplicado por 100. Con la fórmula:

$$TMTa = \frac{NTM}{DPTa \text{ anterior}} * 100$$

Donde:

TMTa= Tasa de muerte de tallos

NTM= Número de tallos muertos

DPTa= Densidad poblacional de tallos anterior

3.3.4 Tasa de sobrevivencia de tallos (TSTa)

Se calculó haciendo una resta usando 100 como tasa inicial menos la tasa de muerte de tallos (TMTa), usando la fórmula:

$$TSTa = 100 - TMTa$$

Donde:

TSTa= Tasa de supervivencia de tallos

TMTa= Tasa de muerte de tallos

3.4 Rendimiento de materia seca (RMS)

Al finalizar con el experimento se destruyeron todas las plantas de cada tratamiento, y fueron separadas en cada componente morfológico: hoja, tallo y raíz, para posteriormente ser colocado en bolsas de papel previamente etiquetadas, y ser secadas en la estufa de aire forzado marca Felisa (FE-243A) a una temperatura de 55 °C durante 48 horas. Cuando se alcanzó el peso constante, se registró el peso individual de materia seca de cada componente mediante una báscula analítica marca Adventure™Pro modelo Ohaus, de esta forma se determinó la producción de materia seca por planta (gr MS planta⁻¹).

3.5 Altura de la planta

Para el proceso de medición de altura de cada unidad experimental, se tomó semanalmente las alturas utilizando una regla graduada de 30 cm. Cabe destacar que la medición se realizó colocando la regla desde la base de cada planta, garantizando así una evaluación consistente y precisa de la variable en consideración.

3.6 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza, con un diseño experimental con bloques completamente al azar con diez repeticiones, con el procedimiento modelo lineal general (MLG), utilizando el programa estadístico SAS para Windows versión 9.0 (SAS Institute, 2011). Cuando se encontró diferencias significativas se realizó una comparación de medias con la prueba Tukey ($p < 0.05$).

Se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Valor de la variable de respuesta en el tratamiento i , repetición j

μ = Media general de la población estudiada

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

β_i = Efecto del i -ésimo bloque

ϵ_{ij} = Error estándar de la media

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Tasa de aparición de tallos

En la Figura 4, se presentan las tasas de aparición de tallos (TATa) de *Lotus corniculatus* L., por efecto de la aplicación de cinco diferentes fertilizantes y un testigo. No se registraron diferencias en la TATa por efecto de la fertilización con diferentes fuentes ($p>0.05$), pero si diferencias significativas en los días después del trasplante ($p<0.05$). En la comparación de los promedios de los tratamientos entre días de trasplante se registró la mayor TATa a los 14 días después del trasplante, con una tasa de 46 % y menores a los 42, 49, 56, y 77 DDT con tasas entre 24 y 27 %. De la misma forma, dentro de cada tratamiento las mayores TATa se registraron a los 14 DDT, con valores entre 48 y 52 %. En la comparación entre tratamientos no se presentaron diferencias estadísticas ($p>0.05$), con un promedio de 29 %, la mayor TATa se presentó en el T4 con 35 % mientras que la menor se observó en el T3 y TT con 25 %. Únicamente, a los 28 y 56 DDT se presentaron diferencias entre tratamientos el T2 y T3, a excepción del T1 que acompaña al T2 y T3 a los 28 DDT ($p<0.05$).

En un estudio realizado por Wang *et al.* (2020) menciona que al aplicar concentraciones altas de nanopartículas de zinc puede llegar a tener un efecto negativo en la altura de planta y producción de los nuevos tallos en alfalfa. Por su parte, otros autores coinciden en que la incidencia de luz actúa sobre la activación del rebrote causando un aumento en la producción de tallos, presentando diferencias en la población total de tallos, de acuerdo a la estación del año, reportando mayores tasas de aparición de tallos en verano e invierno (Difante *et al.*, 2008). Además, en diversos estudios se ha comprobado una rápida formación de tallos nuevos después de defoliaciones frecuentes debido a la entrada de luz a nivel de la corona y activación de meristemas basales (Castro *et al.*, 2013). Por lo anterior, si bien no se observaron diferencias entre tratamientos, algunos autores sugieren que es importante tomar en cuenta las concentraciones de NPs aplicadas, así como las propiedades de suelo: tipo de suelo, materia orgánica, salinidad, humedad, entre otros.

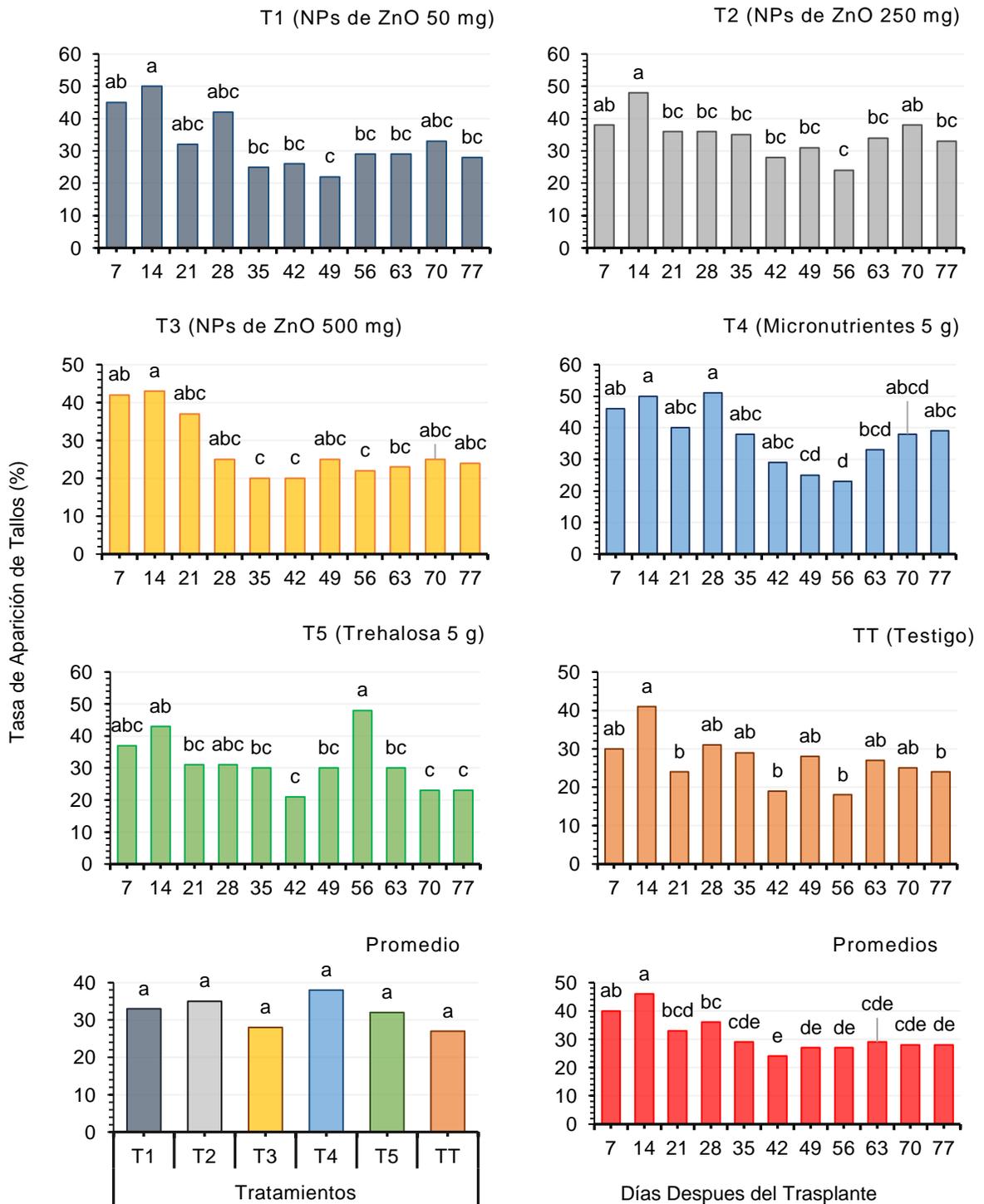


Figura 4. Tasa de Aparición de Tallos (TATa) en *Lotus corniculatus* L., por efecto de la aplicación (mg y g planta⁻¹) de cinco fuentes de fertilizantes y un testigo. NPs= Nanopartículas. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente ($p > 0.05$).

En un trabajo realizado por Du *et al.* (2009), en alfalfa encontraron que el boro y el molibdeno, aumentaron el número de tallos, alcanzaron su madurez fisiológica y produjeron semilla. Por otro lado, Baligar *et al.* (2007) mencionan que la producción de tallos y desarrollo de raíces depende de la capacidad de la planta para absorber y utilizar los nutrientes del suelo. Por lo que, Fageria *et al.*, (2009) mencionan que la fertilización de micronutrientes a través del suelo, influyen en el desarrollo de rebrotes tallos en las plantas, y es más duradera, además, es más eficiente para aplicar tanto macro como microminerales, en comparación con la aplicación foliar que es solo temporal, aunque la aplicación en el suelo, su eficacia depende de la humedad del suelo.

En esta investigación, se encontró que la Trehalosa no influyó de manera significativa en la tasa de aparición de tallos, sin embargo, en otras investigaciones se ha especificado el papel que ejerce la Trehalosa en las plantas, pero no se ha reportado que influya en la tasa de aparición de tallos. No obstante, en un trabajo realizado por Ali y Ashraf, (2011) evaluaron la respuesta de la trehalosa en plantas de maíz con estrés hídrico, y encontraron que al aplicar una dosis de 30 mM aumentó el número de tallos nuevos. Por otro lado, Shao *et al.* (2022) menciona que la trehalosa mejora la germinación y posteriormente el desarrollo de rebrotes, debido a que mejora la asimilación del carbono, además de factores negativos causados por estrés en las plantas. Lunn *et al.* (2014), menciona que la trehalosa es esencial en la simbiosis rhizobium-leguminosa, permite una mayor formación de nódulos y mayor producción de biomasa, favoreciendo a una mejora en el metabolismo, aumento en el crecimiento y desarrollo de tallos.

4.2 Tasa de mortalidad de tallos

En la Figura 5, se aprecian las tasas de mortalidad de tallos del genotipo 255301 de *Lotus corniculatus* L., por el efecto de la aplicación de cinco fertilizantes diferentes y días después del trasplante. Se observaron diferencias estadísticas entre día después del trasplante ($p < 0.05$), dentro de cada tratamiento, y solo a los 28 DDT entre

tratamientos ($p < 0.05$). Comparando las medias de los DDT, se registró la mayor TMTa a los 7 DDT, con una tasa de 45 % y una menor a los 77 días con una tasa de 11 %. Así pues, dentro de cada tratamiento las mayores TMTa se registraron a los 7 DDT con las tasas 34, 34, 52, 53, 45 y 50 %, respectivamente de cada tratamiento. En la comparación de los promedios, entre tratamientos no se encontraron diferencias estadísticas ($p > 0.05$). Aunque, la mayor TMT se presentó en el T4 con un promedio de 28 %, mientras que, la menor se observó en el T2 y TT con 16 % en ambos tratamientos.

En un trabajo realizado Bandyopadhyay *et al.* (2015) en alfalfa, encontraron que al aplicar 500 mg/kg de nanopartículas de zinc, se presentó mayor reducción en la producción de biomasa en raíces y en el desarrollo de rebrotes, lo cual fue considerado como fitotóxico. También, Rout y Das, (2003) mencionan que superar una concentración crítica de zinc en la planta puede afectar su crecimiento ya que tienen dificultades para alcanzar la fase reproductiva o producción de flores. Jócsák *et al.* (2022) mencionan que el exceso de Zn produce inhibición del crecimiento, clorosis foliar y disminución de las tasas fotosintéticas como resultado de la toxicidad del metal.

Por otra parte, Fageria *et al.* (2002) mencionan que en cantidades superiores a las normales los micronutrientes pueden causar toxicidad, causando la muerte en los puntos de crecimiento y en raíces, decoloraciones en las hojas y disminución de la tasa fotosintética. Por otro lado, Dondas, (2006) menciona que la deficiencia de boro en la alfalfa causa que los entrenudos de crecimiento superiores se acorten, además, la muerte de los puntos de crecimiento y la reducción de la floración. Del mismo modo, Izydorczyk *et al.* (2020) menciona que los niveles más altos de los adecuados de micronutrientes en maíz pueden tener un efecto fitotóxico y afectar negativamente el desarrollo de las plantas como en la disminución de la longitud de raíces, menor número de brotes.

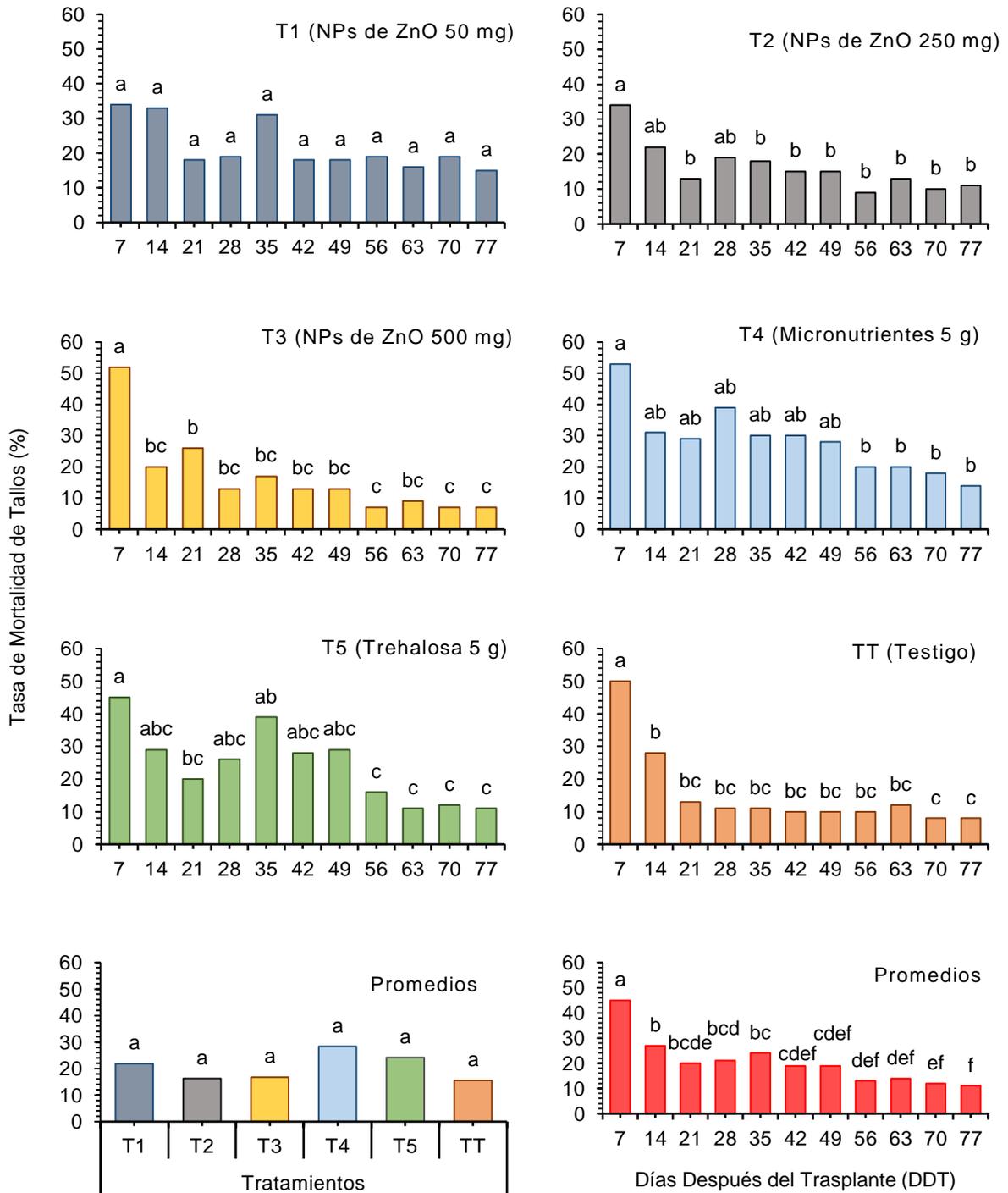


Figura 5. Tasa de Mortalidad de Tallos (TMTa) en *Lotus corniculatus* L., por efecto de la aplicación (mg y g planta⁻¹) de cinco fuentes de fertilizantes y un testigo. NPs= Nanopartículas. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente ($p>0.05$).

No obstante, en cuanto a la trehalosa, en un estudio realizado por Suárez *et al.*, (2009) en alfalfa transgénica, mencionan que el aumento relativamente alto de trehalosa puede tener efectos negativos en el crecimiento y desarrollo de la planta. De esta manera, Müller *et al.* (1995) mencionan que la aplicación de la trehalosa afecta los niveles de sacarosa y almidón, causando problemas en el metabolismo de los carbohidratos. Del mismo modo, Fernández *et al.* (2010) encontraron que la trehalosa en altas concentraciones puede inhibir el desarrollo y crecimiento de las plantas, debido a que se encuentra en concentraciones pequeñas en las plantas, esto podría indicar que es un soluto no compatible, por lo que se puede pensar que puede causar toxicidad en concentraciones altas en las plantas.

4.3 Tasa de sobrevivencia de tallos

En la Figura 6, se muestran las tasas de sobrevivencia de *Lotus corniculatus* L. genotipo 255301, con la aplicación de cinco fuentes de fertilizantes y un testigo. Se encontraron diferencias estadísticas entre días después del trasplante y entre tratamiento ($p < 0.05$). La comparación de los promedios entre DDT dentro de cada tratamiento, la mayor tasa de sobrevivencia se registró a partir de los 56 DDT con valores entre 83 y 86 % y una menor a los 7 DDT, con una tasa de 57 %. Los tratamientos del T3 al T5, tuvieron similar comportamiento a los promedios, con mayores valores a partir de los 56 DDT y menores a los 7 DDT. Para el caso del T2, las máximas TSTa, se centraron a partir de los 42 y a los 21 DDT, con valores entre 85 y 91 %, lo que numéricamente registro la mayor TSTa entre tratamientos. Recíprocamente, el T1 tuvo su mayor TSTa a los 7 DDT con 76 % y menor a los 35 con 59 % de tallos sobrevivientes, sobre la población total. Por otra parte, en la comparación de los promedios de los tratamientos de los DDT, no se presentaron diferencias estadísticas ($p > 0.05$). No obstante, a partir de los 56 DDT, si se registraron diferencias entre tratamientos ($p < 0.05$). Las mayores TATa se presentaron en el T3, con tasas entre 91 y 93 %, cuando se aplicaron 500 mg de NPs de zinc por planta. En contraste, una menor TSTa se registró en el T1, con valores entre 61 y 65 %, por lo

que no favoreció una mínima aplicación de NPs de ZnO (50 mg planta⁻¹), para una adecuada sobrevivencia de tallos.

Bandyopadhyay *et al.* (2015) menciona que el zinc acumulado en la planta en ciertas concentraciones puede ser crucial en el desarrollo de la planta, ya que puede actuar como un factor de desarrollo. Por otro lado, en un estudio realizado por Kareem *et al.* (2023) en plantas de alfalfa, encontraron que al aplicar 90 mg kg suelo⁻¹ de nanopartículas de zinc mezcladas con biocarbón, mejoraron la capacidad fotosintética de la planta, la apertura estomática, mejoró la tolerancia al estrés lo que facilitó los procesos de crecimiento y desarrollo en las plantas. Además, en otros estudios se ha demostrado que al aplicar dosis altas de nanopartículas de zinc tienen un efecto negativo en las plantas, en cambio, al aplicar concentraciones bajas puede ser benéfico (Raliya *et al.*, 2015). Esto se puede corroborar con los resultados obtenidos en este trabajo, ya que al aplicar 50 mg /L de nanopartículas de zinc hubo menos tasa de sobrevivencia de las plantas en comparación con los demás tratamientos.

Por otro lado, el desarrollo de las plantas a partir de la utilización de los micronutrientes les permite obtener mejores rendimientos, mejor adaptación a las condiciones ambientales y aumenta la resistencia a plagas y enfermedades (Fageria *et al.*, 2002). En un trabajo realizado por Mao *et al.* (2018) plantean que el molibdeno podría actuar en la tolerancia a la sequía, además mejorando el crecimiento y aumentando el rendimiento, debido a los factores climáticos como poca precipitación y altas temperaturas en alfalfa. A su vez, en un trabajo realizado por Du *et al.* (2009) en alfalfa, donde aplicaron una fertilización con boro, molibdeno y zinc, encontraron que no se vio afectada la fenofase, ni la germinación de las semillas de alfalfa, además, mencionan que el boro y molibdeno son críticos para el aumento de brotes y el número de racimos por brote.

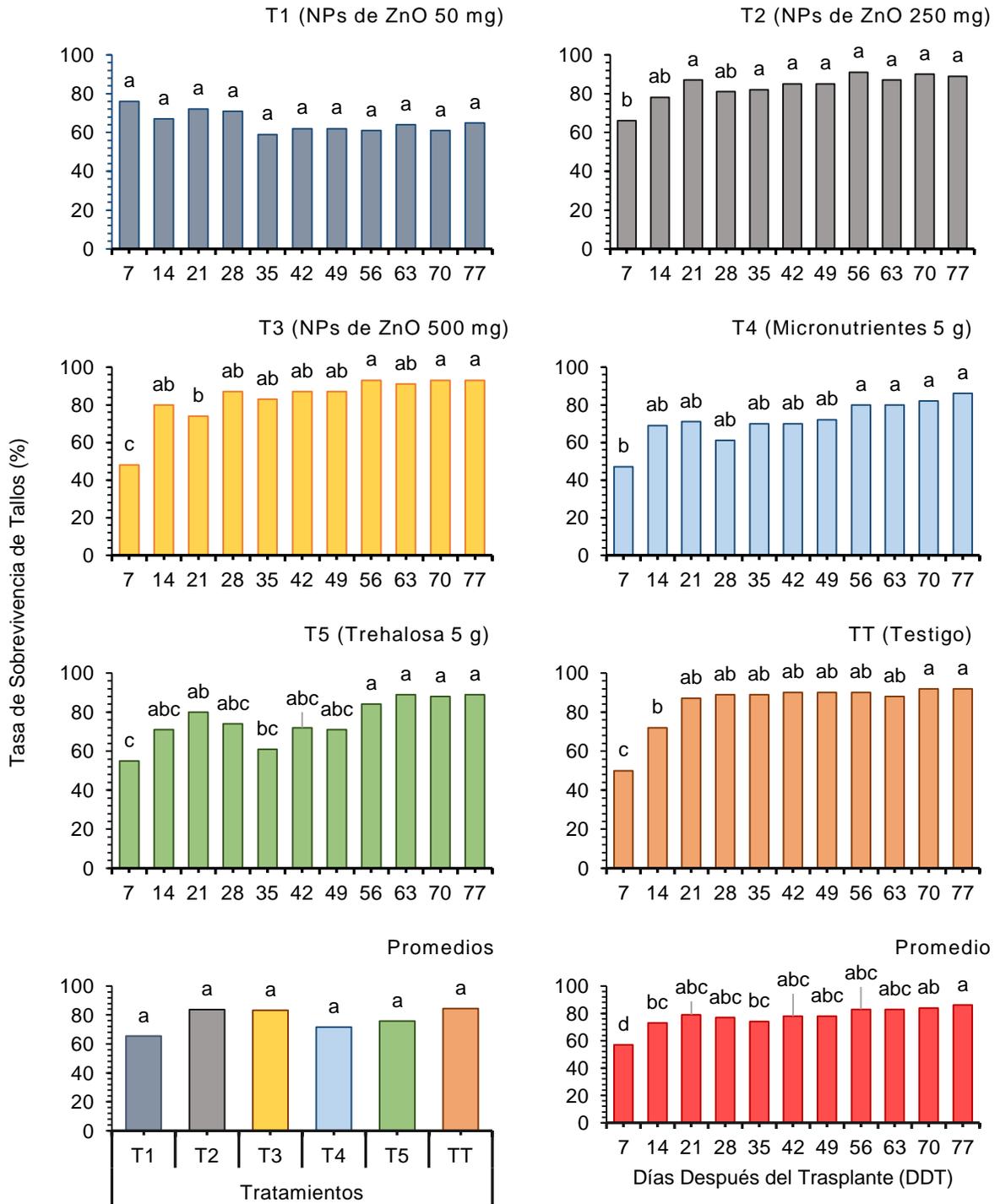


Figura 6. Tasa de Supervivencia de Tallos (TSTa) en *Lotus corniculatus* L., por efecto de la aplicación (mg y g planta⁻¹) de cinco fuentes de fertilizantes y un testigo. NPs= Nanopartículas. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente ($p > 0.05$).

A pesar de que se cuenta con poca información de la trehalosa sobre la tasa de sobrevivencia de tallos, se ha demostrado que el aumento de la trehalosa en las plantas mejora la tolerancia a estrés, por lo que desempeña un papel como osmoprotector (Ibrahim y Abdellatif, 2016). Así mismo, Fernández *et al.*, (2010) menciona que se ha detallado que la trehalosa funciona como un protector de membranas y biomoléculas de las plantas, en contra de los efectos desestabilizadores en condiciones de estrés. Del mismo modo, se ha demostrado que la aplicación de trehalosa mejora el crecimiento en condiciones de estrés en las plantas, ya que ayuda a mantener la integridad de las membranas, además mejora la eficiencia fotosintética y mejora la cantidad de agua, garantizando un mejor crecimiento en condiciones de estrés (Shao, *et al.*, 2022). De acuerdo con la información presentada en este párrafo, en esta investigación si se tuvo un efecto positivo en cuanto a la sobrevivencia de tallos.

4.3 Rendimiento de materia seca

En la Figura 7, se presentan los rendimientos de materia seca (g planta^{-1}) de *Lotus corniculatus* L. con el efecto de la aplicación de cinco fertilizantes diferentes y un testigo, al finalizar un periodo de crecimiento de 77 días. Se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$), entre componentes morfológicos y su aportación al rendimiento de materia seca. El componente hoja fue la que mayor aporte hizo al rendimiento total con un promedio de $2.1 \text{ g MS planta}^{-1}$. Entre los menores valores, en el tallo y la raíz no hubo diferencia estadística ($p > 0.05$), con 1.8 y $1.6 \text{ g MS planta}^{-1}$, respectivamente. Similar comportamiento a los promedios se registró en los tratamientos T3, T4, T5 y TT, sin embargo, en el T1 y T2, no se presentaron diferencias estadísticas entre componentes ($p > 0.05$).

En un estudio realizado por Venkatachalam *et al.* (2017) en *Leucaena leucocephala*, encontraron que al aplicar una concentración de 25 mg L de nanopartículas de zinc aumento en un 29.8% el rendimiento total de materia seca, respecto a un testigo. En este trabajo una aplicación de 50 mg de NPs de ZnO, fueron

suficientes para sobrepasar este aumento en porcentaje respecto al testigo, 42.71 % con respecto al testigo (Cuadro 5). Por otro lado, Klofac *et al.* (2023) en un estudio realizado en maíz, no encontraron un efecto significativo en la aplicación de nanopartículas de zinc sobre la materia seca en comparación con el control, sin embargo, al aplicar nanopartículas de zinc y trehalosa obtuvieron un incremento del 5.6 % en comparación con el control. En otro trabajo, realizado por Grewal y Williams, (2000) encontraron que una nutrición adecuada de zinc en alfalfa obtuvo un incremento significativo en la producción de materia seca tanto en la parte aérea de la planta como en raíces.

Aparte, en un trabajo realizado por Baligar *et al.* (1998), en maíz en labranza cero obtuvieron un mejor rendimiento y eficiencia en la absorción de nutrientes como N, P, Ca, S, Cu, Fe y Zn, lo que se vio reflejado en un aumento de rendimiento de materia seca en brotes y en raíces. Por su parte, Machado y Dávila, (1997) en alfalfa encontraron que, con la aplicación de macrominerales B, Mo, Co, Cu, Mn y Zn, aumento considerablemente la producción de materia seca. Heitholt *et al.* (2002) en plantas de soja, en cuanto a la producción de materia seca, observaron que con la fertilización con cobre obtuvieron un aumento significativo en la acumulación total de biomasa, mientras que, con la fertilización con manganeso y zinc, obtuvieron ligeramente un aumento en la biomasa. Klofac *et al.* (2023) en maíz aplicaron trehalosa mezclada con nanopartículas de zinc, encontraron que la aplicación pura de trehalosa no aumento significativamente en el peso de la materia seca, aunque presentó un aumento en un 1.5% la producción de materia seca con respecto al control. A su vez, en un estudio realizado por Ibrahim y Abdellatif, (2016), en trigo, encontraron que al aplicar 10 mM de trehalosa las plantas aumentaron el peso seco en comparación con plantas tratadas con maltosa con 1.60 y 1.48 g respectivamente. De igual manera, Zeid, (2009) en plantas de maíz con estrés salino tratadas con trehalosa encontró que al aplicar trehalosa aumentó significativamente tanto la materia fresca total, como en raíces y brotes. En este trabajo, el testigo tuvo mayor producción de materia seca, en comparación con el tratamiento cinco, en donde se aplicó Trehalosa, por lo que este disacárido no tuvo efectos positivos en el rendimiento de materia seca.

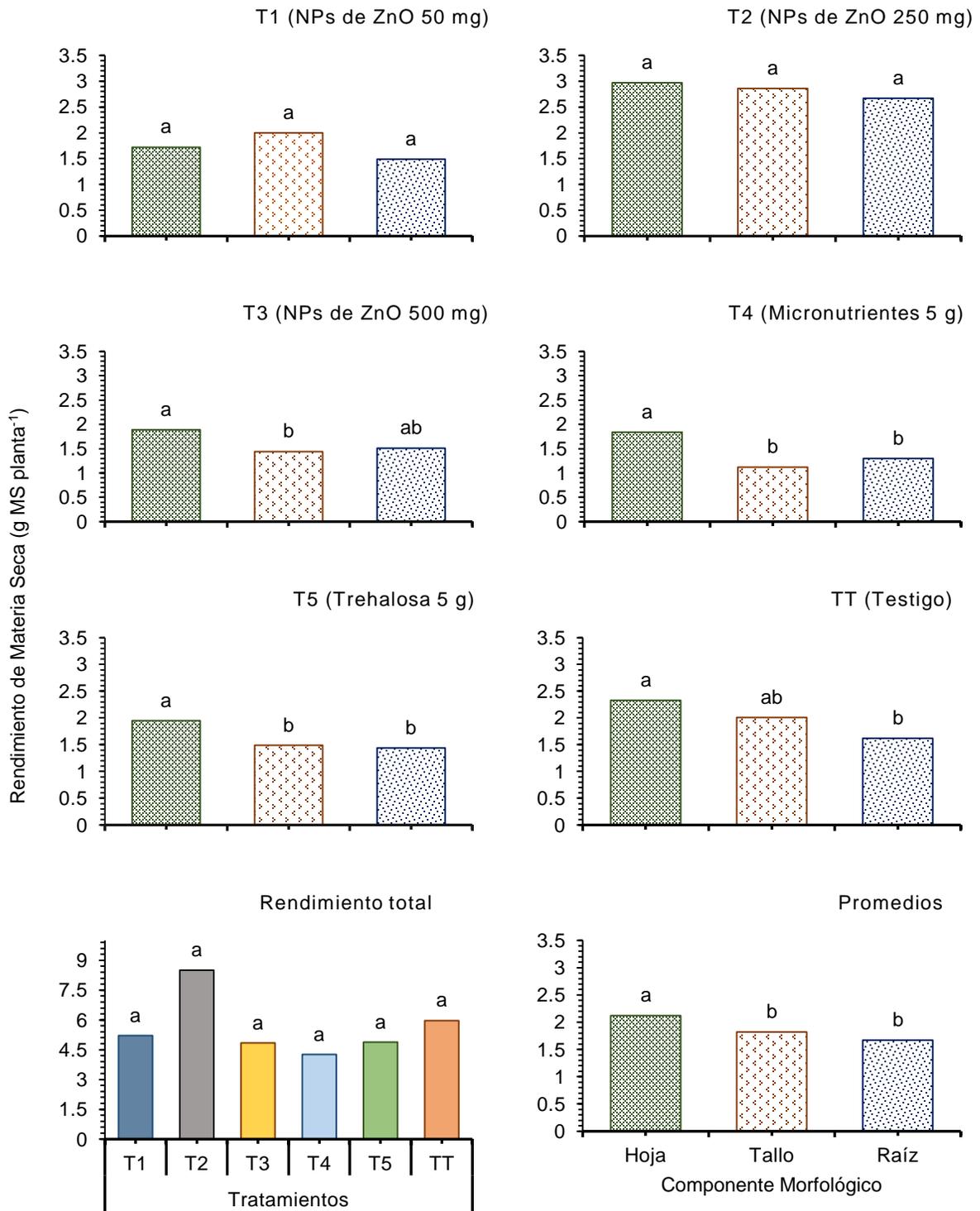


Figura 7. Rendimiento de Materia Seca (RMS) en *Lotus corniculatus* L., por efecto de la aplicación (mg y g planta⁻¹) de cinco fuentes de fertilizantes y un testigo. NPs= Nanopartículas. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente ($p > 0.05$).

4.4 Altura de planta

En la Figura 8, se observan las alturas de plantas de *Lotus corniculatus* L., evaluados con cinco fertilizantes y un testigo, días después del trasplante. Se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos y día después del trasplante ($p < 0.05$). En la comparación de los promedios de los tratamientos entre días de trasplante, las mayores alturas se registraron a partir de los 14 DDT con 11 cm, hasta los 49 DDT. Comportamientos semejantes se presentaron en los tratamientos T1, T2, T3 y T4. Para el caso del T5 y TT, el mayor crecimiento se presentó a los 49 y 28 DDT con 13 cm de altura para ambos tratamientos. Los menores valores se registraron a los primeros 7 días después del trasplante en los tratamientos T2, T4, T5, y TT. No obstante, en el T1, T3 y promedios, las alturas mínimas se expresaron al final del estudio, a los 77 DDT, aunque este último fue similar estadísticamente el valor registrado a los 77 y 7 DDT. La comparación entre los tratamientos dentro de cada DDT y promedios, registro diferencias estadísticas de estos últimos ($p < 0.05$), a favor de la mayor altura de planta en el T2 con 12 cm y la menor en el T3 con 8 cm. Similares diferencias se presentaron a los 7, 63, 70 y 77 DDT. En el resto de los DDT no se presentaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$).

En un trabajo realizado por Subbaiah *et al.* (2016) en maíz encontraron que, con la aplicación de 400 ppm de Zn, la altura aumentó en un 25 % en comparación con el control, por otro lado, en este trabajo, en el tratamiento dos se encontró un resultado similar, ya que a los 63 DDT las plantas aumentaron un 22.22 % en comparación con el tratamiento testigo. De igual forma en maíz, Rizwan *et al.* (2019), obtuvieron resultados similares, ya que al aplicar 100 mg/L de nanopartículas de Zn, la altura de planta aumentó 22% en comparación con el control. Así mismo, Liu *et al.* (2013) mencionan que la altura de las plantas de maíz aumentó aplicando una dosis de 200 mg/kg nanopartículas de Zn en el suelo, mientras que al aplicar concentraciones más altas de nanopartículas la altura de las plantas disminuyó.

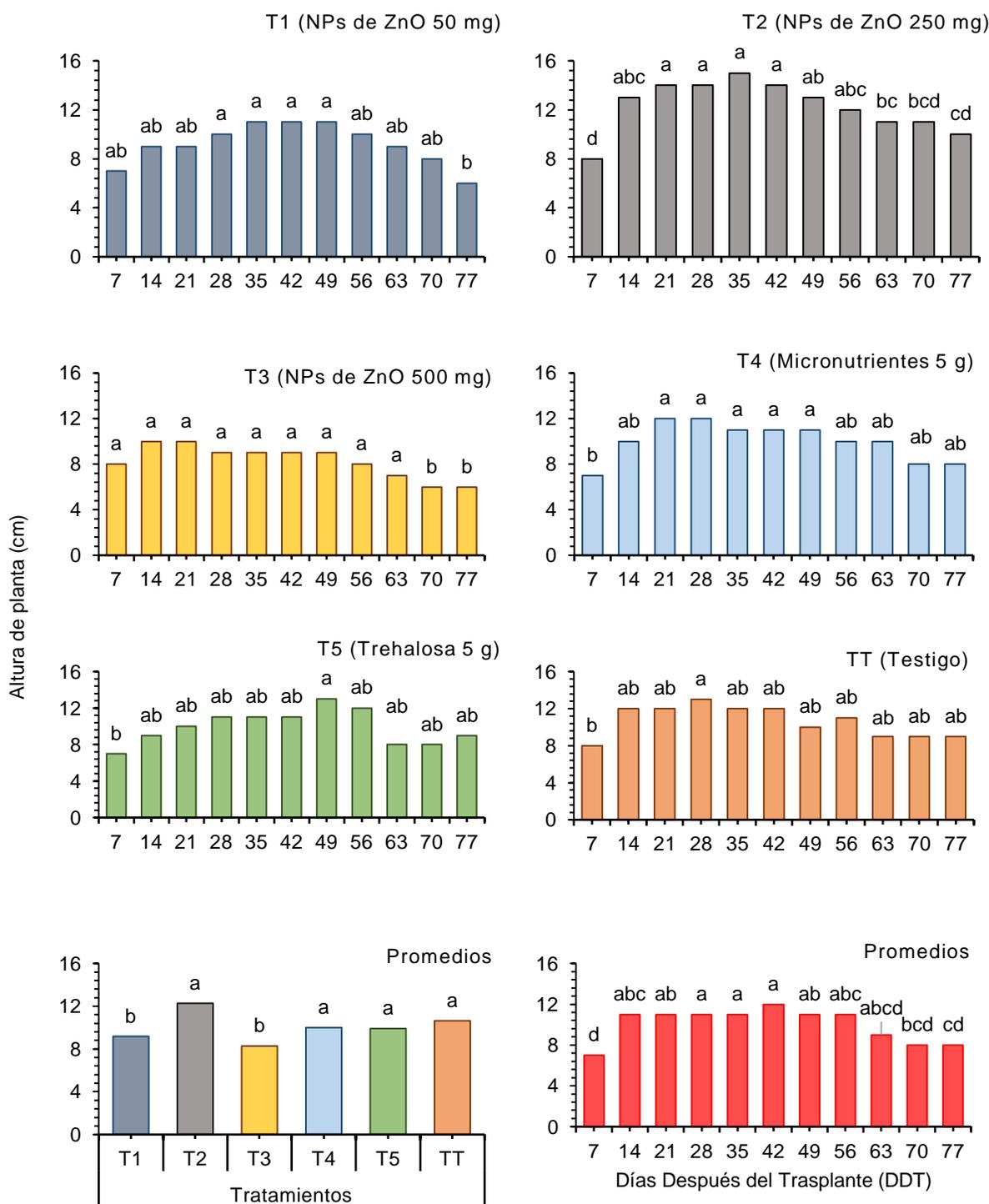


Figura 8. Altura de Planta (AP) en *Lotus corniculatus* L., por efecto de la aplicación (mg y g planta⁻¹) de cinco fuentes de fertilizantes y un testigo. NPs = Nanopartículas. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente ($p > 0.05$).

En un estudio realizado por Sreedhara *et al.* (2012), en alfalfa donde realizaron una aplicación foliar con atrayentes de insectos, micronutrientes (boro y molibdeno) y reguladores de crecimiento, la mayor altura que se registró se presentó en la mezcla de atrayentes de insectos con Molibdeno, la cual fue mayor en comparación con otras mezclas de tratamientos. Por su parte, Stevanovic *et al.* (2010) en *Lotus corniculatus* aplicaron los micronutrientes zinc, boro y molibdeno, mezclado con nitrógeno y fosforo, obtuvieron un promedio de altura de 41.8 cm, en comparación al aplicar solamente nitrógeno que obtuvo un promedio de 39.8 cm. Así mismo, en un trabajo realizado por Jia *et al.* (2005), citado por Du *et al.* (2009), observaron que al aplicar B, Mo, Zn, Mn y Fe obtuvieron un aumento en la altura de la planta, el número de brotes fértiles y el rendimiento de semillas de soja.

Zeid (2009) en maíz bajo estrés salino tratadas con trehalosa, se encontró que, al aplicar una concentración de 10 mM, se estimuló la altura de la planta en condiciones normales, que con estrés por salinidad. En un estudio realizado por Ibrahim y Abdellatif (2016) en trigo, se aplicaron 10 mM de trehalosa con riego cada diez días, encontraron que las plantas tuvieron una mayor altura con un promedio de 70.5 cm, en comparación con las plantas regadas cada veinte días. Por otro lado, Rodríguez-Salazar *et al.* (2009) en plantas de maíz inoculado con *Azospirillum brasilense* que contenían altos niveles de trehalosa mostraron un aumento significativo en la altura de las plantas en comparación con las plantas que no fueron inoculadas.

5 CONCLUSIONES

En conclusión, la fuente de fertilizante no afectó la tasa de aparición, muerte, sobrevivencia de tallos, rendimiento de materia seca, componentes morfológicos y altura de planta, pero sí los días después del trasplante. Las tasas de aparición y muerte de tallos, fueron mayores a los primeros días del trasplante entre los 7 y 14 días, mientras que, inversamente, la tasa de sobrevivencia fue superior hacia los 77 días después del trasplante. Para los componentes morfológico, la hoja fue la que mayor aporte hizo al rendimiento total de materia seca, seguida por el tallo y la raíz.

6 LITERATURA CITADA

- Ali, Q., Ashraf, M. (2011).** Induction of Drought Tolerance in Maize (*Zea mays* L.) due to Exogenous Application of Trehalose: Growth, Photosynthesis, Water Relations and Oxidative Defence Mechanis. *Journal Agronomy and Crop Science*. disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2010.00463.x>
- Álvarez Vázquez, P., García De Los Santos, G., Mendoza Pedroza, S. I., Rojas García, A. R., Hernández Garay, A., Guerrero Rodríguez, J. D. D., Ortega Cerrilla, M. E., Wilson García, C. Y. (2018).** Potencial forrajero de *Lotus corniculatus* L. con diferentes estrategias de manejo. *Agroproductividad* (11) 5. Disponible en: <https://mail.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/366>
- Ayala, W., Carámbula, M. (2009).** El valor agronómico del género *Lotus*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Uruguay, 424.
- Ayres, J. F., Blumenthal, M. J., Lane. L. A., O'Connor, J. W. (2006).** Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) and greater lotus (*Lotus uliginosus*) in perennial pastures in eastern Australia 2. Adaptation and applications of lotus-based pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46 (4). Disponible en: <https://doi.org/10.1071/EA04242>
- Baligar, V. C., Fageria, N. K., He, Z. L. (2001).** Nutrient use efficiency in plants, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32 (7). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1081/CSS-100104098>
- Baligar, V. C, Wright, R. J., Smedley, M. D. (1998).** Tillage and phosphorous effects on silage corn. pp. 323–330. In: J. E. Box Jr (ed.), *Root Demographics and Their Efficiency in Sustainable Agriculture, Grasslands and Forest Ecosystems*. Kluwer Academic Publisher the Netherlands. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-94-011-5270-9_2
- Bandyopadhyay, S., Plascencia-Villa, G., Mukherjee, A., Rico, C. M., José-Yacamán, M., Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L. (2015).** Comparative phytotoxicity of ZnO NPs, bulk ZnO, and ionic zinc onto the alfalfa plants symbiotically associated with *Sinorhizobium meliloti* in soil. *Science of the*

Total Environment. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.014>

Briske, D. D. (1991). Development morphology and physiology of grasses. In: Grazing Management: an ecological perspective. Heitschmidt, R. K., Stuth J. W. (ed.). Timber Press, Portland, Oregon, USA. 85-108

Castillo-Cabrera, C., Mendoza-Pedroza, S. I., Escalante Estrada, J. A. S., García-De los Santos, G., Pro-Martínez, A., & González-Cerón, F. (2022). Vegetative propagation of bird's-foot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) using different rooting agents. Agro Productividad. Disponible en:
<https://doi.org/10.32854/agrop.v15i7.2340>

Castro Rivera, R., Hernández Garay, A., Ramírez Reynoso, O., Aguilar Benítez, G., Enríquez Quiroz, J. F., Mendoza Pedroza, S. I. (2013). Crecimiento en longitud foliar y dinámica de población de tallos de cinco asociaciones de gramíneas y leguminosa bajo pastoreo. Revista mexicana de ciencias pecuarias, 4(2), 201-215.

Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM) (2019). *Lotus corniculatus* L., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en:
<http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:830485>

De Carvalho, C. A. B., Campos Paciullo, D. S., Pereyra Rossiello, R. O., Deresz, F. (2006). Dinâmica do perfilhamento em capim-elefante sob influência da altura do resíduo pós-pastejo. Pesquisa Agropecuária Brasileira 41 (1)

Díaz, P., Borsani, O., y Monza, J. (2005). *Lotus*-related species and their agronomic importance. *Lotus japonicus handbook*, 25-37.

Difante, G. S., Nascimento-Junior, D., Da Silva, S. C., Batista, E. V. P., De Moura, Z. A., Adese, B. (2008). Dinâmica do perfilhamento do capim-marandu cultivado em duas alturas e três intervalos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia 37 (2): 189-196. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000200003>

- Dondas, C., (2006).** Foliar Boron Application Improves Seed Set, Seed Yield, and Seed Quality of Alfalfa. *Agronomy Journal* 98 (4). Disponible en: <https://doi.org/10.2134/agronj2005.0353>
- Du, W. H., Tian, X. H., Cao, Z. Z., Humphries, A. (2009).** Effects of Micronutrients on Seed Yield and Yield Components of Alfalfa. *Journal of Plant Nutrition*, 32(5). Disponible en: <https://doi.org/10.1080/01904160902787909>
- Escaray, F. J., Menendez, A. B., Gárriz, A., Pieckenstain, F. L., Estrella, M. J., Castagno, L. N., Carrasco, P., Sanjuán, J., Ruiz, O. A. (2012).** Ecological and agronomic importance of the plant genus *Lotus*. Its application in grassland sustainability and the amelioration of constrained and contaminated soils. *Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology*, 182, 121–133. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.03.016>
- Fageria, N. K., Baligar, V. C., & Clark, R. B. (2002).** Micronutrients in Crop Production. *Advances in Agronomy*, 185–268. doi:10.1016/s0065-2113(02)77015-6
- Fageria, N. K., Barbosa Filho, M.P., Moreira A., Guimarães, C. M. (2009).** Foliar Fertilization of Crop Plants, *Journal of Plant Nutrition*, 32 (6). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/01904160902872826>
- Formoso, F. (1993).** *Lotus corniculatus*; I. Performance forrajera y características agronómicas asociadas. Unidad de Difusión e Información Tecnológica del INIA.
- Gauthier, P., Lumaret, R. y Bedecarrats, A. (1997).** Chloroplast-DNA variation in the genus *Lotus* (Fabaceae) and further evidence regarding the maternal parentage of *Lotus corniculatus* L. *Theor Appl Genet* 95, 629–636. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s001220050605>
- Grewal, H. S., Williams, R. (2000).** Zinc nutrition affects alfalfa responses to water stress and excessive moisture. *Journal of Plant Nutrition*, 23 (7). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/01904160009382073>
- Gunn, C. R., J. H. Wiersema, C.A., Ritchie, J.H., Kirkbride, Jr. (1992).** Families and general or spermatophytes recognized by the Agricultural Research Service. USDA-ARS, Tech. Bull. 1796. 43.

- Heitholt, J. J., Sloan, J. J., MacKown, C. T. (2002).** Copper, manganese, and zinc fertilization effects on growth of soybean on a calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition* 25 (8). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1081/PLN-120006054>
- Hernández G., A., Matthew, C. y Hodgson, J. (2000).** The influence of defoliation height on dry-matter partitioning and CO₂ exchange of perennial ryegrass miniature sward. *Grass Forage Science* <https://doi.org/10.1046/j.1365-2494.2000.00234.x>
- Heuzé V., Tran G., Nozière P., Lebas F., 2016.** *Lotus corniculatus*. Feedipedia, un programa del INRAE, el CIRAD, la AFZ y la FAO. Disponible en: <https://feedipedia.org/node/280>
- Hunt, S.R., MacAdam, J.W. & Reeve, J.R. (2015).** Establishment of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) pastures on organic dairy farms in the Mountain West USA. *Org. Agr.* 5, 63–77. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13165-014-0091-1>
- Ibrahim, H. A., Abdellatif, Y. M. R. (2016).** Effect of maltose and trehalose on growth, yield and some biochemical components of wheat plant under water stress. *Annals of Agricultural Science* 30 (20). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aogas.2016.05.002>
- Izydorczyk, G., Sienkiewicz-Cholewa, U., Baśladyńska, S., Kocek, D., Mironiuk, M., Chojnacka, K. (2020).** New environmentally friendly bio-based micronutrient fertilizer by biosorption: From laboratory studies to the field. *The Science of the Total Environment*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136061>
- Jócsák, I., Knolmayer, B., Szarvas, M., Rabnecz, G., & Pál-Fám, F. (2022).** Literature review on the effects of heavy metal stress and alleviating possibilities through exogenously applied agents in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plants*, 11(16). <https://doi.org/10.3390/plants11162161>
- Klofac, D.; Antosovsky, J.; Skarpa, P. (2023).** Effect of zinc foliar fertilization alone and combined with trehalose on maize (*Zea mays* L.) Growth under the Drought. *Plants* (12). Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants12132539>

- Lindström, B. E. M., Frankow-Lindberg, B. E., Dahlin, A. S., Wivstad, M., Watson, C. A. (2013).** Micronutrient concentrations in common and novel forage species and varieties grown on two contrasting soils. *Grass and Forage Science: The Journal of the British Grassland Society*, 68 (3). Disponible en: <https://doi.org/10.1111/gfs.12006>
- Lira Saldivar, R. H., Méndez Argüello, B., De los Santos Villareal, G., Vera Reyes, I. (2018).** Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*, 28 (2), 9-24. Disponible en: <https://doi.org/10.15174/au.2018.1575>
- Liu, X., Wang, X., de Caritat, P., Salminen, R. (2013).** Comparison of datasets obtained by global-scale geochemical sampling in Australia, China and Europe. *Journal of Geochemical Exploration*. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2013.11.005>
- Lucio Ruiz, F., Joaquín Cancino, S., Garay Martínez, JR, Bautista Martínez, Y., Estrada Drouaillet, B., & Limas Martínez, AG (2023).** Dinámica de tallos e índice de estabilidad en cinco cultivares de *Urochloa* en condiciones semiáridas. *Pastizales Tropicales-Forrajes Tropicales*, 11 (1), 1–10. Disponible en: [https://doi.org/10.17138/tgft\(11\)1-10](https://doi.org/10.17138/tgft(11)1-10)
- Luo, Y., Li, F., Wang, G.P., Yang, X.H., & Wang, W. (2010).** Exogenously-supplied trehalose protects thylakoid membranes of winter wheat from heat-induced damage. *Biologia plantarum*, 54(3). doi: 10.1007/s10535-010-0087-y
- Lunn, J. E., Delorge, I., Figueroa, C. M., Van Dijck, P., Stitt, M. (2014).** Trehalose metabolism in plants. *The Plant Journal*. 79, 544–567. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/tpj.12509>
- Machado, D., Dávila, C., (1997).** Efectos de la fertilización con N, P, K, micronutrientes y gallinazo en el establecimiento de la asociación de alfalfa (*Medicago sativa*) y kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 14: 111-128. Disponible en: https://www.revfacagronluz.org.ve/v14_1/v141z010.html
- Mao, X., Li, Q., Ren, L., Bai, W., Zhang W., H. (2018).** Application of molybdenum fertilizer enhanced quality and production of alfalfa in northern China under non-

irrigated conditions. Journal of Plant Nutrition. Disponible en:
<https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1431672>

Maroso, R. P., S. Meredith S. B., and Carneiro C. (2007). Rebrotas de Lotus spp. de diferentes hábitos de crecimiento. Revista Brasileira de Zootecnia. 36 (5) Disponible en:
<https://www.scielo.br/j/rbz/a/pkHsfSmBrQ6Zq4rxm74TdZJ/?format=pdf&lang=pt>

Mentz, A., Ostenfeld, C. H. (1917). Billeder af nordens flora (Vol. 2). G.E.C. Gad's forlag. Disponible en: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/39935>

Montes C., F. J., Castro R., R., Aguilar B., G., Sandoval T., S. y Solís O., M. M. (2016). Acumulación estacional de biomasa aérea de alfalfa var. Oaxaca 42 criolla (*Medicago sativa* L.). Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias (7) 4, 539-552.

Olivares, A. (2009). La morfofisiología de especies forrajeras como base del manejo de pastizales. Santiago de Chile: Universidad de Chile, 3-8

Orozco-Jarma, A., Maza-Angulo, L., Pineda-Pérez, A., Hernández-Ciodaro, J. (2012). Aspectos fisiológicos y bromatológicos de *Bracharia humidicola*. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia 7(1): 89–99.

Papadopoulos, Y. A., y Kelman, W. M. (1999). Traditional Breeding of Lotus Species. *Trefoil: The Science and Technology of the Lotus*, 28, 187-198. Disponible en:
<https://doi.org/10.2135/cssaspecpub28.c11>

Paul, M. J., Primavesi, L. F., Jhurrea, D., Zhang, Y. (2008). Trehalose metabolism and signaling. Annual Review of Plant Biology. Disponible en:
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092945>

Poblaciones, M.J., Damon, P., Rengel, Z. (2017). Foliar zinc biofortification effects in *Lolium rigidum* and *Trifolium subterraneum* grown in cadmium-contaminated soil. PLoS ONE 12(9). Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185395>

Raliya, R., Nair, R., Chavalmane, S., Wang, W. N., Biswas, P. (2015). Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc

- oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant. Journal of Hazardous Materials 7. Disponible en: <https://doi.org/10.1039/c5mt00168d>
- Beyaz, R. (2023).** Germination and seedling properties of *Lotus corniculatus* L. under simulated drought stress. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty, 20(4): 879-889. Disponible en: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v13i3.635-641.7360>
- Ramírez Reynoso, O., Flores Atilano, I., Hernández Castro, E., Rojas García, A. R., Maldonado Peralta, M. A., Valenzuela Lagarda, J. L. (2020).** Dinámica poblacional de tallos e índice de estabilidad del pasto llanero. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 11 (24), 23-34. Disponible en: <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i24.2355>
- Ramírez-Reynoso, O., Silva S. C., Hernández-Garay, A., Enríquez-Quiroz, J. F., Pérez-Pérez, J., Quero-Carrillo, A.R., Herrera-Haro, J. G. (2011).** Rebrote y estabilidad de la población de tallos en el pasto *Panicum máximum* cv. “mombaza” cosechado en diferentes intervalos de corte. Revista Fitotecnia Mexicana 34 (3) Disponible en: <https://doi.org/10.35196/rfm.2011.3.213>
- Rizwan, M., Ali, S., Zia ur Rehman, M., Adrees, M., Arsha, M., Qayyum, M. F., Ali, L., Hussain, A., Shahid Chatha, S. A., Imran, M. (2019).** Alleviation of cadmium accumulation in maize (*Zea mays* L.) by foliar spray of zinc oxide nanoparticles and biochar to contaminated soil. Environmental Pollution 248. Disponible en : <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.031>
- Rodríguez-Salazar, J., Suárez, R., Caballero-Mellado, J., Iturriaga, G. (2009).** Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. FEMS Microbiol Lett. 296 (1). Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01614.x>
- Rout, G. R., Das, P. (2003).** Effect of Metal Toxicity on Plant Growth and Metabolism: I. Zinc. Agronomie, 23, 3-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1051/agro:2002073>
- Shao, J., Wu, W., Rasul, F., Munir, H., Huang, K., I. Awan, M., Albishi, T. S., Arshad, M., Hu, Q., Huang, G., Hassan, M. U., Aamer, M., Qari, S. H. (2022).** Tolerancia a la sequía inducida por trehalosa en plantas: respuestas fisiológicas y

- moleculares. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 50 (1). Disponible en: <https://doi.org/10.15835/nbha50112584>
- Soto O., P. (2000).** Crecimiento y desarrollo de la alfalfa. Chillan: Impresora Trama. Colección Libros INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Vol. no. 4. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14001/3538> (Consultado el 23 de marzo de 2025).
- Sreedhara, K., Krishna, A., Harish, S. (2012).** Effect of insect attractants, micronutrients and growth regulators on crop growth, flowering behaviour and seed yield in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Forage Research*, 38(3), 144-150.
- Stevanovic, P., Vuckovic, S., Popovic, V., Ikanovic, J., Zivanovic, L., Tabakovic, M., Lakic, Z. (2015).** Influence of the mineral fertilization at morphological and productive characteristics of the Lotus corniculatus on pseudogley. *Wulfenia* 22 (10). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.3793.2247>
- Subbaiah, L. V., Prasad, T. N., Krishna, T. G., Sudhakar, P., Reddy, B. R., Pradeep, T. (2016).** Novel Effects of Nanoparticulate Delivery of Zinc on Growth, Productivity, and Zinc Biofortification in Maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64(19). DOI: 10.1021/acs.jafc.6b00838
- Torri, S. I., Urricariet, S., Lavado, R. S. 2014.** Micronutrientes y elementos traza. Pp: X-XX. En: H. E. Echeverría, y F. O. García. *Fertilidad de Suelos y Fertilización de Cultivos*. Editorial INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Venkatachalam, P., Jayaraj, M., Manikandan, R., Geetha, N., Rene, E. R., Sharma, N. C., Sahi, S. V. (2017).** Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) alleviate heavy metal-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* seedlings: A physiochemical analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 59–69. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.022>
- Wang, X., Fernandes de Souza, M., Li, H., Tack, F. M. G., Ok, Y. S., Meers, E. (2020).** Zn phytoextraction and recycling of alfalfa biomass as potential Zn biofortified feed crop. *Science of the Total Environment*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143424>
- Zeid, I.M. (2009).** Trehalose as Osmoprotectant for Maize Under Salinity-Induced Stress. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(5).

Zhu, J., Li, J., Shen, Y., Liu, S., Zeng, N., Zhan, X., White, J., Gardea-Torresdey J., Xing, B. (2020). Mechanism of zinc oxide nanoparticle entry into wheat seedling leaves. *Environmental Science Nano*. Disponible en: <https://doi.org/10.1039/D0EN00658K>

7 ANEXOS

Cuadro 2. Tasa de Aparición de Tallos (TATa) posterior a la aplicación de diferentes dosis de fertilizantes de nanopartículas de zinc (NPs ZnO), Trehalosa y micronutrientes en *Lotus corniculatus* L.

DDT	Tratamientos						\bar{x}	Pr > F	MSE	DMS
	T1	T2	T3	T4	T5	TT				
7	45	38	42	46	37	30	40	0.400	14.2	18.94
14	50	48	43	50	43	41	46	0.700	14.4	19.25
21	32	36	37	40	31	24	33	0.700	15.3	20.41
28	42	36	25	51	31	31	36	0.010	18.0	23.97
35	25	35	20	38	30	29	29	0.100	15.1	20.21
42	26	28	20	29	21	19	24	0.100	10.9	14.55
49	22	31	25	25	30	28	27	0.004	11.4	15.18
56	29	24	22	23	48	18	27	0.010	14.8	19.82
63	29	34	23	33	30	27	29	0.040	11.4	15.21
70	33	38	25	38	23	25	28	0.100	13.9	18.53
77	28	33	24	39	23	24	28	0.300	13.9	18.53
\bar{x}	33	35	28	38	32	27	29	0.06	8.7	11.68
Pr > F	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001			
MSE	13.8	8.3	13.09	10.4	11.8	11.1	4.9			
DMS	20.4	12.3	19.3	15.4	17.4	16.5	7.2			

T1= NPs de ZnO 50 mg planta⁻¹. T2= NPs de ZnO 250 mg planta⁻¹. T3= NPs de ZnO 500 mg planta⁻¹. T4= Micronutrientes 5 g. T5= Trehalosa 5 g. TT=Testigo. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente (p>0.05). MSE= Error estándar de media. DMS= Diferencia Mínima Significativa.

Cuadro 3. Tasa de Mortalidad de Tallos (TMTa) posterior a la aplicación de diferentes dosis de fertilizantes de nanopartículas de zinc (NPs ZnO), Trehalosa y micronutrientes en *Lotus corniculatus* L.

DDT	Tratamientos												\bar{x}	Pr > F	MSE	DMS	
	T1		T2		T3		T4		T5		TT						
7	34	Aa	34	Aa	52	Aa	53	Aa	45	Aa	50	Aa	45	A	0.60	25.8	34.4
14	33	Aa	22	ABa	20	BCa	31	ABa	29	ABCa	28	Ba	27	B	0.09	18.9	25.2
21	18	Aa	13	Ba	26	Ba	29	ABa	20	BCa	13	BCa	20	BCDE	0.30	18.2	24.2
28	19	Aab	19	ABab	13	BCb	39	ABa	26	ABCab	11	BCb	21	BCD	0.20	19.4	25.8
35	31	Aa	18	Ba	17	BCa	30	ABa	39	ABa	11	BCa	24	BC	0.20	22.8	30.4
42	18	Aa	15	Ba	13	BCa	30	ABa	28	ABCa	10	BCa	19	CDEF	0.07	16.7	22.2
49	18	Aa	15	Ba	13	BCa	28	ABa	29	ABCa	10	BCa	19	CDEF	0.20	20.1	26.7
56	19	Aa	9	Ba	7	Ca	20	Ba	16	Ca	10	BCa	13	DEF	0.30	16.5	22.0
63	16	Aa	13	Ba	9	BCa	20	Ba	11	Ca	12	BCa	14	DEF	0.60	15.7	20.9
70	19	Aa	10	Ba	7	Ca	18	Ba	12	Ca	8	Ca	12	EF	0.30	14.8	19.7
77	15	Aa	11	Ba	7	Ca	14	Ba	11	Ca	8	Ca	11	F	0.30	13.7	18.2
\bar{x}	22	a	17	a	17	a	28	a	24	a	16	a	20		0.10	12.3	16.4
Pr > F	<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001				
MSE	19.9		10.2		11.9		17.5		13.6		12.3		5.6				
DMS	29.4		15.1		17.6		25.9		20.1		18.2		8.3				

T1= NPs de ZnO 50 mg planta⁻¹. T2= NPs de ZnO 250 mg planta⁻¹. T3= NPs de ZnO 500 mg planta⁻¹. T4= Micronutrientes 5 g. T5= Trehalosa 5 g. TT=Testigo. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente (p>0.05). MSE= Error estándar de media. DMS= Diferencia Mínima Significativa.

Cuadro 4. Tasa de Supervivencia de Tallos (TST), posterior a la aplicación de diferentes dosis de fertilizantes de nanopartículas de zinc (NPs ZnO), Trehalosa y micronutrientes en *Lotus corniculatus* L.

DDT	Tratamientos						\bar{x}	Pr > F	MSE	DMS
	T1	T2	T3	T4	T5	TT				
7	76 Aa	66 Ba	48 Ca	47 Ba	55 Ca	50 Ca	57 D	0.1	23.1	30.86
14	67 Aa	78 ABa	80 ABa	69 ABa	71 ABCa	72 Ba	73 BC	0.1	19.01	25.3
21	72 Aa	87 Aa	74 Ba	71 ABa	80 ABa	87 ABa	79 ABC	0.4	20.9	27.9
28	71 Aa	81 ABa	87 ABa	61 ABa	74 ABCa	89 ABa	77 ABC	0.2	21.5	28.6
35	59 Aa	82 Aa	83 ABa	70 ABa	61 BCa	89 ABa	74 BC	0.04	22.8	30.3
42	62 Aa	85 Aa	87 ABa	70 ABa	72 ABCa	90 ABa	78 ABC	0.03	20.5	27.3
49	62 Aa	85 Aa	87 ABa	72 ABa	71 ABCa	90 ABa	78 ABC	0.1	23.5	31.3
56	61 Ab	91 Aa	93 Aa	80 Aab	84 Aab	90 ABa	83 ABC	0.01	19.8	26.4
63	64 Ab	87 Aab	91 ABa	80 Aab	89 Aab	88 ABab	83 ABC	0.07	19.9	26.6
70	61 Ab	90 Aa	93 Aa	82 Aab	88 Aa	92 Aa	84 AB	0.02	19.1	25.5
77	65 Ab	89 Aab	93 Aa	86 Aab	89 Aab	92 Aa	86 A	0.06	19.2	25.6
\bar{x}	66 a	84 a	83 a	72 a	76 a	84 a	77	0.1	16.4	21.8
Pr > F	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001			
MSE	19.3	10.2	11.9	17.5	13.6	12.3	7.3			
DMS	28.5	15.1	17.7	25.9	20.1	18.2	10.8			

T1= NPs de ZnO 50 mg planta⁻¹. T2= NPs de ZnO 250 mg planta⁻¹. T3= NPs de ZnO 500 mg planta⁻¹. T4= Micronutrientes 5 g. T5= Trehalosa 5 g. TT=Testigo. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente (p>0.05). MSE= Error estándar de media. DMS= Diferencia Mínima Significativa.

Cuadro 5. Rendimiento de Materia Seca (g planta⁻¹) posterior a la aplicación de diferentes dosis de fertilizantes de nanopartículas de zinc (NPs ZnO), Trehalosa y micronutrientes en *Lotus corniculatus* L.

Componente	Tratamientos						\bar{x}	Pr > F	MSE	DMS
	T1	T2	T3	T4	T5	TT				
Hoja	1.72 Aa	2.97 Aa	1.89 Aa	1.84 Aa	1.95 Aa	2.33 Aa	2.12 A	0.10	1.6	2.1
Tallo	2.00 Aa	2.86 Aa	1.44 Ba	1.12 Ba	1.49 Ba	2.01 ABa	1.82 B	0.10	1.7	2.3
Raíz	1.49 Aa	2.67 Aa	1.51 ABa	1.30 Ba	1.44 Ba	1.62 Ba	1.67 B	0.10	1.5	2.0
Suma	5.22 a	8.51 a	4.84 a	4.25 a	4.88 a	5.96 aa	20.35	0.01	5.0	3.6
Pr > F	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001			
MSE	0.5	0.9	0.3	0.3	0.3	0.6	0.3			
DMS	0.6	1.08	0.4	0.4	0.4	0.7	0.3			

T1= NPs de ZnO 50 mg planta⁻¹. T2= NPs de ZnO 250 mg planta⁻¹. T3= NPs de ZnO 500 mg planta⁻¹. T4= Micronutrientes 5 g. T5= Trehalosa 5 g. TT=Testigo. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente (p>0.05). MSE= Error estándar de media. DMS= Diferencia Mínima Significativa.

Cuadro 6. Altura de planta posterior a la aplicación de diferentes dosis de fertilizantes de nanopartículas de zinc (NPs ZnO), Trehalosa y micronutrientes en *Lotus corniculatus* L.

DDT	Tratamientos							\bar{x}	Pr > F	MSE	DMS
	T1	T2	T3	T4	T5	TT					
7	7 ABa	8 Da	8 Aa	7 Ba	7 Ba	8 Ba	7 D	0.60	1.7	2.3	
14	9 ABa	13 ABCa	10 Aa	10 ABa	9 ABa	12 ABa	11 ABC	0.08	3.0	4.0	
21	9 ABa	14 Aa	10 Aa	12 Aa	10 ABa	12 ABa	11 AB	0.10	3.8	5.0	
28	10 Aab	14 Aa	9 Ab	12 Aab	11 ABab	13 Aab	11 A	0.02	4.1	5.5	
35	11 Aab	15 Aa	9 Ab	11 Aab	11 ABab	12 ABab	11 A	0.01	4.2	5.6	
42	11 Aa	14 Aa	9 Aa	11 Aa	11 ABa	12 ABa	12 A	0.03	4.6	6.2	
49	11 Aa	13 ABa	9 Aa	11 Aa	13 Aa	10 ABa	11 AB	0.04	4.5	6.0	
56	10 ABa	12 ABCa	8 Aa	10 ABa	12 ABa	11 ABa	11 ABC	0.09	4.5	6.0	
63	9 ABa	11 BCa	7 Aa	10 ABa	8 ABa	9 ABa	9 ABCD	0.08	3.7	4.9	
70	8 ABa	11 BCa	6 Aa	8 ABa	8 ABa	9 ABa	8 BCD	0.04	3.4	4.5	
77	6 Ba	10 DCa	6 Aa	8 ABa	9 ABa	9 ABa	8 CD	0.04	3.1	4.2	
\bar{x}	9 a	12 a	8 a	10 a	10 a	11 a	10	0.06	2.9	2.8	
Pr > F	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001				
MSE	2.9	2.1	3.2	2.8	3.08	3.05	1.9				
DMS	4.4	3.1	4.7	4.1	4.5	4.5	2.8				

T1= NPs de ZnO 50 mg planta⁻¹. T2= NPs de ZnO 250 mg planta⁻¹. T3= NPs de ZnO 500 mg planta⁻¹. T4= Micronutrientes 5 g. T5= Trehalosa 5 g. TT=Testigo. Letras minúsculas iguales no son diferentes estadísticamente (p>0.05). MSE= Error estándar de media. DMS= Diferencia Mínima Significativa.