



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**  
**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO**  
**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**



**FABRICACIÓN Y EVALUACIÓN DE NANO COMPUESTOS PARA MEJORAR  
LA EFICIENCIA DE FERTILIZANTES EN CULTIVOS AGRÍCOLAS**

**Por:**

**M.P.A. Oscar Iván Guillén Castillo**

**Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de  
Doctor en Ciencias Agropecuarias**

**Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.**

**Mayo de 2023**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**  
**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO**  
**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**



**FABRICACIÓN Y EVALUACIÓN DE NANO COMPUESTOS PARA MEJORAR  
LA EFICIENCIA DE FERTILIZANTES EN CULTIVOS AGRÍCOLAS**

**Por:**

**M.P.A. Oscar Iván Guillén Castillo**

**Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de  
Doctor en Ciencias Agropecuarias**

**Director de tesis: Dr. Ángel Natanael Rojas Velázquez**

**Asesor: Dr. Jorge Alonso Alcalá Jáuregui**

**Asesor: Dr. Mauricio Jesús Romero Méndez**

**Asesora: Dr. Catarina Loredo Ostí**

**Asesor: Dr. Hugo Magdaleno Ramírez Tobías**

**Asesor : Dr. Vincenzo Bertolini**

## PÁGINA DE APROBACIÓN DE TESIS

La presente tesis titulada "**Fabricación y Evaluación de Nano Compuestos para Mejorar la Eficiencia de Fertilizantes en Cultivos Agrícolas**" realizada por Óscar Iván Guillén Castillo, como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias, fue revisada y aprobada por el suscrito Comité de Tesis.

**Dr. Ángel Natanael Rojas Velázquez**  
Director de tesis

---

**Dr. Jorge Alonso Alcalá Jáuregui**  
Asesor

---

**Dr. Mauricio Jesús Romero Méndez**  
Asesor

---

**Dra. Catarina Loredó Osti**  
Asesora

---

**Dr. Hugo Magdaleno Ramírez Tobías**  
Asesor

---

**Dr. Vincenzo Bertolini**  
Asesor

---

**Ejido Palma de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P., a los días 20 del mes de mayo del 2023.**

## DEDICATORIA

### **A mis padres**

Lic. Reynaldo Guillén Bear

Profa. María Santos Castillo Hernández

### **Con respeto y admiración**

#### **A mis hermanos:**

Hugo, Reynaldo y Gustavo Guillén Castillo.



Fabricación y evaluación de nanocompuestos para mejorar la eficiencia de cultivos agrícolas por Oscar Iván Guillén Castillo se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en especial a la Facultad de Agronomía y Veterinaria por permitirme realizar mis estudios de Doctorado.

Al Consejo Nacional De Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada con el número apoyo 391216.

A mi director de tesis el Dr. Ángel Natanael Rojas Velázquez por haberme enseñado e instruido en este camino profesional y de investigación.

A mi comité de tesis:

Dr. Jorge Alonso Alcalá Jáuregui, Dra. Catarina Loredo Osti, Dr. Mauricio Jesús Romero Méndez, Dr. Hugo Magdaleno Ramírez Tobías y Dr. Vincenzo Bertolini, por su apoyo en cada momento y por darme la oportunidad de realizar mi tesis con su asesoría.

A Reyna Hipólito Piedras Colega-Amiga-Compañera de vida, por haberme apoyado y acompañado en momentos buenos, malos y peores.

Al Dr. Enrique Ibarra Zapata por su amistad y compañerismo en nuestros estudios de posgrado.

Y a mi gran amigo Miguel Vázquez Ostiguin

A todos muchas gracias por su colaboración.

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	iv
CONTENIDO .....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	x
SUMMARY .....	xi
INTRODUCCIÓN .....	1
Hipótesis .....	3
Objetivo General .....	3
Objetivos específicos .....	3
Literatura citada .....	4
CAPITULO I. EFECTO FITOTOXICO DE CUATRO SURFACTANTES CATIONICOS EN PLANTAS DE LECHUGA ( <i>Lactuca sativa</i> L.) HIDROPÓNICA...6	
Resumen .....	6
Summary.....	6
Introducción .....	7
Materiales y Métodos.....	9
Resultados y Discusión .....	11
Conclusiones.....	21
Literatura Citada .....	22
CAPITULO II. NANOCOMPUESTO DE NITRÓGENO COMO FERTILIZANTE DE LIBERACIÓN LENTA EN COLUMNAS DE SUELO CON PLANTAS DE LECHUGA.....	27
Resumen .....	27
Introducción .....	29
Materiales y Métodos.....	30
Resultados y Discusión .....	33
Conclusiones.....	42

Literatura Citada .....	43
<b>CAPITULO III. EFFECT OF A NITROGENOUS NANOCOMPOSITE ON LEACHING AND N CONTENT IN LETTUCE IN SOIL COLUMNS .....</b>	<b>47</b>
Summary .....	47
Introduction.....	47
Materials and Methods.....	49
Results and Discussion.....	51
References.....	63
<b>CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>68</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
CAPÍTULO I.	
1 Efecto de los tratamientos de fertilización con nanocompuesto de nitrógeno (NCN)/Fertilizante en solución Steiner (FSS). sobre variables de rendimiento.....	15
CAPÍTULO II.	
1 Tratamientos aplicados durante el experimento de fertilización con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo en cultivo de lechuga.....	32
2 Variables de crecimiento y rendimiento en el desarrollo de lechugas con fertilización nitrogenada con nanocompuesto en columnas de suelo.....	35
3 Conductividad eléctrica del lixiviado obtenido durante el desarrollo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo.....	36
4 Evolución de Unidades SPAD y NDVI durante el desarrollo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo.....	38
CAPÍTULO III	
1 Tratamientos aplicados durante el experimento de la evaluación del efecto de un nanocompuesto nitrogenado en lechuga en columnas de suelo.....	50
2 Fertilización convencional/nanocompuestos nitrogenado sobre variables de crecimiento en la evaluación del efecto de un nanocompuesto nitrogenado en lechuga en columnas de suelo.....	53



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
CAPÍTULO I.	
1 Consumo de agua durante el periodo de contacto a cuatro surfactantes: HDTMA, OTAC, DDA y HDA en el crecimiento de lechuga hidropónica.....	11
2 Conductividad eléctrica durante el desarrollo de lechuga hidropónica expuesta a cuatro surfactantes (HDTMA, OTAC, DDA y HDA). A) 10 días, 25% Solución Steiner. B) 20 días, 50 % Solución Steiner. C) 30 días, 75% Solución Steiner .....	12
3 Materia seca de tejido vegetal de lechuga expuesta a cuatro surfactantes: HDTMA, OTAC, DDA y HDA en el crecimiento de lechuga hidropónica .....	14
4 Área foliar de lechuga expuesta a cuatro surfactantes: HDTMA, OTAC, DDA y HDA en el crecimiento de lechuga hidropónica. ....	16
5 Absorción de nutrientes en lechuga expuesta a cuatro surfactantes: HDTMA, OTAC, DDA y HDA en el crecimiento de lechuga hidropónica. A) Nitrato. B) Potasio. C) Calcio. ....	18
6 Efecto en la membrana celular del contacto con surfactantes de cadena corta y larga. A. Unión de surfactante a membrana, B. Ruptura de membrana, C. Ingreso de surfactante. D. Fuga de constituyentes intracelulares, E. Ingreso de iones acompañantes.....	19
7 Efecto fitotóxico de surfactantes catiónicos en lechugas cultivadas en hidroponía.....	21
CAPÍTULO II.	
1 Microscopia electrónica de barrido (SEM), Microscopia electrónica de transmisión (TEM) del nanocompuesto nitrogenado.....	31
2 Plantas de lechuga con nanocompuesto en columnas de suelo .....	38

3	Liberación de nitrato durante el desarrollo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo. ....	39
4	Concentración de iones Nitrato en el Lixiviado obtenido durante el desarrollo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo .....	41
5	Concentración de iones en peciolo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado cultivada en columnas de suelo. ....	42

### CAPITULO III.

1	Scanning electron microscopy (SEM) image, magnitude 500 nm (a). Transmission electron microscopy (TEM) image, magnitude 100 nm (b), of a nitrogenous nanocomposite.....	52
2	Content of A) Nitrate, B) Potassium and C) Calcium in the petiole cell extract in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite in lettuce in soil columns. ....	55
3	SPAD units ( <b>A</b> ), NDVI ( <b>B</b> ) measured at 15, 30 and 45 days in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns.....	56
4	Electrical conductivity ( $\text{dS m}^{-1}$ ) of the leached solutions measured at 15, 30 and 45 days in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns.....	58
5	A) $\text{NO}_3^-$ , B) $\text{K}^+$ and C) $\text{Ca}^{2+}$ leaching in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns.. ....	60
6	Nitrogen concentration in lettuce leaves in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns. ....	62

## RESUMEN

El uso inapropiado o excesivo de fertilizantes convencionales (FC) conduce a una baja eficiencia, lo que disminuye el rendimiento de los cultivos y aumenta el costo de la fertilización. Además, provoca impactos ambientales adversos, debido a la lixiviación de nutrientes, la escorrentía superficial, la desnitrificación, y la volatilización. Se han desarrollado varios fertilizantes de liberación lenta, basados en nanocompuestos, para abordar este problema. La hipótesis de este trabajo es que los nanocompuestos nitrogenados (NCN) a base de bentonita modificada (BM) pueden adsorber iones nitrato y liberarlos lentamente para mejorar su eficiencia en el crecimiento del cultivo de lechuga en suelo; con el objetivo de fabricar y evaluar nanocompuestos nitrogenados a base de bentonita modificada como fertilizante de lenta liberación para mejorar la eficiencia del fertilizante en el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) en suelo. Se evaluó la toxicidad de cuatro surfactantes en la preparación de la BM, el surfactante HDA fue el surfactante en provocar menor daño al cultivo, debido a que tiene la menor longitud de cadena de carbonos lo cual provoca nula o baja toxicidad. Este nanocompuesto nitrogenado con la modificación del surfactante hexadecylamina (HDA) puede adsorber y liberar iones nitrato y se utilizó como fertilizante NCN para los siguientes experimentos: en dos experimentos se evaluó el efecto del nanocompuesto en diferentes dosis de N; el primer experimento 75-100-170 kg ha<sup>-1</sup> y el segundo 115-69-210 kg ha<sup>-1</sup> sobre columnas de suelo; se aplicaron 8 tratamientos resultado de la combinación entre NCN y el FC, se utilizaron en proporciones de 25, 50, 75 y 100 % de cada uno. Los 8 tratamientos resultantes fueron: 0/100, 25/75, 50/50 y 75/25, además de utilizar solo el material NCN 25/0, 50/0, 75/0 y 100/0. Los dos experimentos mostraron los mejores efectos en el crecimiento de las lechugas con los tratamientos 50 y 75% de nanocompuesto, lo que permite hacer uso de dosis más bajas que las recomendadas con FC. Tal comportamiento fue menor en el segundo experimento con una dosis más baja 75 kg ha<sup>-1</sup> de N que en el tercer experimento (115 kg ha<sup>-1</sup> de N). Se concluyó que el nanocompuesto nitrogenado adsorbe y libera iones nitrato, no afecta tóxicamente a las lechugas en suelo y reduce las dosis de fertilizantes convencionales en el crecimiento del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*).

## SUMMARY

Inappropriate or excessive use of conventional fertilizers (FC) leads to low efficiency, which lowers crop yields and increases the fertilization cost. Furthermore, this also causes adverse environmental impacts, due to nutrient leaching, surface runoff, denitrification and volatilization. Various slow-release, nanocomposite-based fertilizers have been developed to address this problem. The hypothesis of this research is that nitrogenous nanocomposites (NCN) based on modified bentonite (BM) can adsorb nitrate ions and slowly release them to improve their growth efficiency in lettuce crops in soil. With the objective of manufacturing and evaluating nitrogenous nanocomposites based on modified bentonite as a slow-release fertilizer to improve the efficiency of the fertilizer in the growth of lettuce plants (*Lactuca sativa*) in soil. In the present research, the toxicity of 4 surfactants used in the preparation of the BM was evaluated, the HDA was the surfactant to cause less damage to the crop, because it has the shortest carbon chain length which causes null or low toxicity. Therefore, this nitrogenous nanocomposite with the modification of the hexadecyl amine (HDA) surfactant can adsorb and release nitrate ions and was obtained as NCN fertilizer for the following experiments. In two experiments, the effect of the nanocomposite was evaluated at different doses of N, the first experiment 75-100-170 kg ha<sup>-1</sup> and the second 115-69-210 kg ha<sup>-1</sup> on soil columns, 8 treatments were applied as a result of the combination between NCN and FC; was used in proportions of 25, 50, 75 and 100%. The 8 combinations were: 0/100, 25/75, 50/50 and 75/25, in addition to using only the NCN material 25/0, 50/0, 75/0 and 100/0. The two experiments show the best effects on lettuce growth with the 50 and 75% nanocomposite treatments, which allows us to use lower doses than those recommended with FC. Such behavior was lower in the second experiment, perhaps due to a lower dose of 75 kg ha<sup>-1</sup> of N than in the third experiment 115 kg ha<sup>-1</sup> of N. It was concluded that the nitrogenous nanocomposite adsorbs and releases nitrate ions, it does not affect toxic to lettuce in soil and reduces doses of conventional fertilizers in the growth of lettuce (*Lactuca sativa*).

## INTRODUCCIÓN

El fertilizante es uno de los elementos fundamentales para mejorar la fertilidad del suelo, ya que el crecimiento y el rendimiento de las plantas dependen de macro y micronutrientes, especialmente nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) (Shaji *et al.*, 2021). Las prácticas de la agricultura convencional implican el uso extensivo de fertilizantes que juegan un papel crucial para lograr el máximo rendimiento (Kalia *et al.*, 2020). Sin embargo, debido a la alta solubilidad de los fertilizantes convencionales la mayoría de los nutrientes se pierden en el medio ambiente a través de la escorrentía superficial, la desnitrificación, la lixiviación y la volatilización (Stanley y Mahanty, 2019). Normalmente los nutrientes no logran llegar a sus sitios de destino (Lateef *et al.*, 2019) principalmente por una tasa de disolución desproporcionada con la tasa de absorción de nutrientes y la transformación de los nutrientes en formas no disponibles (Kalia *et al.*, 2020).

La escorrentía y lixiviación conducen a una baja eficiencia en el uso de nutrientes y por ello se requiere un aporte intensivo para mantener una alta productividad (Kalia *et al.*, 2020). Además de provocar problemas ambientales como alterar la estructura del suelo, aumentar las concentraciones de gases de efecto invernadero, eutrofización y deterioro de la calidad del agua (Calabi-Floody *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2018). Ante esta situación existen fertilizantes con propiedades que ayudan a contrarrestar estos problemas, en la literatura se conocen como nanofertilizantes los cuales tienen una función de lenta liberación de los nutrientes (SRF por sus siglas en inglés), que desempeñan un papel en la mejora de la eficiencia de los nutrientes y en la reducción de la frecuencia de la fertilización (Rashid *et al.*, 2021). El objetivo principal de los SRF es mejorar la calidad de los fertilizantes convencionales (Al-Shamaileh *et al.*, 2018) para reducir los peligros ambientales y el desperdicio de recursos (Giroto *et al.*, 2017) al reducir los costos de producción y eliminar las necesidades de múltiples aplicaciones de fertilizantes nitrogenados (Guertal, 2009). Los SRF se caracterizan por una tasa más lenta de liberación (Rajan *et al.*, 2021); generalmente se fabrican encapsulando fertilizantes solubles con materiales que funcionan como una barrera para evitar que los nutrientes se liberen rápidamente y causen efectos ambientales negativos (Andelkovic *et al.*, 2018).

Normalmente son de dos tipos; natural y sintético; los sintéticos son insolubles en agua hasta cierto punto y su disponibilidad depende principalmente de la salud del suelo (Rahman *et al.*, 2021).

Además de los diversos beneficios de los SRF en los fertilizantes convencionales, el uso de SRF se limita a cultivos de alto valor que representan el 1% del consumo total de fertilizantes; su alto costo se debe a lo costosos de los materiales soportes de recubrimiento y las técnicas complicadas para su producción. Las formulaciones de SRF existentes utilizan materiales portadores inertes que no tienen ningún otro efecto beneficioso sobre las propiedades químicas, biológicas y físicas del suelo (Rashid *et al.*, 2021).

La nanotecnología puede ayudar a mejorar el conocimiento de procesos físicos, químicos y biológicos que ocurren en los ecosistemas agrícolas, al manipular la materia a un nivel nanométrico; gracias a la nanotecnología se han creado materiales, dispositivos y estructuras para el desarrollo de la agricultura de precisión. Los nutrientes de los nanofertilizantes se pueden complementar de tres maneras utilizando nanotecnología: encapsulación con nanomateriales, recubrimiento de una fina película protectora polimérica, o como nanoemulsiones o nanopartículas, en forma de materiales nanoporosos, nanopolímeros o nanocompuestos (Calabi-Floody *et al.*, 2018).

Se han utilizado diferentes nano materiales para modificar los fertilizantes nitrogenados y se ha demostrado que dichas modificaciones pueden controlar o retardar la liberación de N, lo que permite aumentar la absorción y la productividad de las plantas (Dimkpa *et al.*, 2020). Kottegoda *et al.* (2011) describieron un nano N-fertilizante de liberación lenta compuesto por hidroxiapatita (HAP)-urea. HAP es un mineral rico en P y Calcio (Ca) que se produce de forma natural y que también se puede sintetizar. Otro material utilizado para reducir la pérdida de N son las arcillas, las cuales son muy abundantes en la naturaleza. Zhou *et al.* (2017) formularon nanoarcilla, humato de sodio (un inhibidor natural de la ureasa). En este proceso, la atapulgita, compuesta de magnesio, aluminio y sílice se presenta de forma natural como un mineral de arcilla de tamaño nanométrico. Zhou *et al.* (2017) reportaron una mayor eficiencia en el uso de fertilizantes nitrogenados y un aumento de 11% en el rendimiento del grano de arroz, utilizando un 20 % menos de fertilizante de urea. De manera similar, se han probado nanocompuestos de urea producidos con arcilla de montmorillonita e hidrogel de poliacrilamida, estas

formulaciones a nanoescala mostraron fuertes reducciones en la liberación total de N del suelo (Yamamoto *et al.* 2016).

Los materiales porosos son amplios y van desde hidroxiapatita, biocarbón, arcilla, estructura metal orgánica, zeolita, NP de sílice mesoporosa (MSN), polímeros y materiales a base de carbono (Sharma *et al.*, 2021). La modificación física y química de estas partículas brindan la capacidad de interactuar con iones, átomos y moléculas, brindando el lujo de cargar partículas sólidas (Zhao, 2006). El cambio de afinidad de las arcillas permite que los materiales porosos muestren una liberación espontánea y dirigida, lo que los hace atractivos para la entrega eficiente de agroquímicos (Cao *et al.*, 2016). Con base en lo anterior, se plantearon las siguientes hipótesis y objetivos.

### **Hipótesis**

Los nanocompuestos nitrogenados a base de bentonita modificada pueden adsorber iones nitrato y liberarlos lentamente para mejorar su eficiencia en el crecimiento del cultivo de lechugas en suelo.

### **Objetivo General**

Fabricar y evaluar nanocompuestos nitrogenados a base de bentonita modificada como fertilizante de lenta liberación para mejorar la eficiencia del fertilizante en el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) en suelo.

### **Objetivos específicos**

1. Evaluar la fitotoxicidad de los surfactantes bromuro de hexadecil trimetil amonio, cloruro de octadecil trimetil amonio, dodecil amina y hexadecil amina en un sistema hidropónico en el cultivo de lechuga.
2. Evaluar la aplicación de nanocompuestos nitrogenado (NCN) como fertilizante de liberación lenta en suelo y su efecto en el crecimiento del cultivo de lechuga.
3. Evaluar una arcilla modificada como nanocompuesto nitrogenado de lenta liberación y su efecto en el crecimiento, lixiviación y contenido de N del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*).

## Literatura citada

- Al-Shamaileh, E., Al-Rawajfeh, A. E., y Alrbaihat, M. 2018. Mechanochemical synthesis of slow-release fertilizers: a review. *The Open Agriculture Journal*, 12(1).
- Andelkovic, I. B., Kabiri, S., Tavakkoli, E., Kirby, J. K., McLaughlin, M. J., y Losic, D. 2018. Graphene oxide-Fe (III) composite containing phosphate—A novel slow-release fertilizer for improved agriculture management. *Journal of cleaner production*, 185, 97-104.
- Calabi-Floody, M., Medina, J., Rumpel, C., Condrón, L. M., Hernandez, M., Dumont, M., y de La Luz Mora, M. 2018. Smart fertilizers as a strategy for sustainable agriculture. *Advances in agronomy*, 147, 119-157.
- Cao L, Zhang H, Cao C, Zhang J, Li F, Huang Q. Quaternized chitosan-capped mesoporous silica nanoparticles as nanocarriers for controlled pesticide release. *Nanomaterials* 2016; 6:126.
- Dimkpa, C. O., Fugice, J., Singh, U., y Lewis, T. D. 2020. Development of fertilizers for enhanced nitrogen use efficiency—Trends and perspectives. *Science of The Total Environment*, 731,139113.
- Giroto, A. S., Guimarães, G. G., Foschini, M., y Ribeiro, C. 2017. Role of slow-release nanocomposite fertilizers on nitrogen and phosphate availability in soil. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
- Guertal, E. A. 2009. Slow-release nitrogen fertilizers in vegetable production: a review. *HortTechnology*, 19(1), 16-19.
- Guo, H., White, J. C., Wang, Z., y Xing, B. 2018. Nano-enabled fertilizers to control the release and use efficiency of nutrients. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 6, 77-83.
- Kalia, A., Sharma, S. P., Kaur, H., and Kaur, H. 2020. Novel nanocomposite-based controlled-release fertilizer and pesticide formulations: Prospects and challenges. *Multifunctional hybrid nanomaterials for sustainable agri-food and ecosystems*, 99-134.
- Kottegoda, N., Sandaruwan, C., Priyadarshana, G., Siriwardhana, A., Rathnayake, U. A., Berugoda Arachchige, D. M. y Amaratunga, G. A. 2017. Urea-hydroxyapatite nanohybrids for slow release of nitrogen. *ACS nano*, 11(2), 1214-1221.
- Lateef, A., Nazir, R., Jamil, N., Alam, S., Shah, R., Khan, M. N., y Saleem, M. 2019. Synthesis and characterization of environmental friendly corncob biochar-based nano-composite—A potential slow-release nano-fertilizer for sustainable



- agriculture. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 11, 100212.
- Rahman, M. H., Haque, K. S., y Khan, M. Z. H. 2021. A review on application of controlled released fertilizers influencing the sustainable agricultural production: A Cleaner production process. *Environmental Technology & Innovation*, 23, 101697.
- Rajan, M., Shahena, S., Chandran, V., y Mathew, L. 2021. Controlled release of fertilizers—concept, reality, and mechanism. In *Controlled Release Fertilizers for Sustainable Agriculture* (pp. 41-56).
- Rashid, M., Hussain, Q., Khan, K. S., Alwabel, M. I., Hayat, R., Akmal, M. y Alvi, S. 2021. Carbon-based slow-release fertilizers for efficient nutrient management: synthesis, applications, and future research needs. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(2), 1144-1169.
- Shaji, H., Chandran, V., y Mathew, L. 2021. Organic fertilizers as a route to controlled release of nutrients. In *Controlled Release Fertilizers for Sustainable Agriculture* pp. 231-245.
- Sharma, S., Sahu, B. K., Cao, L., Bindra, P., Kaur, K., Chandel, M. y Shanmugam, V. 2021. Porous nanomaterials: Main vein of agricultural nanotechnology. *Progress in Materials Science*, 121, 100812.
- Stanley, N., y Mahanty, B. 2020. Preparation and characterization of biogenic CaCO<sub>3</sub>-reinforced polyvinyl alcohol–alginate hydrogel as controlled-release urea formulation. *Polymer Bulletin*, 77(2), 529-540.
- Yamamoto, C. F., Pereira, E. I., Mattoso, L. H., Matsunaka, T., y Ribeiro, C. 2016. Slow-release fertilizers based on urea/urea–formaldehyde polymer nanocomposites. *Chemical Engineering Journal*, 287, 390-397.
- Zhao, X.S. 2006. Novel porous materials for emerging applications. *Journal of Materials Chemistry* 16 (7) : 623-625.
- Zhou, L., Zhao, P., Chi, Y., Wang, D., Wang, P., Liu, N. y Zhong, N. 2017. Controlling the hydrolysis and loss of nitrogen fertilizer (urea) by using a nanocomposite favors plant growth. *ChemSusChem*, 10(9), 2068-2079.

**CAPITULO I. EFECTO FITOTOXICO DE CUATRO SURFACTANTES  
CATIONICOS EN PLANTAS DE LECHUGA (*LACTUCA SATIVA* L.)  
HIDROPÓNICA.**

**PHYTOTOXIC EFFECT OF FOUR CATIONIC SURFACTANTS ON  
HYDROPONIC LETTUCE (*Lactuca sativa* L.) PLANTS.**

**Resumen**

Los surfactantes se usan en la agricultura como acondicionadores del suelo, componentes de fungicidas, plaguicidas y fertilizantes. Estos materiales pueden contaminar el suelo y el ambiente al impactar, en la salud humana, puesto que pueden ser absorbidos por seres humanos además de plantas y animales. El objetivo de este estudio fue evaluar la fitotoxicidad de cuatro surfactantes catiónicos: bromuro de hexadecil trimetil amonio (HDTMA), cloruro de octadecil trimetil amonio (OTAC), dodecil amina (DDA) y hexadecil amina (HDA), en un sistema hidropónico en el cultivo de lechuga, en dosis de 0 a 10 mg/L. Las variables evaluadas fueron: consumo de agua, peso seco, área foliar, conductividad eléctrica y absorción de N, K y Ca. Después de 40 días de exposición con DDA el peso seco de la planta no mostró diferencias significativas con ninguna dosis aplicada; la aplicación de 1 mg L<sup>-1</sup> de HDTMA disminuyó 27% , con 4 mg L<sup>-1</sup> de OTAC 46 % y con 4 mg L<sup>-1</sup> de HDA 60%; el consumo de agua se redujo 27% con la aplicación de un mg L<sup>-1</sup> de HDTMA, con 2 mg <sup>-1</sup>L 20 % con OTAC, 34% con HDA y con DDA no existió diferencia entre dosis. En la mayoría de las variables se repitió esta tendencia donde el surfactante DDA no provocó diferencias, el surfactante HDA fue el segundo surfactante en provocar menor daño al cultivo, debido a que no tienen un ion acompañante tóxico como Cl y Br además la menor longitud de cadena de carbonos puede estar implicada en su nula o baja toxicidad.

**Palabras clave:** bromuro de hexadecil trimetil amonio, cloruro de octadecil trimetil amonio, dodecil amina, hexadecil amina, fitotoxicidad.

**Summary**

Surfactants are used in agriculture as soil conditioners, components of fungicides, pesticides, and fertilizers. These materials can contaminate the soil and the environment

by impacting on human health, since they can be absorbed by humans as well as plants and animals. The objective of this study was to evaluate the phytotoxicity of four cationic surfactants hexadecyl trimethyl ammonium bromide (HDTMA), octadecyl trimethyl ammonium chloride (OTAC), dodecyl amine (DDA) and hexadecyl amine (HDA) in a hydroponic system in the cultivation of lettuce in doses of 0 to 10 mg L<sup>-1</sup>. The variables evaluated were water consumption, dry weight, leaf area, electrical conductivity and absorption of N, K and Ca. After 40 days of exposure with DDA, the dry weight of the plant did not show significant differences with any applied dose. The application of 1 mg L<sup>-1</sup> of HDTMA decreased 27%, with OTAC 46% with 4 mg L<sup>-1</sup> and 60% with 4 mg L<sup>-1</sup> of HDA. Water consumption was reduced 27% with the application of 1 mg L<sup>-1</sup> of HDTMA, with 2 mg L<sup>-1</sup> 20% with OTAC, 34% with HDA and with DDA there was no difference between doses. In most of the variables, this trend was repeated where the DDA surfactant did not cause differences, the HDA surfactant was the second surfactant to cause less damage to the culture, due to the fact that they do not have a toxic companion ion such as Cl and Br, in addition to the shorter length of Carbon chain may be involved in its low or no toxicity.

**Key words:** hexadecyl trimethyl ammonium bromide, octadecyl trimethyl ammonium chloride, dodecyl amine, hexadecyl amine, phytotoxicity

## **Introducción**

El rendimiento y calidad de los cultivos en la productividad agrícola dependen en gran medida de las condiciones del suelo. El suelo puede estar contaminado por numerosas sustancias, como metales pesados y productos químicos utilizados en diferentes campos de la actividad humana (Biczak *et al.*, 2018), como el agua residual doméstica y de efluentes industriales, que contienen residuos agrícolas, fertilizantes, residuos de actividades industriales, mineras y refinerías (Chopra *et al.*, 2009). Estas actividades pueden contaminar el suelo con metales, metaloides, como Pb, Cd y As, hidrocarburos aromáticos policíclicos y bifenilos policlorados, entre otros. La presencia de estos contaminantes en el suelo puede ser dañina para plantas, animales y los seres humanos (Kopittke *et al.*, 2019).

Los surfactantes son compuestos de moléculas anfipáticas o anfifílicas que contienen restos hidrofóbicos o lipofílicos (repelentes al agua) e hidrofílicos o polares (absorbentes de agua) (Massinon *et al.*, 2014). El grupo hidrófobo suele ser un hidrocarburo de cadena larga y el grupo hidrófilo es un grupo iónico (Fernández-Cirreli *et al.*, 2008), como en los surfactantes catiónicos que contienen iones de amonio cuaternario como partes hidrófilas (Castro *et al.*, 2014). Esta estructura les da la propiedad de adsorberse fácilmente a las partículas que están cargadas negativamente (Ying, 2006). Los surfactantes se utilizan en la agricultura para la producción de biocidas (Gerba, 2015), acondicionadores del suelo (Abu-Zreig *et al.*, 2003), plaguicidas (Appah *et al.* 2020), herbicidas (Bałczewski *et al.*, 2018), fungicidas (Gillard y Ranatunga 2013), nanotecnología (Biczak *et al.*, 2018) y fabricación de nano formulaciones con arcillas (Kumar *et al.*, 2019; Romero-Méndez *et al.*, 2019; Romero-Méndez *et al.*, 2021), sin embargo, pueden llegar a ser contaminantes.

Los niveles elevados de surfactantes en el medio ambiente pueden afectar en gran medida el ecosistema, al generar toxicidad para los organismos, desde mamíferos, peces, algas, protozoos y bacterias entre otros (Ivanković y Hrenović 2010; Kreuzinger *et al.*, 2007; Jing *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2014).

Se ha investigado el uso de surfactantes en diferentes plantas cultivadas en suelo al utilizar agua de riego que contiene surfactantes. Se encontraron diversos síntomas de fitotoxicidad, surfactantes catiónicos, cloruro de tetraetil amonio y bromuro de tetraetil amonio en cebada y rábano (Pawłowska y Biczak 2016; Biczak *et al.*, 2018); cloruro de bencil dimetil dodecil amonio en Lemna minor (*Brassica napus*) (Ritcher *et al.*, 2016); surfactantes anionicos, sulfonato de aquil benceno lineal en lechuga (*Lactuca sativa*) y okra (*Abelmoschus esculentus*) (Sawadogo *et al.*, 2014; alquil benceno sulfonato de sodio en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) (Misra *et al.*, 2010). Un contacto directo y constante con los contaminantes presentes en el suelo provocan un daño a las membranas de las células de la raíz y los compuestos tóxicos podrían ingresar a las partes interiores del organismo vegetal (Liu *et al.*, 2013). Otros estudios se enfocan en la aplicación de surfactantes en sistemas hidropónicos con el objetivo de evaluar el impacto del uso de aguas contaminadas, en trigo Igepon TC-42, lauril éter sulfato sódico, cloruro de dodecil trimetil amonio en lechuga (Garland *et al.*, 2000; Garland *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2019) y

cloruro de dimetil dodecil amonio en berro (Khan *et al.*, 2018). En el sistema hidropónico las raíces tienen mejor acceso a la solución de nutrientes y, por lo tanto, las plantas crecen más rápido que en el cultivo en suelo convencional (Janiak *et al.*, 2020).

La mayoría de las investigaciones se han realizado en el cultivo de lechuga (Song y Kim 2016; Heidari, 2013, Wang *et al.*, 2011). En particular, las pruebas de fitotoxicidad con plantas como *Lactuca sativa* L. presentan varias ventajas. Primero, estas pruebas son simples, rápidas y confiables. En segundo lugar, son económicas y no requieren equipos costosos. En tercer lugar, las plantas pueden ser más sensibles al estrés ambiental que otros organismos (Valerio *et al.*, 2007).

Los resultados de toxicidad permiten estimar la evaluación del riesgo de contaminación ambiental sobre el posible uso de estas sustancias y así conocer los cambios fisiológicos en las plantas que por alguna razón están en contacto con surfactantes. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la fitotoxicidad de cuatro surfactantes catiónicos en el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivadas en hidroponía.

## **Materiales y Métodos**

### **Surfactantes**

Se estableció un experimento para cada uno de los cuatro surfactantes catiónicos: bromuro de hexadecil trimetil amonio ( $C_{19}H_{42}BrN$ ), cloruro de trimetil octadecil amonio ( $CH_3(CH_2)_{17}N(Cl)(CH_3)_3$ ), dodecil amina ( $CH_3(CH_2)_{11}NH_2$ ) y hexadecil amina ( $CH_3(CH_2)_{15}NH_2$ ) (Sigma Aldrich Chemical).

### **Materia prima**

Se usaron plantas de lechuga (var. Montemar) aproximadamente con 30 días de crecimiento, 6 hojas y con una altura de 12 cm las cuales se trasplantaron en recipientes de plástico oscuros de 1 L; cada planta se colocó en un recipiente con una solución nutritiva (Steiner, 1961), con composición (meq  $L^{-1}$ ): 12  $NO_3^-$ , 1  $H_2PO_4^-$ , 7  $SO_4^{2-}$ , 7  $K^+$ , 2  $Mg^{2+}$  y 9  $Ca^{2+}$ . Se utilizó agua purificada con pH de 6.0 y una conductividad eléctrica (CE) 0.2 dS  $m^{-1}$ . Los fertilizantes utilizados fueron  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ,  $KNO_3$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $K_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$ . Los micronutrientes se añadieron con Carboxy Micro, que

proporciona Fe 5 %, Zn 2,5 %, Mn 1 % y B 0,5 % a manera de quelato EDDHA. Las plantas tuvieron un período de adaptación de 5 días antes de la aplicación de los tratamientos. Durante los experimentos se midió diariamente CE y pH (Orion Meter 155, EE. UU).

## **Metodología**

### **Cultivo hidropónico de la lechuga con el sistema de raíz flotante**

Se estableció un sistema hidropónico de raíz flotante en los invernaderos de hidroponía de la Facultad de Agronomía y Veterinaria (UASLP), que consistió en cuatro experimentos (junio, agosto 2019 y enero, marzo 2020), en un invernadero tipo túnel de 9 x 5 m. La temperatura media fue (junio 20.36°C, agosto 19.62°C enero 14.06°C marzo 21.19°C).

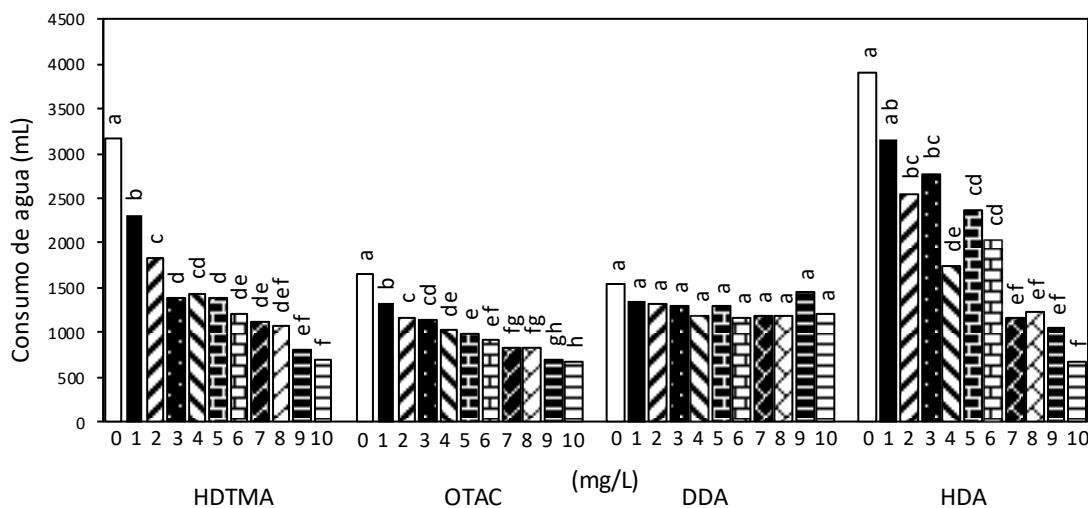
Los tratamientos de cada experimento fueron once: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 mg L<sup>-1</sup> de HDTMA, OTAC, DDA y HDA añadidos a la solución nutritiva (Steiner, 1961) al 25 %. Durante la evaluación, se agregó agua diariamente y la solución nutritiva se reemplazó cada diez días aumentado un 25 % la concentración de la solución Steiner hasta llegar al 75 %. El diseño experimental fue completamente al azar con 6 repeticiones por tratamiento (66 unidades experimentales) y una planta como unidad experimental. Las variables medidas cada 24 h fueron CE (Orion Meter 155, USA), contenido de Ca<sup>+2</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, K<sup>+</sup>, en la solución nutritiva (Ionómetro Laqua Twin, Horiba, Japón), consumo diario de agua (bureta de 50 mL). Al final del experimento se midieron las variables finales biomasa seca de raíz y hoja en horno de secado de aire forzado (Omron, Japón), a 72°C, hasta obtener un peso constante, en una balanza digital (serie Ohaus PAJ4102N Gold, USA), ancho, largo (regla 20 cm) y número de hojas (visualmente) y área foliar (CID 202 Portátil Leaf Área Meter, USA).

### **Análisis estadístico**

Los datos obtenidos en los experimentos se analizaron con un ANOVA y las medias de los tratamientos se compararon mediante una prueba de Tukey (p < 0.05), realizada con SAS versión 9.0.

## Resultados y Discusión

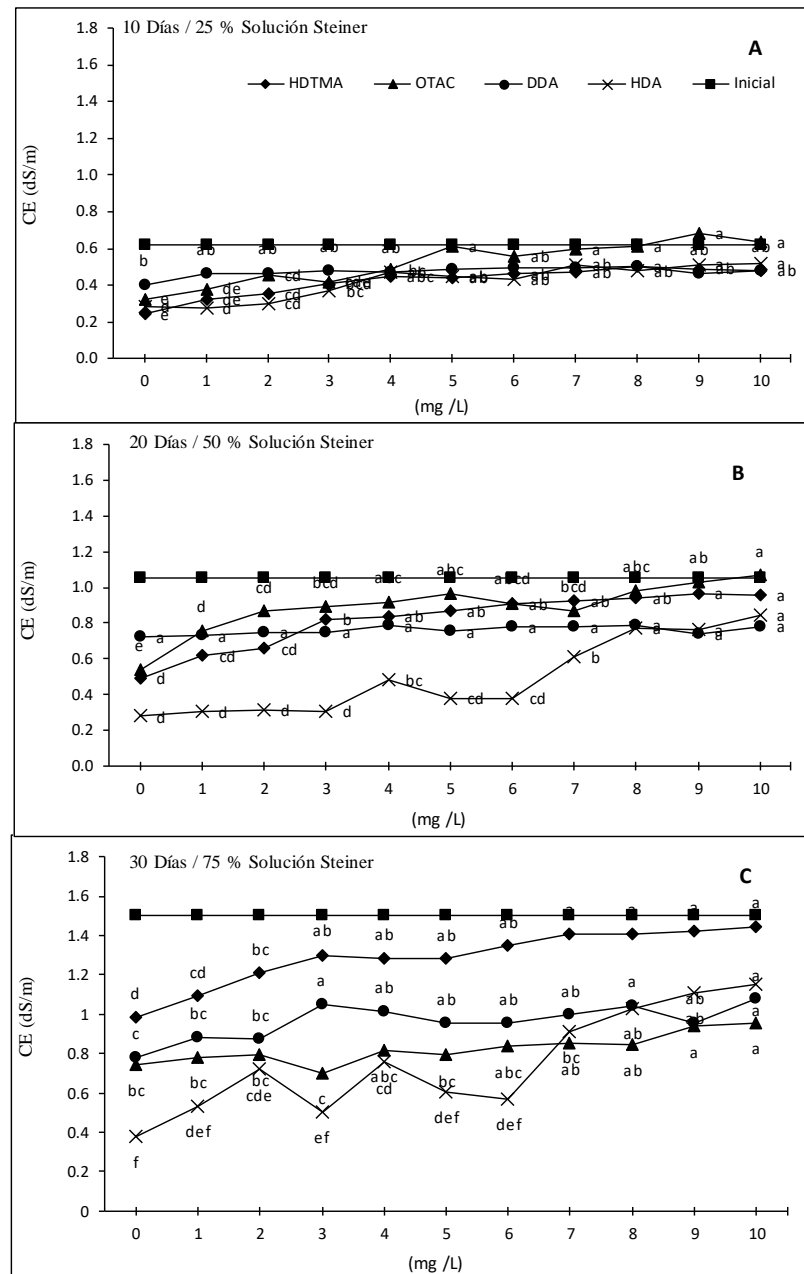
En el consumo de agua (Figura 1) con el surfactante DDA no mostró diferencias significativas con ninguna dosis aplicada. El HDA a partir de la dosis de 2 mg L<sup>-1</sup>, redujo de 34 hasta 82 % el consumo de agua. En OTAC 19.9 a 59 % a partir de 1 mg L<sup>-1</sup> y el HDTMA a partir de 1 mg L<sup>-1</sup> afectó el consumo de agua de 27 a 78.4 %. En cultivo de lechuga hidropónica con una dosis de 0.5 mg L<sup>-1</sup> de HDTMA disminuyó el consumo de agua en un 17.5 %, debido a que el surfactante afectó el sistema radical y esto limitó la absorción de agua (Romero-Méndez *et al.*, 2019). En este sentido, Pawloska *et al.* (2016) mencionan que los surfactantes catiónicos presentes en la rizosfera, al estar en contacto directo con la raíz inducen a una limitación en el crecimiento de raíces. Esto debido a que el surfactante provoca un daño en las membranas de las células y los compuestos tóxicos ingresan a las partes internas de la planta (Liu *et al.*, 2013).



**Figura 1.** Consumo de agua durante el periodo de contacto a cuatro surfactantes: HDTMA, OTAC, DDA y HDA en el crecimiento de lechuga hidropónica. Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas (Tukey;  $P < 0.05$ ).

La CE (Figura. 2 A) inicial de la solución al 25 % es de 0.62 dS m<sup>-1</sup> y en la aplicación con surfactantes después de 10 días de exposición, el DDA redujo a 0.40 con un 35 % menor a la concentración inicial, sin embargo, en las dosis no se observaron diferencias entre ellas. Por otra parte, los otros surfactantes mostraron una disminución en el contenido a partir de 2 mg L<sup>-1</sup> en HDTMA 0.35 y 0.45 dS m<sup>-1</sup> en OTAC con una reducción

del 43 % y 27.4 % respectivamente. Mientras que con HDA con una dosis de 3 mg L<sup>-1</sup> se observó una disminución a 0.36 dS m<sup>-1</sup> lo que corresponde a un 42 %. Helbel-Junior *et al.* (2008) menciona que una menor concentración de sal está relacionada con una reducción de la conductividad eléctrica (CE).



**Figura 2.** Conductividad Eléctrica durante el desarrollo de lechuga hidropónica expuesta a cuatro surfactantes (HDTMA, OTAC, DDA y HDA). A) 10 días, 25% Solución Steiner. B) 20 días, 50 % Solución Steiner. C) 30 días, 75% Solución Steiner. Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas Tukey; (P < 0.05).

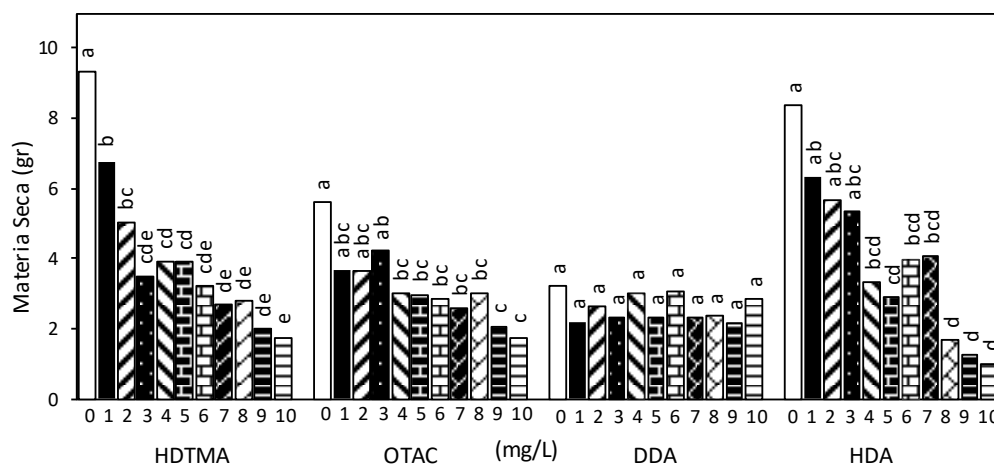


Al cambiar la solución a un 50 % la CE inicial (Figura 2 B) fue de  $1.05 \text{ dS m}^{-1}$  y al aplicar los surfactantes existió una reducción de la CE. Con DDA se redujo a  $0.72 \text{ dS m}^{-1}$  en un 31 % menor a la inicial y, además, no se presentaron diferencias en las demás dosis. Domingues *et al.* (2012) mencionan que la conductividad eléctrica es proporcional al contenido total de iones, por lo que una reducción de la CE va acompañada de una menor cantidad total de iones disponibles para la absorción por las raíces. Para HDTMA se redujo un 22 % al aplicar  $3 \text{ mg L}^{-1}$  con un valor de  $0.82 \text{ dS m}^{-1}$ . Para OTAC la reducción se presentó con un valor de  $0.75 \text{ dS m}^{-1}$  que corresponde a un 28 % pero con una dosis de  $1 \text{ mg L}^{-1}$ . Y para el surfactante HDA con una dosis de  $4 \text{ mg L}^{-1}$  en un 54 % menor que la concentración inicial. Esto se puede comparar con los resultados obtenidos por Janiak *et al.* (2020) que midió la conductividad eléctrica (CE) para estimar la presión osmótica de la solución durante el ciclo de crecimiento de la lechuga, la CE en los cultivos con surfactantes fue 1.2-1.5 veces mayor que en el cultivo de referencia con agua limpia.

Al utilizar una solución del 75 % la CE inicial (Figura 2 C) fue de  $1.5 \text{ dS m}^{-1}$  y después de 10 días la CE mostró diferencias significativas. Para los surfactantes HDTMA y HDA se redujo en un 20 y 52 % al utilizar una dosis de  $2 \text{ mg L}^{-1}$ , con valores de 1.2 y  $0.72 \text{ dS m}^{-1}$  respectivamente. De manera similar ocurrió con OTAC y DDA, pero con una dosis de  $3 \text{ mg L}^{-1}$ , al reducir a  $0.70$  y  $1.05 \text{ dS m}^{-1}$  en un 53 y 30 % respectivamente. Romero-Méndez *et al.* (2019) mencionan que la exposición del surfactante HDTMA en la solución nutritiva del cultivo hidropónico de lechuga daña la raíz al limitar la absorción de nutrientes, debido a que la CE casi no disminuye. Además, de que cada uno de los macro y micronutrientes tiene al menos una función dentro de la planta y su exceso o deficiencia conduce a síntomas de deficiencia o toxicidad característica (Domingues *et al.*, 2012).

La materia seca (Figura 3) no mostró diferencias significativas con ninguna dosis aplicada del surfactante DDA. El OTAC disminuyó un 46 a 67 % en materia seca conforme se aumentó la dosis a partir de  $4 \text{ mg L}^{-1}$ . De igual manera, el HDA a partir de la dosis de  $4 \text{ mg L}^{-1}$  redujo de 60 hasta 88 % y el HDTMA a partir de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  afectó de 27 a 81 %. Como mencionan Janiak *et al.* (2020) se reduce 50 % la materia seca de lechuga cultivada aeropónicamente por 42 días con una dosis de  $1.7 \text{ g L}^{-1}$  del surfactante aniónico SLES. De igual manera, en lechuga cultivada durante cuatro meses con agua de riego y

detergente aniónico (*linear alkylbenzene sulphonate*) disminuye la materia seca un 30 % con una concentración de 13 mg L<sup>-1</sup> y 75 % con una concentración de 135 mg L<sup>-1</sup> (Sawdogo *et al.*, 2014). Khan *et al.* (2018) menciona que la presencia de surfactantes catiónicos en el cultivo de lechuga durante 12 días reduce un 66 % con BDTH y 75 % con BDDA a una concentración de 0.25 mg L<sup>-1</sup>, lo que podría afectar el proceso metabólico de las plantas. Los surfactantes catiónicos, en concentraciones de 0.5 a 5 mg L<sup>-1</sup>, son algicidas, bacteriostáticos, tuberculostáticos, esporostáticos y fungicidas y a concentraciones de 10 a 50 mg L<sup>-1</sup>, son microbicidas para estos mismos grupos, según el organismo y la formulación específicos (Merianos, 2001). La materia seca en nuestro trabajo se reduce al utilizar un surfactante catiónico, probablemente porque la longitud de cadena de carbonos pudiera estar implicada en su toxicidad. OTAC 21, HDTMA 19, HDA 16 y DDA 12, como en el caso del DDA al tener una cadena corta no presentó un efecto tóxico. Bizcak *et al.* (2018) mencionan que la longitud del sustituyente en el catión es un factor que afecta la toxicidad de los líquidos iónicos. Los compuestos con sustituyentes que constan de varios átomos de carbono exhiben afinidad hacia las membranas biológicas, lo que provoca su fuga y permiten la penetración de los líquidos iónicos en el interior de las células. Sin embargo, esta regularidad solo se aplica a los medios acuáticos. Como en nuestro caso con el sistema hidropónico de raíz flotante.



**Figura 3.** Materia seca de tejido vegetal de lechuga expuesta a cuatro surfactantes: HDTMA, OTAC, DDA y HDA en el crecimiento de lechuga hidropónica. Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas (Tukey; (P < 0.05).

Los resultados en el (Cuadro 1) mostraron que la aplicación de surfactantes en la solución nutritiva afectó las variables número de hojas, longitud y ancho de hoja. El número de hojas se redujo con dosis de 1 mg L<sup>-1</sup> 23 % en HDTMA y 31 % con OTAC, en HDA 18 % con dosis de 4 mg L<sup>-1</sup> y con DDA disminuyó 22 % con dosis de 3 y 8 mg L<sup>-1</sup>.

La dosis de 2 mg L<sup>-1</sup> y a partir de 4 mg L<sup>-1</sup> en HDTMA afectaron la longitud de la hoja en un 16-21 %, en OTAC a partir de 4 mg L<sup>-1</sup> 21 %, en HDA la dosis de 4 mg L<sup>-1</sup> y a partir de 7 mg L<sup>-1</sup> afectaron la longitud de la hoja en 30–40 % mientras que DDA no mostró diferencias.

**Cuadro 1.** Características de las hojas de lechuga en los tratamientos con cuatro surfactantes

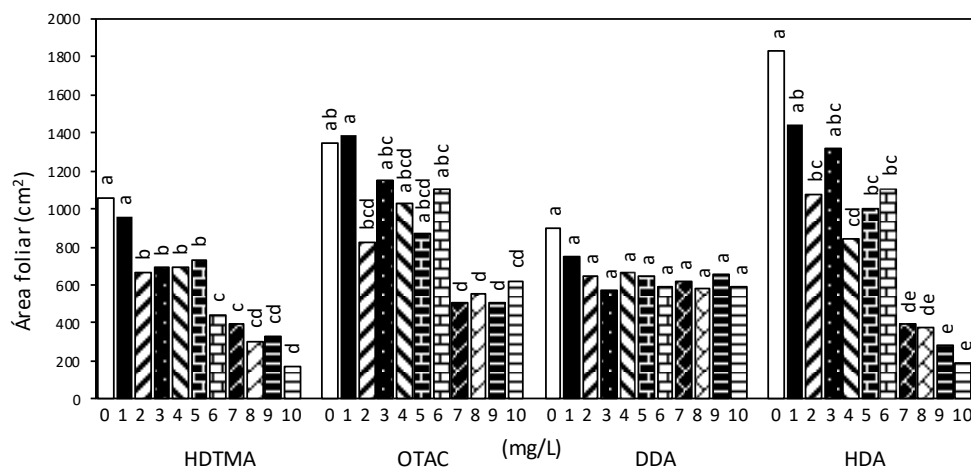
Tratamiento	Numero de Hojas				Longitud de hoja (cm)				Ancho de hoja (cm)			
	HDTMA	OTAC	DDA	HDA	HDTMA	OTAC	DDA	HDA	HDTMA	OTAC	DDA	HDA
0 mg/L	20.0 a	21.3 a	14.0 ab	15.0 a	14.3 a	13.5 a	13.0 a	14.8 a	11.5 a	13.7 a	10.6 a	14.7 a
1 mg/L	15.3 b	14.5 b	12.3 ab	15.2 a	12.7 ab	12.5 a	11.7 a	14.2 a	10.2 ab	9.7 bcd	9.0 bcd	13.5 ab
2 mg/L	12.5 bc	15.7 b	11.3 ab	12.8 ab	12.0 bc	13.2 a	11.4 a	12.2 ab	9.7 abc	10.8 b	9.2 b	11.7 bc
3 mg/L	12.8 bc	15.7 b	10.8 b	13.5 ab	12.3 ab	13.0 a	10.5 a	13.5 a	9.5 abc	11.0 b	8.8 b	13.2 ab
4 mg/L	13.5 bc	14.0 b	15.2 a	12.2 b	11.2 bcd	10.7 b	11.0 a	10.3 bc	9.7 abc	10.5 bc	8.2 bc	12.2 bc
5 mg/L	13.2 bc	11.5 c	12.7 ab	13.0 ab	10.0 cde	9.5 bc	12.0 a	12.8 ab	8.0 c	8.8 cde	9.5 cde	13.2 ab
6 mg/L	12.0 cd	11.2 c	12.2 ab	13.7 ab	9.7 de	7.2 d	10.7 a	13.7 a	8.7 bc	8.2 de	8.5 de	13.2 ab
7 mg/L	10.7 cd	10.7 c	12.7 ab	9.7 c	9.3 de	8.0 cd	10.8 a	8.8 cd	7.8 c	7.8 e	8.3 e	9.5 cd
8 mg/L	11.0 cd	11.5 c	11.0 b	9.7 c	8.5 e	8.2 cd	11.0 a	9.0 cd	4.7 d	8.0 de	9.0 de	9.3 cd
9 mg/L	10.7 cd	10.8 c	11.8 ab	8.7 c	8.5 e	8.2 cd	11.7 a	7.8 cd	4.7 d	8.0 de	9.5 de	8.3 d
10 mg/L	9.2 d	10.2 c	11.5 ab	8.0 c	8.5 e	8.0 cd	12.0 a	7.3 d	5.5 d	7.3 e	9.7 e	7.8 d
DMS	2.85	2.09	4.01	2.38	2.24	1.50	2.52	2.69	2.10	1.78	2.92	2.48
CV	11.51	8.09	16.82	10.30	10.90	7.63	11.40	12.29	13.29	9.77	16.58	11.15

Letras distintas entre columnas indican diferencias significativas Tukey; (P <0.05).

Para el ancho de hoja el efecto negativo se presentó a partir de 5 mg L<sup>-1</sup> con HDTMA disminuyendo 30 %, en OTAC a partir de 2 mg L<sup>-1</sup> se redujo 21 %, en DDA las dosis aplicadas a partir de 1 mg L<sup>-1</sup> redujo 15 % y HDA con dosis de 2 mg L<sup>-1</sup> redujo 20 %, 4 mg L<sup>-1</sup> 17 % y a partir de 7 mg L<sup>-1</sup> 35 %. De acuerdo con lo mencionado por Richter *et al.* (2016) la fitotoxicidad del surfactante catiónico BDDA en *Lemna minor* mostró efectos visuales de hojas ligeramente cloróticas y una reducción general del tamaño y número de hojas. Mientras que, Trinchera y Baratella (2018) mencionan que en fertirriego la adición del surfactante no iónico de metil-oxirano no afectó el número de hojas en el cultivo de lechuga. En este caso el grado de fitotoxicidad depende de la concentración del surfactante, la duración de exposición, las diferencias de sustituyentes y especies entre plantas (Biczak *et al.*, 2018). Los tensioactivos pueden causar toxicidad de varias formas

debido al daño en la membrana celular (Demidchik *et al.*, 2014), también pueden unirse a varias proteínas en la célula y alterar los procesos fisiológicos y bioquímicos en la célula (Markina y Aizdaicher. 2007), debido a que este proceso neutraliza las cargas negativas en la membrana celular y se altera la interacción entre las cadenas de alquilo hidrófobas de QAC y los componentes lipídicos de las células (Jing *et al.*, 2012).

En el área foliar (Figura 4), el surfactante DDA no mostró ninguna diferencia con ninguna dosis aplicada. En los demás tratamientos a partir de 2 mg L<sup>-1</sup> se redujo el área foliar conforme aumentó la dosis. El OTAC se redujo de un 40 a 55 %, el HDA de 41 hasta 89 % y el HDTMA de 37 a 83 %. En contraste, Trinchera y Baratella (2018) mencionan que, en el caso de lechuga con el uso de surfactantes con fertirrigación en suelo, indujo hojas más expandidas y delgadas, aumentando el área foliar de 5 a 13 % al utilizar una concentración de 0.2 - 1.0 mL de MOS (metil-oxirano) en la solución Hoagland.



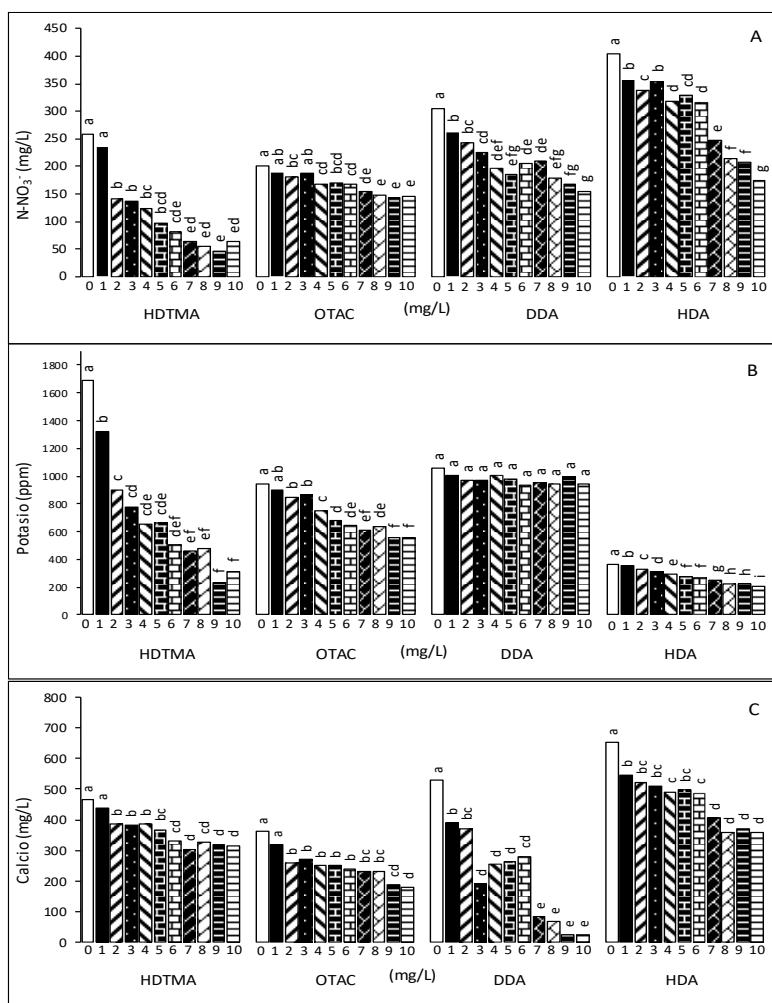
**Figura 4.** Área foliar de lechuga expuesta a cuatro surfactantes: HDTMA, OTAC, DDA y HDA en el crecimiento de lechuga hidropónica. Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas Tukey; (P < 0.05).

La absorción de nitrato de la solución nutritiva (Figura 5 A) en HDTMA y OTAC no se vio afectada por la dosis de 1 mg L<sup>-1</sup> al ser igual al testigo. La reducción en la absorción en estos surfactantes se refleja a partir de una dosis de 2 mg L<sup>-1</sup> de 45 a 82 % con HDTMA y de 10 a 28 % en OTAC. Con DDA y HDA, la reducción se presenta con todas las dosis de surfactante: DDA de un 14 a 49 % y con HDA de un 11 a 57 % a partir de dosis de 1

mg L<sup>-1</sup>. Khan *et al.* (2018) y Reichman y Wightwick (2013) obtuvieron resultados similares observando una reducción de un 50 % en el contenido de nitrato al usar surfactantes catiónicos, cloruro de bencil dimetil dodecil amonio y cloruro de bencil dimetil tetradecil amonio con una dosis de 0.025 – 0.25 mg L<sup>-1</sup>. Por otro lado, Trinchera y Baratella (2018) al administrar el surfactante tensioactivo no iónico metil oxirano (MOS) por fertirrigación a las dosis 0.2-1.0 mL L<sup>-1</sup>, observaron que la concentración de nutrientes cambió: para el nitrógeno total en la dosis de 0.2 mL L<sup>-1</sup> se presentó una leve disminución del 5 % y un aumento del 12 % al utilizar una dosis de 1.0 mL L<sup>-1</sup>, mientras que para el contenido de nitrato en la parte comestible disminuyó 19 % con una dosis de 1.0 mL L<sup>-1</sup> y un aumento de 2 % con una dosis de 0.2 mL L<sup>-1</sup>. En forma diferente, Janiak *et al.* (2020) reportan que la asimilación de nitrógeno no se vio afectada por la presencia del surfactante aniónico dodecil benceno sulfonato de sodio (SDBS) y aumentó 4% con una dosis de 0.08 g L<sup>-1</sup>. De igual manera, una dosis de 1.7 g L<sup>-1</sup> de lauril éter sulfato de sodio (SLES) aumentó un 7 % la asimilación de nitrógeno. Según Scagel (2003), cuando el contenido de algunos nutrientes es menor y el peso seco de la planta es el mismo en comparación con el control, el sistema se caracteriza por una mayor eficiencia de uso de dichos nutrientes, lo que corresponde a una menor absorción nutricional. Naseem *et al.* (2015) mencionan que cuando los contaminantes químicos se acumulan en los ambientes acuáticos o terrestres, las plantas pueden absorberlos a través de sus raíces, lo que puede causar fitotoxicidad.

La concentración de potasio (Figura 5 B) con el surfactante HDTMA en una dosis de 1 mg L<sup>-1</sup> produjo una disminución en la absorción de potasio en un 22 a 81 %. Para el caso de OTAC a partir de 2 mg L<sup>-1</sup> la absorción se disminuyó en un 11 a 41 %. En el caso de DDA no existieron diferencias significativas, mientras que el surfactante HDA a partir de una dosis de 1 mg L<sup>-1</sup> disminuyó en un 38 a 43 %. Janiak *et al.* (2020) y Reichman y Wightwick (2013) también refirieron un efecto similar de los surfactantes en el nivel de potasio en el rango de 27 y 10 % con una dosis de 1.7-0.07 g L<sup>-1</sup> del surfactante aniónico lauril éter sulfato de sodio (SLES) y un 52-63 % al usar un detergente ecológico y aguas grises de lavandería. En contraste con Trinchera y Baratella (2018) al administrar el surfactante tensioactivo no iónico metil oxirano (MOS) por fertirrigación a las dosis 0.2-1.0 mL L<sup>-1</sup>, la concentración de nutrientes disminuyó ligeramente un 8 % para potasio,

esto indicó una menor disponibilidad de nutrientes que puede comprometer el rendimiento de la lechuga.

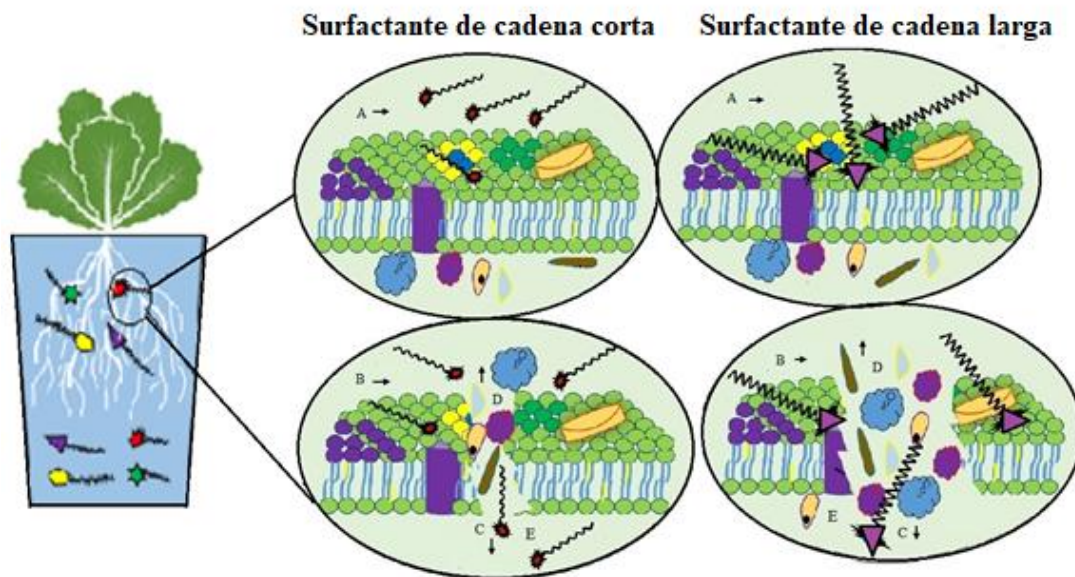


**Figura 5.** Absorción de nutrientes en lechuga expuesta a cuatro surfactantes: HDTMA, OTAC, DDA y HDA en el crecimiento de lechuga hidropónica. A) Nitrato. B) Potasio. C) Calcio. Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas Tukey; ( $P < 0.05$ ).

Calcio (Figura 5 C). En el surfactante HDTMA a partir de una dosis de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  se presentó una reducción en la absorción de un 17 a 32 %. Para el surfactante OTAC de la misma forma con una dosis de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  disminuyó la absorción en un 18 a 43 %. Para DDA se presentó una reducción a partir de una dosis de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de 26 a 95 % y para HDA con la misma dosis de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  disminuyó en un 17 a 45 %. Esta disminución se cumplió con Reichman y Wightwick (2013) quienes reportaron una reducción en el contenido de calcio en un 53 % al utilizar un detergente ecológico, en contradicción con

Janiak *et al.* (2020) que detecto un incremento del 18 % al usar el surfactante aniónico lauril éter sulfato de sodio (SLES) y un 11 % con la dosis de 0.08 g L<sup>-1</sup> del surfactante dodecil benceno sulfonato (SDBS) por lo que menciona Trinchera y Baratella (2018) que no fue un factor limitante para el crecimiento de la lechuga al tener resultados similares en la concentración de los nutrientes de calcio.

En estos experimentos donde se utilizaron diferentes surfactantes catiónicos como HDA DDA, HDTMA y OTAC se puede comprobar que los tensioactivos producen efectos biológicos que pueden influir en la toxicidad de los compuestos que integran las formulaciones. Los mecanismos que intervienen se muestran en la (Figura 6) y consisten en la alteración de la permeabilidad de membranas biológicas y barreras de difusión o procesos de transporte de membrana, unión a macromoléculas (péptidos, proteínas, fosfolípidos, ADN) al provocar un mal funcionamiento de estas (Cserhádi, 2002).



**Figura 6.** Efecto en la membrana celular del contacto con surfactantes de cadena corta y larga. A. Unión de surfactante a membrana, B. Ruptura de Membrana, C. Ingreso de Surfactante. D. Fuga de Constituyentes Intracelulares, E. Ingreso de iones acompañantes.

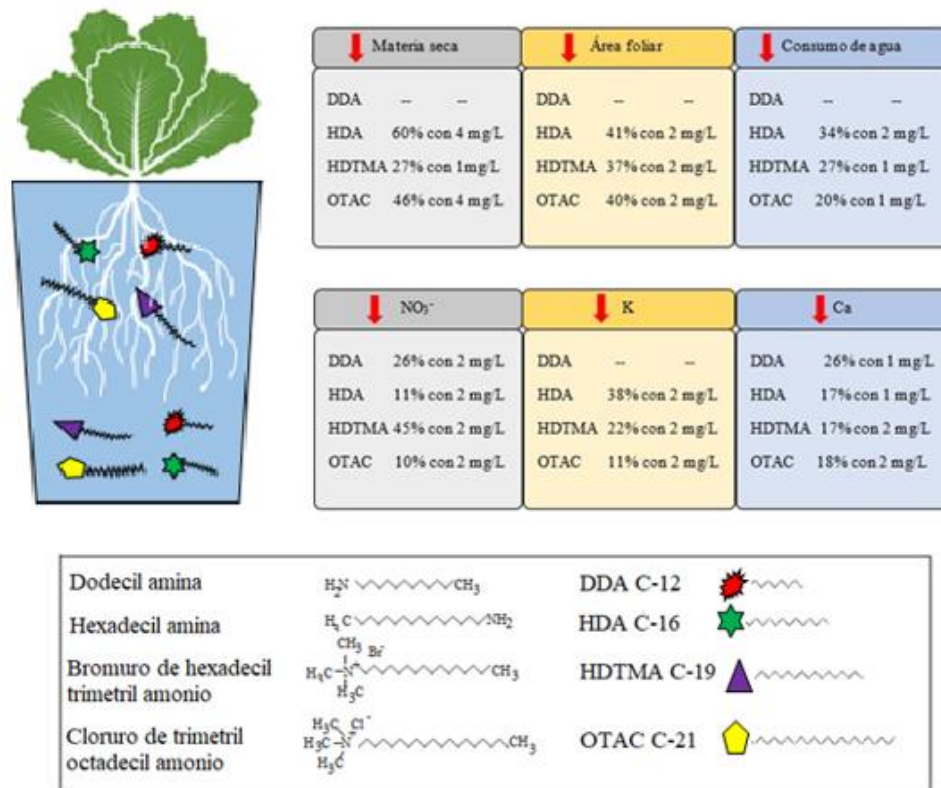
La unión de tensioactivos a péptidos y proteínas (Figura 6 A) puede alterar el plegamiento de la cadena polipeptídica y alterar la carga superficial de la molécula y

causar, a su vez, una modificación de su actividad biológica (Cserhádi, 2002). Las moléculas de tensioactivo, que tienen porciones polares y no polares (Figura 6 A, B y C), penetran las cadenas de alquilo en la membrana y alteran la bicapa de fosfolípidos de las membranas celulares del organismo (Pérez *et al.*, 2009). Esta interacción puede resultar en el cambio de la orientación de la membrana, lo que podría solubilizar, dañar y destruir la membrana y provocar la muerte de la célula (Wong *et al.*, 2012), como resultado de un shock osmótico (Abu-Ghunmi *et al.*, 2014) que provoca la fuga del constituyente intracelular (Pérez *et al.*, 2009) (Figura 6 D), además de aumentar la permeabilidad de la membrana hacia otros contaminantes presentes en el medio (Figura 6 E).

En la Figura 7 se puede observar un resumen del efecto tóxico que tienen los surfactantes en las variables para el cultivo hidropónico de lechuga. La toxicidad es muy dependiente de la longitud de la cadena hidrocarbonada y/o etoxilada, así como de la pureza de los compuestos químicos utilizados. En general, la toxicidad de los tensioactivos para células y animales acuáticos aumenta con la longitud de cadena etoxilada y disminuye con la ramificación (Rosen, 2012), aunque esta tendencia puede disminuir para longitudes de cadena de 14 átomos de carbono (Sandbacka, 2000).

Debido a la tendencia de adsorción de los tensioactivos sobre la superficie de la membrana que la rompen con el aumento de la longitud de la cadena hidrófoba (Wong *et al.*, 2012). La larga longitud de la cadena de alquilo de la porción hidrófoba aumenta la adsorción de las moléculas en las interfaces y los tensioactivos que tienen cadenas hidrófobas más cortas tendrán una menor tendencia a la adsorción en las interfaces (Wong *et al.*, 2012). Una actividad superficial elevada destruye más fácilmente la membrana debido a que las moléculas de tensioactivo tienen una mayor tendencia a adsorberse en la interfase (Negm *et al.*, 2010). Además, la morfología de la membrana biológica bicapa como el grosor, la estabilidad y la hidrofobicidad de la bicapa desempeñan un papel crucial en la afectación del mecanismo inhibitor de los tensioactivos (Balgavý y Devínsky 1996).





**Figura 7.** Efecto fitotóxico de surfactantes catiónicos en lechugas cultivadas en hidroponía.

### Conclusiones

Los surfactantes catiónicos al estar presentes en la solución nutritiva afectan negativamente el crecimiento de la lechuga y presentan una fitotoxicidad en el sistema radicular conforme se aumenta la concentración del compuesto en la solución, lo que, disminuyó el consumo de agua, absorción de iones como N, K, Ca, esto provocó que la conductividad eléctrica no disminuyera, lo cual se reflejó en menor cantidad de materia seca y área foliar. Los surfactantes catiónicos aplicados al cultivo hidropónico causaron síntomas de toxicidad, sin embargo, el surfactante DDA no generó daño en la mayoría de las variables, excepto en ancho de hojas donde se registró una reducción. El HDA fue otro de los surfactantes que menor daño causó a las plantas con dosis de 1 mg L<sup>-1</sup>. La longitud de la cadena de carbonos y el ion acompañante del surfactante podría estar implicada en la toxicidad de plantas de lechuga, las de cadena corta (HDA 16 y DDA 12) causan menor

daño que las de cadena larga (OTAC 21, HDTMA 19), y además el ion acompañante puede incrementar la toxicidad (cloro OTAC y bromo en HDTMA).

### **Literatura Citada**

- Abu-Ghunmi, L., Badawi, M., y Fayyad, M. 2014. Fate of Triton X-100 applications on water and soil environments: A review. *Journal of Surfactants and Detergents*, 17(5), 833-838.
- Abu-Zreig M., Rudra R.P., y Dickinson W.T. 2003. Effect of application of surfactants on hydraulic properties of soils. *Biosyst. Eng.* 84(3). 363-372.
- Appah S., Jia W., Ou M., Wang P., y Asante E.A. 2020. Analysis of potential impaction and phytotoxicity of surfactant-plant surface interaction in pesticide application. *J. Crop Prot.* 127. 104961.
- Bałczewski P., Biczak R., Turek M., Pawłowska B., Różycka-Sokołowska E., Marciniak, B., Deska M. y Skalik, J. 2018. Ammonium 2, 2'-thiodiacetates— Selective and environmentally safe herbicides. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 163. 408-416.
- Balgavý, P., y Devínsky, F. 1996. Cut-off effects in biological activities of surfactants. *Advances in colloid and interface science*, 66, 23-63.
- Biczak R., Telesiński A., Pawłowska, B., Curyło K., Y Snioszek, M. 2018. Phytotoxicity of quaternary ammonium salts with hexafluorophosphate anion. *Fresen. Environ. Bull.* 27(3) 1772-1777.
- Castro M. J., Ojeda C., y Cirelli, A. F. 2014. Advances in surfactants for agrochemicals. *Environ Chem Lett.* 12. 85–95.
- Chen Y., Geurts M., Sjollema S.B., Kramer N.I., Hermens J.L., y Droge S.T., 2014. Acute toxicity of the cationic surfactant C12-benzalkonium in different bioassays: how test design affects bioavailability and effect concentrations. *Environ. Toxicol. Chem.* 33. 606–615.
- Chopra A.K., Pathak C., y Prasad G. 2009. Scenario of heavy metal contamination in agricultural soil and its management. *J. Nat. Appl. Sci.* 1(1). 99-108.b
- Cserhádi, T., Forgács, E., y Oros, G. 2002. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environment international*, 28(5), 337-348.
- Demidchik V., Straltsova D., Medvedev S.S., Pozhvanov G.A., Sokolik A., y Yurin, V. 2014. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K<sup>+</sup>-permeable channels and

- involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *J. Exp. Bot.* 65(5). 1259-1270.
- Domingues D.S., Takahashi H.W., Camara C.A., y Nixdorf, S.L. (2012). Automated system developed to control pH and concentration of nutrient solution evaluated in hydroponic lettuce production. *Comput Electron Agric.* 84. 53-61.
- Fernández-Cirelli A., Ojeda C., Castro M.J.L., y Salgot, M., 2008. Surfactants in sludgeamended agricultural soils: a review. *Environ. Chem. Lett.* 6, 135–148.
- Garland J. L., Levine L.H., Yorio N.C., Adams J.L., y Cook K.L. 2000. Graywater processing in recirculating hydroponic systems: phytotoxicity, surfactant degradation, and bacterial dynamics. *Water Res.* 34(12). 3075-3086.
- Garland J.L., Levine L.H., Yorio N.C., y Hummerick M.E. 2004. Response of graywater recycling systems based on hydroponic plant growth to three classes of surfactants. *Water Res.* 38(8). 1952-1962.
- Gerba C.P. 2015. Quaternary ammonium biocides: efficacy in application. *Appl. Environ. Microbiol.* 81(2). 464-469.
- Gillard C.L., y Ranatunga N.K. 2013. Interaction between seed treatments, surfactants and foliar fungicides on controlling dry bean anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). *J. Crop Prot.* 45. 22-28.
- Helbel Junior C., Rezende R., Freitas P.S.L.D., Gonçalves, A. C. A., y Frizzone, J. A. 2008. Influência da condutividade elétrica, concentração iônica e vazão de soluções nutritivas na produção de alface hidropônica. *Ciênc. agrotec* 32(4). 1142-1147.
- Heidari H. 2013. Effect of irrigation with contaminated water by cloth detergent on seed germination traits and early growth of sunflower (*Helianthus annuus L.*). *Not. Sci. Biol.* 5(1), 86-89.
- Ivanković T., y Hrenović J. 2010. Surfactants in the environment. *Arh Hig Rada Toksikol.* 61(1). 95-1.
- Janiak K., Jurga A., Kuźma J., Breś W., y Muszyński-Huhajło M. 2020. Surfactants effect on aeroponics and important mass balances of regenerative life support system—Lettuce case study. *Sci. Total, Environ.* 718. 137324.
- Jing G., Zhou Z., Zhuo J., 2012. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) study of toxicity of quaternary ammonium compounds on *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus quadricauda*. *Chemosphere* 86, 76–82.

- Khan A.H., Libby M., Winnick D., Palmer J., Sumarah M., Ray M.B., y Macfie, S.M. 2018. Uptake and phytotoxic effect of benzalkonium chlorides in *Lepidium sativum* and *Lactuca sativa*. *J. Environ. Manage.* 206. 490-497.
- Kreuzinger N., Fuerhacker M., Scharf S., Uhl M., Gans O., y Grillitsch, B., 2007. Methodological approach towards the environmental significance of uncharacterized substances-quaternary ammonium compounds as an example. *Desalination* 215. 209–222.
- Kumar S., Nehra M., Dilbaghi N., Marrazza G., Hassan A.A., y Kim K.H. 2019. Nano-based smart pesticide formulations: Emerging opportunities for agriculture *J. Control. Release* 294. 131-153.
- Kopittke P.M., Menzies N.W., Wang P., McKenna B.A., y Lombi E. 2019. Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environ. Int.* 132. 105078.
- Li Y., Zhou C., Wang S., Lin Q., Ni Z., Qiu H., Morel J.L. y Qiu R. 2019. Phytotoxicity and oxidative effects of typical quaternary ammonium compounds on wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 26 (25), 25985-25999.
- Liu H., Zhang S., Hu X., y Chen C. 2013. Phytotoxicity and oxidative stress effect of 1-octyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid on rice seedlings. *Environ. Pollut.* 181. 242-249.
- Markina Z.V., Castro Aizdaicher N.A. 2007. Influence of laundry detergents on the abundance dynamics and physiological state of the benthic microalga *Attheya ussurensis* (Bacillariophyta) in laboratory culture. *Russ. J. Mar. Biol.* 33(6), 391-398.
- Massinon M., Boukhalfa H., y Lebeau F. 2014. The effect of surface orientation on spray retention. *Precis. Agric.* 15 (3), 241-254. <https://doi.org/10.1007/s11119-013-9345-2>.
- Merianos J.J. 2001. Surface-active agents. En: *Disinfection, sterilization, and preservation.* (S.S.Block). lippincott williams y wilkin. S. Florida EUA. 283-320.
- Misra R.K., Patel J.H., y Baxi V.R. 2010. Reuse potential of laundry greywater for irrigation based on growth, water and nutrient use of tomato. *J. Hydrol* 386 (1-4). 95-102.
- Naseem B., y Arif I. 2018. Effect of colloidal solutions of ionic surfactants on interactions between fertilizer and salts in saline soil at different temperatures: A thermo-acoustic study. *J. Mol. Liq.* 271. 452-471.

- Negm, N. A., Aiad, I. A., y Tawfik, S. M. (2010). Screening for potential antimicrobial activities of some cationic uracil biocides against wide-spreading bacterial strains. *Journal of surfactants and detergents*, 13(4), 503-511.
- Pawłowska B., y Biczak R. 2016. Evaluation of the effect of tetraethylammonium bromide and chloride on the growth and development of terrestrial plants. *Chemosphere* 149. 24-33.
- Pérez, P., Fernández, E., Beiras, R., 2009. Toxicity of benzalkonium chloride on monoalgal cultures and natural assemblages of marine phytoplankton. *Water Air Soil Pollut.* 201, 319–330.
- Reichman S.M., y Wightwick A.M. 2013. Impacts of standard and ‘low environmental impact’ greywater irrigation on soil and plant nutrients and ecology. *Appl Soil Ecol.* 72. 195-202.
- Richter E., Roller E., Kunkel U., Ternes T.A., y Coors A. 2016. Phytotoxicity of wastewater-born micropollutants–Characterization of three antimycotics and a cationic surfactant. *Environ Pollu.* 208, 512-522.
- Romero-Mendez M.J., Rojas-Velázquez A.N., Lara-Mireles J.L., Díaz-Flores P.E., y Woo- Reza J.L. 2019. Effect of a nitrogen fertilizer, based on modified bentonite and surfactant hdtma in the growth of hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Agrociencia* 53 (2), 219-234.
- Romero-Mendez M.J., Rojas-Velázquez A.N., Lara-Mireles J.L., y Woo-Reza J.L. Alcalá-Jauregui J.A. y Aguiar-Benítez G. 2021. Comportamiento de un fertilizante de liberación lenta a base de organobentonita- fosfato en plantas de lechuga. *Revista Fitotecnia. Mexicana* 44 (1) 51-58.
- Rosen, M. J., y Kunjappu, J. T. 2012. *Surfactants and interfacial phenomena.* John Wiley & Sons.
- Sawadogo B., Sou M., Hijikata N., Sangare D., Maiga A.H., y Funamizu N. 2014. Effect of detergents from grey water on irrigated plants: Case of Okra (*Abelmoschus esculentus*) and Lettuce (*Lactuca sativa*). *J. Arid Land.* 24 (1), 117-120.
- Sandbacka, M., Christianson, I., Isomaa, B. 2000. The Acute toxicity of surfactants on fish cells, *Daphnia magna* and Fish – A comparative Study. *Toxicology in Vitro*, 14: 61-68
- Scagel C.F. 2003. Growth and nutrient use of ericaceous plants grown in media amended with sphagnum moss peat or coir dust. *HortScience* 38(1), 46-54.
- Song U., y Kim H.E. 2016. Assessing the phytotoxicity of cetrimonium bromide in plants using eco-physiological parameters. *J. Ecol. Nat.* 40 (1), 1-5.

- Steiner A.A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil*, 15 (2), 134-154.
- Trincherá A., y Baratella V. 2018. Use of a non-ionic water surfactant in lettuce fertigation for optimizing water use, improving nutrient use efficiency, and increasing crop quality. *Water* 10 (5), 613.
- Valerio M.E., Garcia J.F., y Peinado F.M. 2007. Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa L.*). *Sci. Total Environ*, 378 (1-2), 63-66.
- Wang Z., Xiao B., Song L., Wu X., Zhang J., y Wang C. 2011. Effects of microcystin-LR, linear alkylbenzene sulfonate and their mixture on lettuce (*Lactuca sativa L.*) seeds and seedlings. *Ecotoxicology* 20 (4), 803-814.
- Wong, S. P., Lim, W. H., Cheng, S. F., y Chuah, C. H. 2012. Biological properties of sodium alkyl methyl ester sulfonate/alkyltrimethylammonium bromide surfactant mixtures. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 89, 48-52.
- Ying G.G., 2006. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. *Environent. International.*, 32 (3), 417-431.

## **CAPITULO II. NANOCOMPUESTO DE NITRÓGENO COMO FERTILIZANTE DE LIBERACIÓN LENTA EN COLUMNAS DE SUELO CON PLANTAS DE LECHUGA**

### **NITROGEN NANOCOMPOSITE AS A SLOW-RELEASE FERTILIZER IN SOIL COLUMNS WITH LETTUCE PLANTS**

#### **Resumen**

El uso continuo de fertilizantes nitrogenados en exceso genera riesgos ambientales al aumentar la acumulación en el suelo, volatilización y lixiviación de nitratos, que provocan pérdidas y baja eficiencia en la utilización de N. En este estudio, el objetivo fue evaluar la aplicación de nanocompuestos nitrogenado (NCN) como fertilizante de liberación lenta en suelo y su efecto en el crecimiento del cultivo de lechuga. El NCN se preparó por la sorción de un surfactante catiónico en una arcilla de bentonita. El estudio se realizó en columnas de suelo, los tratamientos evaluados fueron relaciones de NCN y fertilizante convencional (FC) 25/0, 50/0, 75/0 y 100/0, 0/100, 25/75, 50/50 y 75/25. Las variables evaluadas fueron: peso fresco, biomasa seca, área foliar, conductividad eléctrica, concentración de  $\text{NO}_3^-$  en lixiviado y hoja, unidades SPAD y NDVI, además de la liberación del NCN en agua desionizada. Los resultados obtenidos indican que después de 40 días el tratamiento 25/0 redujo las variables peso fresco 28% y el área foliar 30% con respecto al control 0/100. Los valores de SPAD y NVDI no tuvieron diferencias significativas entre tratamientos. Las relaciones NCN/FC 0/100, 50/50 y 75/25 aumentaron 19% la concentración de nitratos en hojas. El tratamiento 100/0 aumentó biomasa seca total con 48 %, 87% el volumen radical y 73% la biomasa seca de raíz. Los resultados de la liberación en agua desionizada confirmaron que el NCN libera gradualmente nitratos y en mayor cantidad que lo calculado. Finalmente, se concluye que el material nanocompuesto tiene el potencial de usarse como fertilizante de lenta liberación al aumentar crecimiento, por lo que podría ser una alternativa para reducir el uso de fertilizantes convencionales y disminuir las pérdidas de nitrógeno en suelo.

**Palabras claves:** *lixiviación, nitrato, nanocompuesto, nanofertilizante.*

## Summary

The continuous use of excessive nitrogenous fertilizers generates environmental risks by increasing the accumulation in the soil, volatilization and leaching of nitrates, which cause losses and low efficiency in the use of N. In this study, the objective was to evaluate the application of nitrogenous nanocomposites (NCN) as a slow-release fertilizer in the soil and its effect on the growth of the lettuce crop. The NCN was prepared by the sorption of a cationic surfactant on a bentonite clay. The study was carried out in soil columns, the evaluated treatments were ratios of NCN and conventional fertilizer (FC) 25/0, 50/0, 75/0 and 100/0, 0/100, 25/75, 50/50 and 75/25. The variables evaluated were: fresh weight, dry biomass, leaf area, electrical conductivity,  $\text{NO}_3^-$  concentration in leachate and leaf, SPAD and NDVI units, as well as NCN release in deionized water. The results obtained indicate that after 40 days the 25/0 treatment reduced the fresh weight variables by 28% and the leaf area by 30% with respect to the 0/100 control. The SPAD and NDVI values did not have significant differences between treatments. The NCN/FC 0/100, 50/50 and 75/25 ratios increased nitrate concentration in leaves by 19%. The 100/0 treatment increased total dry biomass with 48 %, 87% root volume and 73% root dry biomass. The results of the release in deionized water confirmed that the NCN gradually releases nitrates and in higher amounts than calculated. Finally, it is concluded that the nanocomposite material has the potential to be used as a slow-release fertilizer when growth increases, so it could be an alternative to reduce the use of conventional fertilizers and reduce nitrogen losses in the soil.

***Index words:*** leaching, nitrate, nanocomposite, nano fertilizer.



## Introducción

El nitrógeno es esencial para las plantas al formar parte de las proteínas, clorofila y lograr un mayor rendimiento de los cultivos (Kim *et al.*, 2020). Sin embargo, en el suelo el N se puede lixiviar en forma de nitratos, o volatilizar en forma de amoníaco, lo que induce grandes pérdidas de N, baja eficiencia, contaminación y altos costos económicos (Zhang, *et al.*, 2015). Una alternativa para reducir las pérdidas de fertilizantes es suministrar nutrientes en proporciones correctas a las plantas sin disminuir el rendimiento (Pohshna y Mailapalli, 2022). Los fertilizantes de lenta liberación son una opción que intenta sincronizar la demanda de los nutrientes durante el crecimiento del cultivo (Das, 2014), reducen pérdidas de nutrientes por lixiviación y proporcionan una mayor absorción por parte de los cultivos (Kubavat *et al.*, 2020). Algunas opciones son los nanocompuestos con fertilizantes usados como de lenta liberación (Romero-Méndez *et al.*, 2019).

En los últimos años se han utilizado materiales nanocompuestos como portadores de fertilizantes, que suministran nutrientes en forma directa en dimensión nanométrica, llamados nanofertilizantes (Guha *et al.*, 2020). El término nanofertilizante se refiere a una estructura en la dimensión de 1-100 nm (Raliya *et al.*, 2017). Los nanocompuestos se utilizan para desarrollar nanomateriales de matrices multifásicas de arcilla que se incorporan con nanopartículas para mejorar la propiedad del material (Butt y Naseer, 2020). Debido a su mayor área de superficie, los minerales de arcilla de tamaño nanométrico pueden adsorber mayores cantidades de cationes (Umar *et al.*, 2022). Las arcillas se usan para diseñar fertilizantes de liberación controlada, estos tienen propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas y los nutrientes deben adsorberse en la matriz del material para un rendimiento óptimo (Lawrencia *et al.*, 2021). La bentonita es una arcilla considerada como un buen sustrato para desarrollar formulaciones de lenta liberación debido a sus propiedades de capacidad de intercambio catiónico, capacidad de hinchamiento (Wen *et al.*, 2016) y liberación de nutrientes (Romero-Méndez *et al.*, 2021).

El uso de órgano arcillas como fertilizantes de lenta liberación de nutrientes ha sido investigada por diversos autores (Yuan, 2014, Chi *et al.*, 2018, Romero-Méndez *et al.*, 2019, Romero-Méndez *et al.*, 2021). Dentro de las órgano arcillas se destacan las órgano bentonitas por su alta adsorción y capacidad de intercambio iónico (Pandey y Ramontja, 2016). Estas son sintetizadas por sorción de un tensioactivo catiónico sobre una bentonita,

que carga de negativa a positiva la superficie externa y el espacio de las capas intermedias (Ceyhan *et al.*, 1999), lo que hace posible la adsorción de formas aniónicas como el nitrato (Romero-Méndez *et al.*, 2019) y fosfato (Romero-Méndez *et al.*, 2021). Las arcillas modificadas al intercambiar aniones y cationes en el suelo pueden disminuir procesos como la lixiviación de iones hacia las aguas subterráneas sin afectar el crecimiento. En base a lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la aplicación de los nanocompuestos de N como fertilizante de liberación lenta en suelo y su efecto en el crecimiento del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *capitata*).

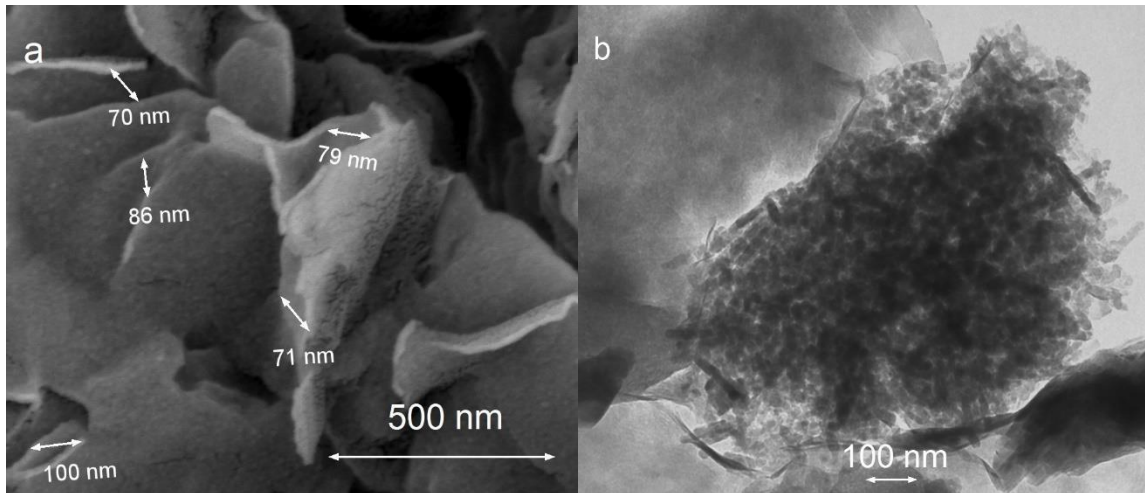
## **Materiales y Métodos**

El presente estudio se realizó en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, con coordenadas de 22° 14' 00.3" N y 100° 51' 46.7" W, a 1840 msnm. Se utilizó un invernadero tipo túnel cubierto con plástico blanco con porcentaje de sombreo del 30% en una superficie de 5 x 9 m, durante la época de invierno con temperaturas medias de 20 °C y una luminosidad de 15,412 lux durante el ciclo de cultivo de otoño-invierno.

## **Preparación del material fertilizante**

El fertilizante nanocompuesto de nitrógeno (NCN) se preparó con una bentonita con espacios interlaminares en un rango de 60-100 nm (Figura 1a) microscopia electrónica de barrido (SEM, UHR FEI HELIOS NANOLAB 600, E.U.A), con una distribución uniforme de partículas (Figura 1 b) microscopia electrónica de transmisión TEM (model JEM 1230, JEOL, USA). Para el cambio de polaridad se añadió el surfactante catiónico hexadecylamina (HDA  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{NH}_2$ , Aldrich Chemicals) y se añadió  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2^-$  para la absorción en las láminas de la bentonita, de acuerdo con la metodología propuesta por Romero-Méndez *et al.* (2019). Se utilizó un espectrofotómetro UV-Visible (Thermo CIENTIFIC GENESYS™ 10S U.S.A) para determinar la concentración cargada de nitrato en el material nanocompuesto. La carga se obtuvo por la diferencia de concentración final e inicial que fue de  $110 \text{ mg g}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$ . Se analizó la liberación de  $\text{NO}_3^-$  del NCN durante 45 días por espectrofotometría UV-vis (Thermo CIENTIFIC GENESYS™ 10S U.S.A),

se utilizó una solución Steiner de  $\text{NO}_3^-$  de 3, 6, 9 y 12  $\text{mmol L}^{-1}$  en 50 ml de agua desionizada.



**Figura 1.** a) Microscopia electrónica de barrido (SEM), b) Microscopia electrónica de transmisión (TEM) del nanocompuesto nitrogenado.

### **Establecimiento del experimento**

Se utilizó un suelo con las siguientes propiedades (NOM-021-RECNAT-2000) con las determinaciones: textura franco-arenosa, arena 76% , limo 8% y arcilla 16%, densidad aparente  $1.37 \text{ g cm}^{-3}$ , pH 7.9 y CE en extracto de saturación  $0.6 \text{ mS cm}^{-1}$ , contenido de materia orgánica de 1.4%,  $6.0 \text{ kg ha}^{-1}$  de nitrógeno inorgánico,  $16 \text{ kg ha}^{-1}$  de fósforo extraíble y  $374 \text{ kg ha}^{-1}$  de potasio.

Se agregaron  $2.37 \text{ kg}$  de suelo en columnas de PVC de 11 cm de diámetro y 20 cm de altura. En la parte inferior de la columna se colocó una malla de plástico de apertura menor a 1 mm para contener el suelo dentro de la columna y no interrumpir el flujo del lixiviado, además de un recipiente en la parte baja de la columna para colectar el drenado.

Las semillas de lechuga fueron de la variedad Montemar con una duración de 60 días, las cuales se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades, en sustrato sunshine mix 3 ®, se trasplantaron en el suelo de las columnas a los 20 días cuando presentaban cuatro hojas verdaderas. Para el riego se utilizó agua desionizada y consistió en un volumen de 1350 ml distribuidos en 9 riegos cada 5 días y 150 ml a los 10, 20, 30 y 40 días para obtener drenaje y analizarlo.

## Diseño y Unidades Experimentales

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar, con 8 repeticiones por tratamiento, la unidad experimental consistió en una planta de lechuga colocada en una columna de suelo. La dosis de fertilización aplicada fue la recomendada en un cultivo de lechuga en suelo de 75 kg ha<sup>-1</sup> de Nitrógeno (De Grazia *et al.*, 2001). Los tratamientos evaluados fueron las dosis de nitrógeno complementados con nanocompuesto nitrogenado y fertilización convencional en una relación de 25/0, 50/0, 75/0 y 100/0, 0/100, 25/75, 50/50 y 75/25 (Cuadro 1). El fertilizante de lenta liberación se aplicó en su totalidad al inicio del experimento sobre la superficie de la columna. Los fertilizantes comerciales que se usaron para completar la dosis de fertilización fueron K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, los cuales se aplicaron a través de una solución nutritiva en cada riego durante todo el experimento.

**Cuadro 1.** Tratamientos aplicados durante el experimento de fertilización con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo en cultivo de lechuga.

Tratamientos Relación NCN/FC	Nanocompuesto nitrogenado	Fertilizante convencional	Unidades totales
	----- % -----		
0/100	0	100	100
25/75	25	75	100
50/50	50	50	100
75/25	75	25	100
25/0	25	0	25
50/0	50	0	50
75/0	75	0	75
100/0	100	0	100

## Variables Evaluadas

Al final del experimento se midieron biomasa fresca (g), área foliar (cm<sup>2</sup>) (CID 202 Portátil Leaf Área Meter, USA), volumen radical en probeta 500 ml Kimax, Kimble, biomasa (g) seca de raíz y biomasa seca total (radical y aérea) en horno de secado de aire forzado (Omron, Japón), a 72°C, hasta obtener peso constante en una balanza digital (serie Ohaus PAJ4102N Gold, USA) y rendimiento (ton ha<sup>-1</sup>). En el drenaje se determinó la

conductividad eléctrica en  $\text{dS m}^{-1}$  (CE Meter, Walfront, China). En hojas intermedias de la parte externa de la cabeza se registró las unidades SPAD (Soil Plant Analysis Development, SPAD-502 Plus Chlorophyll Meter 2900P, Spectrum Technologies, Illinois, USA) y el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI, Green Seeker Trimble handheld crop sensor, California, USA). Para determinar la liberación del NCN se usó un espectrofotómetro UV-Visible (Thermo CIENTIFIC GENESYS™ 10S U.S.A) y se determinó la concentración de nitrato ( $\text{mg L}^{-1}$ ) en los lixiviados y en el extracto celular del peciolo (Ionómetro Laqua Twin, Horiba, Japón).

### **Análisis estadístico**

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y las medias de los tratamientos se compararon mediante una prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ), realizada con SAS versión 9.0.

## **Resultados y Discusión**

### **Peso fresco de hojas**

En el peso fresco de la lechuga (Cuadro 2), los tratamientos mostraron en promedio 16.8 g en todos los tratamientos y estos fueron diferentes estadísticamente al tratamiento 25/0 al reducir un 28 % el peso fresco. En este sentido menciona (Nofal *et al.*, 2021) al aplicar un nanofertilizante al 50% de la dosis recomendada ( $50 \text{ kg ha}^{-1}$  de N) aumento 24% el peso fresco de la lechuga respecto al testigo con la dosis recomendada ( $100 \text{ kg ha}^{-1}$ ), el efecto presentado en estas condiciones es porque el nano tiene una dimensión que oscila entre 30 y 40 nm y es capaz de retener iones y liberarlos lentamente de acuerdo con la demanda del cultivo. En nuestro caso, las dosis con NCN a excepción de la 25/0 mostraron un peso fresco similar, lo que pudo ser debido a el tamaño del espacio interlaminar donde se encuentra el nutriente de forma disponible para la planta.

### **Área foliar**

El área foliar de los tratamientos 50/50 y 75/25 fue mayor con 16.58 % que el tratamiento 75/0 y 23% mayor que el tratamiento 25/0, que redujo 18.20% el área foliar con respecto al tratamiento testigo 0/100 (Cuadro 2). Marschner (2011) menciona que la

cantidad insuficiente de nitrógeno puede limitar el crecimiento de la planta. Sin embargo, en otros casos con el uso de los nanomateriales tienen una mayor disponibilidad del N en dosis más bajas en comparación con las fuentes de N convencionales, lo que incrementa el crecimiento vegetativo de las plantas. Estos resultados concuerdan con Nofal *et al.* (2021), quienes encontraron que al aplicar un nano fertilizante NPK en lechuga, el área foliar aumentó 31% con una dosis a la mitad de la recomendada (50 kg ha<sup>-1</sup>).

### **Volumen radical**

Se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos para el volumen radical de las lechugas (Cuadro 2). Los tratamientos 50/0, 75/0 y 100/0 registraron niveles superiores con respecto al control 0/100 con un 62, 78 y 87 % respectivamente, mientras que los tratamientos 25/75, 50/50, 75/25 y 25/0 fueron iguales al control. Las plantas con fertilizantes convencionales alcanzaron el desarrollo radicular adecuado para obtener el nitrógeno y los fertilizantes de lenta liberación promovieron el crecimiento de la raíz hasta el último período de cosecha (Okayay *et al.*, 2020). La aplicación del fertilizante NCN pudo contribuir al crecimiento de la raíz debido al movimiento por la búsqueda de los fertilizantes de lenta liberación en el suelo.

### **Biomasa seca**

La biomasa seca de la raíz presentó una diferencia significativa entre el tratamiento 100/0 con un aumento de 57 % en comparación con el control 0/100 (Cuadro 2). En este caso el NCN aumentó el crecimiento radicular como se había descrito con el volumen radical mencionado por Okayay *et al.* (2020).

La biomasa seca total presentó diferencias entre tratamientos (Cuadro 2), el tratamiento de NCN aplicado 100/0 presentó el mayor valor de 5.5 g y una diferencia de 31% comparado con 0/100, 25/75, 75/25 y 25/0 y los demás tratamientos no mostraron diferencias. De igual manera al aplicar un nanofertilizante NPK en lechuga la biomasa seca aumentó con la dosis 50 kg ha<sup>-1</sup> que es la mitad de la dosis recomendada (Nofal *et al.*, 2021). En dos ciclos de cultivo en lechuga aumentó de 123 a 159% en peso de planta con aplicaciones al suelo y foliares con un nanofertilizante nitrogenado en suelo 75% nanopartículas y 25% fertilizante convencional (Sharaf-Eldin *et al.*, 2022). El efecto positivo de los nanofertilizantes en el aumento de la materia seca, puede atribuirse a la

presencia de macronutrientes que mejoraron la eficiencia de absorción y uso de nutrientes por parte de las plantas (Abdel-Aziz *et al.*, 2016), porque los nanofertilizantes una vez que ingresan a la planta, se unen con proteínas portadoras como acuaporina, canales iónicos y endocitosis (Schwab *et al.*, 2015), lo que hace que el nutriente se absorba más rápido en el interior de la planta.

## Rendimiento

En el rendimiento de la lechuga, casi todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales al control a excepción del tratamiento 25/0 con un valor de 3.05 ton ha<sup>-1</sup>, al reducir 20.7% menos que el testigo 0/100 (Cuadro 2). Sharaf-Eldin *et al.* (2022) al aplicar fertilización nitrogenada en forma de nanofertilizante como 25% foliar y 75% fertirrigación obtuvo rendimientos de 20 ton ha<sup>-1</sup>. En nuestro caso, el rendimiento refleja que la dosis de fertilización nitrogenada fue deficiente por el bajo crecimiento y peso que obtuvo la lechuga con los diferentes tratamientos.

**Cuadro 2.** Variables de crecimiento y rendimiento en el desarrollo de lechugas con fertilización nitrogenada con nanocompuesto en columnas de suelo.

Tratamientos Relación NCN/FC	Peso fresco g	Área foliar cm <sup>2</sup>	Volumen radical cm <sup>3</sup>	Biomasa seca		Rendimient o ton ha <sup>-1</sup>
				Raíz -----g-----	Total	
0/100	15.4 a	346 ab	17.8 c	1.5 b	3.9 b	3.85 a*
25/75	17.5 a	393 ab	23.0 abc	1.7 ab	3.9 b	4.37 a
50/50	17.3 a	386 a	26.5 abc	2.0 ab	4.1 ab	4.31 a
75/25	17.8 a	405 a	22.3 bc	1.8 ab	3.7 b	4.44 a
25/0	12.2 b	283 c	23.5 abc	1.8 ab	3.9 b	3.05 b
50/0	16.1 a	364 ab	28.8 ab	2.3 ab	5.0 ab	4.01 a
75/0	15.3 a	322 bc	31.7 ab	2.4 ab	4.7 ab	3.87 a
100/0	18.2 a	392 a	33.3 a	2.6 a	6.0 a	4.54 a
DMS	3.1	60.92	10.45	1.040	1.89	0.77
CV	10.36	9.13	21.9	28.21	23.5	10.6

\*Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas Tukey; (P <0.05).

## Conductividad eléctrica (CE)

Los resultados de la conductividad eléctrica del lixiviado mostrados en el Cuadro 3, a los 10, 20 y 40 días no presentaron diferencias significativas entre tratamientos. Dado que

las lecturas de CE no son selectivas de iones, cualquier ion en solución contribuirá en sus valores (Cancellier *et al.*, 2018). En el día 30 el tratamiento 25/75 mostró una diferencia significativa en los valores de conductividad con una diferencia de 32% comparado con los tratamientos 25/0, 75/0 y 100/0. Los fertilizantes químicos convencionales portadores de nutrientes se caracterizan por una rápida liberación de nutrientes y pérdidas potencialmente altas de nutrientes por lixiviación y escorrentía (Gwenzi *et al.*, 2018). La conductividad eléctrica aumenta debido a la liberación de nutrientes por parte del fertilizante (Zanin *et al.*, 2020), además de que las plantas los absorben más fácilmente (Andiru *et al.*, 2015). Los tratamientos con NCN liberaron menor cantidad de iones en el drenaje y en el caso del fertilizante convencional pudo ser debido a que se libera más rápidamente que el nanocompuesto y la cantidad fue mayor a lo que la planta podría absorber en los primeros días, por ello se acumuló más CE en el lixiviado.

**Cuadro 3.** Conductividad Eléctrica del lixiviado obtenido durante el desarrollo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo.

Tratamientos Relación NCN/FC	Conductividad eléctrica (CE)			
	10 DDT	20 DDT	30 DDT	40 DDT
	-----dS m <sup>-1</sup> -----			
0/100	0.85 a	0.69 a	0.58 abc	0.62 a*
25/75	0.79 a	0.74 a	0.72 a	0.67 a
50/50	0.74 a	0.78 a	0.65 ab	0.65 a
75/25	0.79 a	0.77 a	0.63 abc	0.61 a
25/0	0.78 a	0.69 a	0.48 c	0.54 a
50/0	0.77 a	0.70 a	0.48 c	0.53 a
75/0	0.83 a	0.73 a	0.59 abc	0.59 a
100/0	0.82 a	0.64 a	0.46 c	0.54 a
DMS	0.0968	0.167	0.1726	0.1885
CV	6.54	12.62	16.28	17.17

\*Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas Tukey;(P <0.05). DDT= Días después del trasplante

### Unidades SPAD

En las unidades SPAD que se registraron durante el ciclo del cultivo (Cuadro 4), los valores no mostraron diferencias significativas entre tratamientos durante el desarrollo del



cultivo, con valores promedios de 25 a 30 unidades SPAD que serían bajos según lo reportado por otros autores en lechuga como lo mencionan Lara-Izaguirre *et al.* (2019) el efecto del SPAD no varía en relación con las dosis de nitrógeno, pero si el cultivar en diferentes ciclos, en otoño valores de 39.38 y en verano 29.58. El riego por goteo hace más eficiente el uso de los nanofertilizantes en lechuga con dosis de 210 kg ha<sup>-1</sup>, aumentan el 25% de unidades SPAD (de 38 a 44) comparado con el control aplicado al suelo (30 a 35) (Sharaf-Eldin *et al.*, 2022). El color de la hoja es una medida de diagnóstico importante para las plantas. Los cambios de color de las hojas son causados por cambios en la absorción de N por parte del sistema radicular (Ling *et al.*, 2005). En este trabajo los valores bajos en todos los tratamientos pudieron ser debido a la aplicación de una dosis baja 75 kg N ha<sup>-1</sup> ya que la coloración de las lechugas a la cosecha era de un verde pálido (Figura 1) y mostraban un crecimiento lento lo que influyo en los valores de las unidades SPAD y variables de crecimiento (Cuadro 2).

### **Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI)**

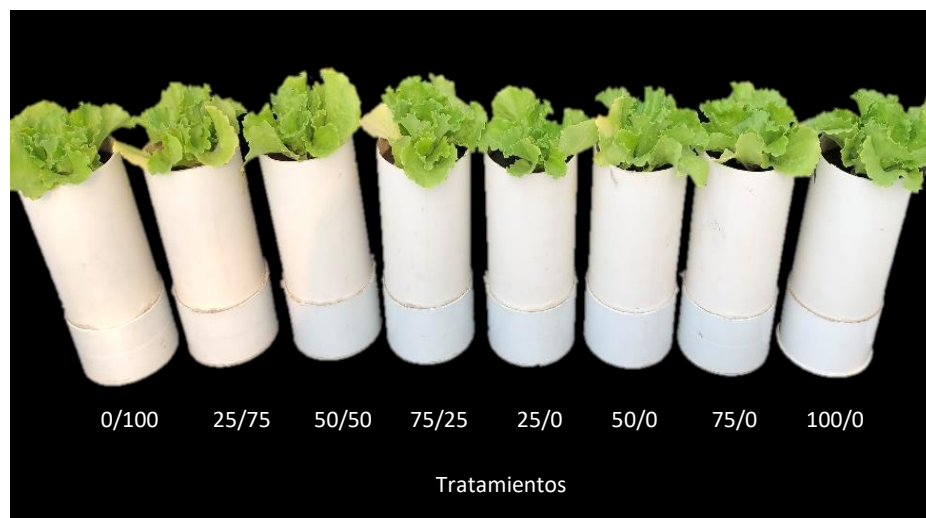
Para el NDVI (Cuadro 4), al día 10 se presentaron diferencias significativas en donde los tratamientos con NCN fueron más bajos en comparación con los tratamientos que solo contenían fertilizante convencional, esto pudo ser posible debido a la liberación rápida de nutrientes (Gwenzi *et al.*, 2018). Los cambios morfológicos y fisiológicos de las hojas pueden emplearse como indicadores de condiciones de crecimiento limitante en términos de estrés (Kizil *et al.*, 2012), sus cambios modifican las propiedades ópticas de la hoja, estos índices radiométricos como el NDVI son útiles para discriminar la condición sin N (Galieni *et al.*, 2016). Debido a que la producción de clorofila de la hoja se correlaciona con el estado de disponibilidad de N y esto afecta el rendimiento del cultivo (Muñoz-Huerta *et al.*, 2013). Para los días 20, 30 y 40 no se presentaron diferencias significativas mostrando valores entre 0.30 y 0.40. Estos valores del NDVI son bajos comparados con los obtenidos por Lara-Izaguirre *et al.* (2019) en un cultivo de lechuga en verano (0.65) y otoño (0.66). Igualmente, Galieni *et al.* (2016) menciona que las estaciones de crecimiento en lechuga no tienen diferencias (0.82 a 0.85) y en tratamientos sin N reducen los valores de NDVI. En este caso el estrés en el cultivo de lechuga reflejado en los valores del NDVI

en todos los tratamientos pudo ser debido a que se aplicó una dosis baja de nitrógeno 75 kg ha<sup>-1</sup> lo que significó en una menor disponibilidad de N y por lo tanto menor contenido de clorofila y pigmentos que modificaron la coloración de las hojas a un verde pálido (Figura 2).

**Cuadro 4.** Evolución de Unidades SPAD y NDVI durante el desarrollo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo.

Tratamientos Relación NCN/FC	Unidades SPAD				NDVI			
	10 DDT	20 DDT	30 DDT	40 DDT	10 DDT	20 DDT	30 DDT	40 DDT
0/100	27.7 a	26.6 a	29.4 a	31.4 a	0.38 a	0.34 a	0.24 a	0.22 a*
25/75	26.9 a	25.8 a	25.7 a	27.4 a	0.36 ab	0.38 a	0.30 a	0.27 a
50/50	26.9 a	25.1 a	26.1 a	26.3 a	0.34 abc	0.37 a	0.30 a	0.30 a
75/25	28.7 a	27.6 a	28.9 a	27.0 a	0.23 bcd	0.29 a	0.34 a	0.32 a
25/0	25.1 a	25.5 a	26.8 a	26.4 a	0.16 d	0.35 a	0.31 a	0.32 a
50/0	24.8 a	24.6 a	26.8 a	25.5 a	0.20 d	0.32 a	0.26 a	0.24 a
75/0	26.1 a	28.0 a	28.5 a	26.6 a	0.21 cd	0.33 a	0.29 a	0.26 a
100/0	27.5 a	28.3 a	26.1 a	27.9 a	0.13 d	0.33 a	0.29 a	0.28 a
DMS	5.38	5.79	3.95	6.16	0.13	0.14	0.13	0.11
CV	10.91	11.86	7.85	12.24	30.01	22.54	25.61	22.42

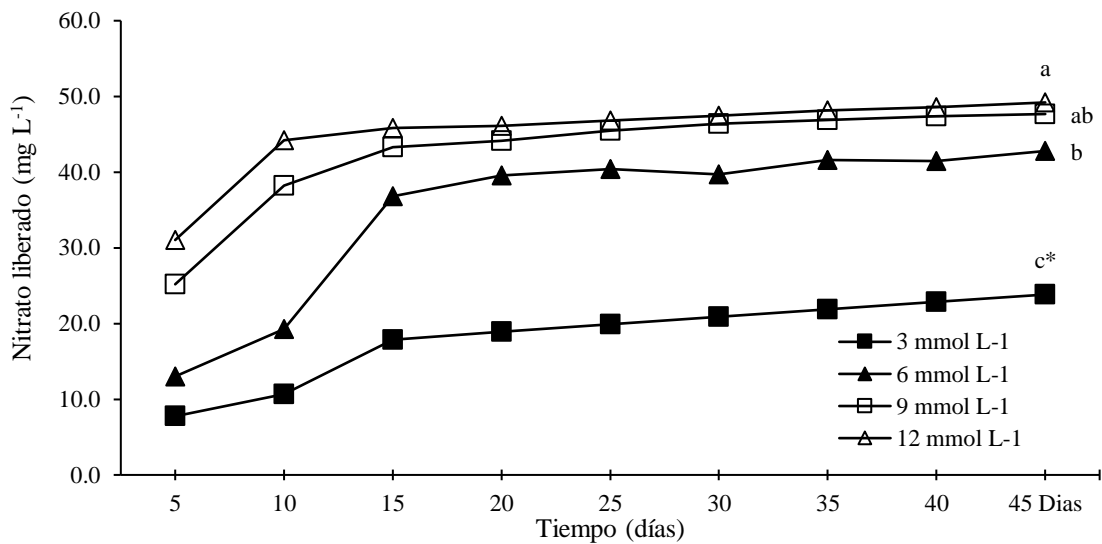
\*Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas Tukey;(P <0.05). DDT= Días después del trasplante



**Figura 2.** Plantas de lechuga con nanocompuesto en columnas de suelo.

### Comportamiento de Liberación de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en agua desionizada

Los resultados obtenidos de la liberación permiten ver que el nitrato cargado en el material NCN libera gradualmente la cantidad durante 45 días inclusive supera la cantidad calculada de nitratos que contiene el NCN (Figura 3). Se puede observar que a mayor concentración de la cantidad de nitrógeno agregada se liberó mayor cantidad de nitratos. Liberaron cerca del 100% aproximadamente a los 10 días, sin embargo, el material NCN continuó liberando hasta los 45 días de estudio en promedio 157% para 3 mmol L<sup>-1</sup>, 131% para 6 mmol L<sup>-1</sup>, 71% para 9 mmol L<sup>-1</sup> y 33% para 12 mmol L<sup>-1</sup> de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

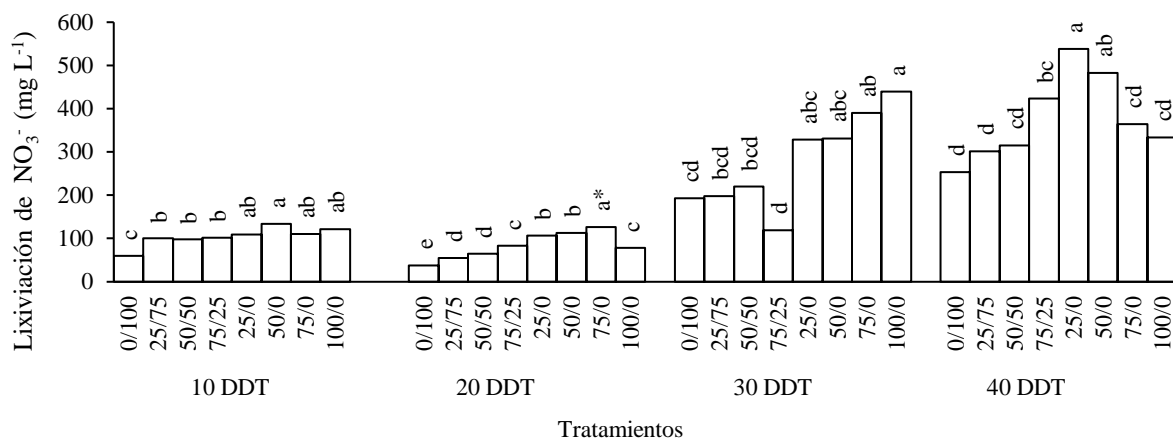


**Figura 3.** Liberación de nitrato durante el desarrollo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo. \*Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas Tukey;(P <0.05).

### Concentración de Nitrato en los lixiviados

La concentración de nitrato (Figura 4), en los lixiviados en los primeros 10 días presentó valores diferentes significativamente entre tratamientos, donde los registros más altos se obtuvieron con los tratamientos que contienen nanocompuesto desde la dosis más baja hasta la más alta, con y sin fertilizante. Sin embargo, el tratamiento NCN 50/0 mostró mayor concentración igual a un 23%, comparado con los tratamientos con base de

fertilizante convencional; a la vez, la fertilización convencional presentó un mayor valor igual a 40% comparado con el control 0/100. A los 20 días, se observó la misma tendencia, aunque el mayor valor lo obtuvo NCN 75/0. El día 30, los tratamientos donde se aplicó el nanocompuesto, mostraron valores más altos en comparación con los fertilizantes convencionales y el mayor valor fue con 100/0. A los 40 días, los fertilizantes convencionales con las dosis más bajas 0/100, 25/75, 50/50 y las dosis de nanocompuestos más altas 75/0 y 100/0, fueron los que menor cantidad de lixiviados mostraron; caso contrario los valores más altos de nitrato en los lixiviados fueron con nanocompuesto sin fertilizante convencional 25/0 y 50/0 con valores de 538 y 483  $\text{NO}_3^- \text{ mg L}^{-1}$ . En este sentido Okay *et al.* (2020) mencionan que el suministro de nutrientes del fertilizante de lenta liberación de nitrógeno estaba listo para su uso en el suelo, pero no pudo ser tomado por la planta ya que la liberación no coincidió con el tiempo de cosecha de la lechuga, por lo que se quedó una gran cantidad de nitrógeno en el suelo al término de los experimentos. Caso contrario Fernández *et al.* (2012) en el cultivo de lechuga al aplicar fertilizantes nitrogenados de lenta liberación en tres ciclos sucesivos, encontró que la concentración de nitratos disminuyó en el lixiviado conforme pasó el ciclo de cultivo en todos los tratamientos, en el fertilizante convencional desde 300 a 150  $\text{mg L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  y el de lenta liberación fue menor de 170 a 50  $\text{mg L}^{-1}$ . El rendimiento con nanofertilizante nitrogenado fue mayor al aumentar la cantidad de fertilizante, dada la baja tasa de lixiviación que tienen los fertilizantes de liberación lenta (Zareabyaneh y Bayatvarkeshi, 2015). En nuestro caso los altos contenidos las altas concentraciones de nitrato en los lixiviados con NCN se podrían explicar en dos vías: una de ellas fue la forma de aplicación del fertilizante convencional que fue con cada riego, esto disminuye la lixiviación y la segunda es debido a que la fracción correspondiente al NCN liberó más cantidad de nitrato que la calculada (Figura 2), por consecuencia la dosis de N en los tratamientos con NCN mostró mayor cantidad de nitrato lixiviado y no pudo reflejarse la disminución en el lixiviado, como lo mencionan algunos otros autores (Saha *et al.*, 2018 y Rathnappriya *et al.*, 2022).

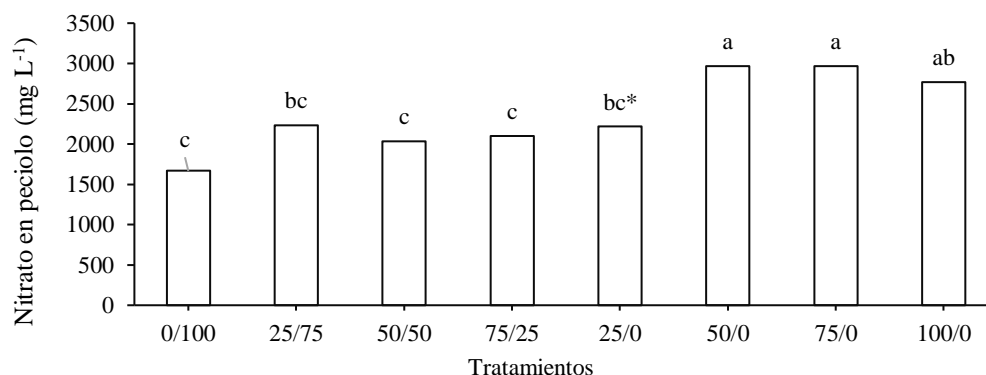


**Figura 4.** Concentración de iones Nitrato en el Lixiviado obtenido durante el desarrollo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado en columnas de suelo. \*Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas Tukey;(P <0.05). DDT=Días después del trasplante.

### Concentración de Nitrato en peciolo

La concentración de nitrato en el peciolo mostró diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 5). Los mayores valores se presentaron con los tratamientos NCN 50/0 y 75/0, quienes tuvieron en promedio 2700 mg L<sup>-1</sup> con un aumento del 24% a diferencia de todos los tratamientos con un valor promedio de 2000 mg L<sup>-1</sup>, a excepción de 100/0 que fue estadísticamente igual a los mejores tratamientos, pero diferente a 0/100, 50/50 y 75/25 al aumentar un 19% más que el tratamiento sin nanocompuesto nitrogenado 0/100. La concentración de nitratos en peciolo puede cambiar conforme a las condiciones climáticas en las épocas de cultivo, como lo mencionan Lara-Izaguirre *et al.* (2019) en lechuga con diferentes relaciones de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en el verano de 5431 mg L<sup>-1</sup> de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y 2416 mg L<sup>-1</sup> en otoño. Fernández *et al.* (2012) evaluaron la fertilización durante tres ciclos sucesivos en lechuga cultivada en suelo. En el primer ciclo, la mayor concentración de nitrato con el tratamiento control 1200 mg kg<sup>-1</sup>, en el segundo aumentó en todos los tratamientos, fue mayor con fertilización control y un fertilizante de lenta liberación entre 2000 y 2800 mg kg<sup>-1</sup>. Al final, disminuyeron en todos los tratamientos, fue mayor en fertilización control con 611 mg kg<sup>-1</sup> y un fertilizante de lenta liberación con 515 mg kg<sup>-1</sup>. La concentración de nitrato de las hojas disminuyó en el último ciclo, ya que los niveles de nitrato en el suelo y en la lixiviación disminuyeron en todos los tratamientos, sin

embargo, falta más estudios similares para profundizar como interactúa el material con las actividades del suelo-planta.



**Figura 5.** Concentración de iones en peciolo de lechuga con nanocompuesto nitrogenado cultivada en columnas de suelo. \*Letras distintas en los tratamientos indican diferencias significativas Tukey;(P <0.05).

## Conclusiones

La síntesis de bentonita con nitrógeno formó un nanocompuesto con propiedades de liberación lenta. El uso de las dosis de nanocompuesto nitrogenado con fertilizante y solo nanocompuesto en dosis de 50, 75 y 100 % fueron similares al tratamiento con 100 % de fertilizante convencional en las variables de crecimiento peso fresco, área foliar y rendimiento. Lo que podría ser una alternativa para reducir el uso de fertilizantes y disminuir las pérdidas de nitrógeno en suelo. Sin embargo, el uso de dosis bajas de 25 % de nanocompuesto nitrogenado sin fertilizante convencional disminuye el área foliar y peso fresco lo que se reflejó en un menor rendimiento, además de que aumento la concentración de nitrato en el lixiviado, lo que se traduce en mayores pérdidas de N.

En variables como SPAD, NVDI y conductividad eléctrica en el lixiviado, los valores observados fueron bajos y se reflejaron en el color verde pálido de las hojas, lo que sugiere que la dosis utilizada de 75 ton ha<sup>-1</sup> no fue suficiente para el requerimiento de N del cultivo de la lechuga. La dosis óptima que maximizó el rendimiento sin afectar el crecimiento, además de aumentar el contenido de nitrato en el extracto celular del peciolo de la lechuga fue nanocompuesto 50 y 75 sin fertilizante convencional, lo que sugiere una mayor absorción de este elemento por las raíces de la lechuga.

## Literatura Citada

- Abdel-Aziz, H. M., Hasaneen, M. N., & Omer, A. M. (2016). Nano chitosan-NPK fertilizer enhances the growth and productivity of wheat plants grown in sandy soil. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 14(1), e0902. <https://doi.org/10.5424/sjar/2016141-8205>
- Andiru, G. A., Pasian, C. C., & Frantz, J. M. (2015). Effects of controlled-release fertilizer placement on nutrient leaching and growth of bedding impatiens. *Journal of Environmental Horticulture*, 33(2), 58-65. <https://doi.org/10.24266/0738-2898-33.2.58>
- Butt BZ, Naseer I. (2020). Nanofertilizers. In: Javad S (Ed). *Nanoagronomy*. Springer, Cham. DOI: 10.1007/978-3-030-41275-3\_8
- Cancellier, E. L., Degryse, F., Silva, D. R. G., da Silva, R. C., & McLaughlin, M. J. (2018). Rapid and low-cost method for evaluation of nutrient release from controlled-release fertilizers using electrical conductivity. *Journal of Polymers and the Environment*, 26, 4388-4395. <https://doi.org/10.1007/s10924-018-1309-1>
- Ceyhan Ö., Güler H. & R. Güler. (1999). Adsorption mechanisms of phenol and methylphenols on organoclays. *Adsorption Science & Technology* 17(6):469-477. <https://doi.org/10.1177/026361749901700603>
- Chi, Y., Zhang, G., Xiang, Y., Cai, D., & Wu, Z. (2018). Fabrication of reusable temperature-controlled-released fertilizer using a palygorskite-based magnetic nanocomposite. *Applied Clay Science*, 161, 194-202. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2018.04.024>
- Das, S., K. (2014). Recent developments in clean up techniques of pesticide residue analysis for toxicology study: a critical review. *Universal Journal of Agricultural Research*, 2(6), 198-202. DOI: 10.13189/ujar.2014.020603
- De Grazia, J., Tiftonell, P.A. & Chiesa, Á. (2001). Efecto de la época de siembra, radiación y nutrición nitrogenada sobre el patrón de crecimiento y el rendimiento del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Invest. Agr. Prod. Prot. Veg*, 16(3), 356-365.
- Fernández, J. A., Esteban, A., Conesa, E., Ochoa, J., & Álvarez-Rogel, J. (2012). Nitrate evolution in soil, leaching water, and lettuce plant crops using different fertilization strategies. *Communications in soil science and plant analysis*, 43(19), 2467-2483. <https://doi.org/10.1080/00103624.2012.711868>

- Galieni, A., Stagnari, F., Specca, S., & Pisante, M. (2016). Leaf traits as indicators of limiting growing conditions for lettuce (*Lactuca sativa*). *Annals of Applied Biology*, 169(3), 342-356. <https://doi.org/10.1111/aab.12305>
- Guha, T., Gopal, G., Kundu, R., & Mukherjee, A. (2020). Nanocomposites for delivering agrochemicals: A comprehensive review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(12), 3691-3702. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06982>
- Gwenzi, W., Nyambishi, T. J., Chaukura, N., & Mapope, N. (2018). Synthesis and nutrient release patterns of a biochar-based N–P–K slow-release fertilizer. *International journal of environmental science and technology*, 15, 405414. <https://dx.doi.org/10.1007/s13762-017-1399-7>
- Kim, D. H., Kang, Y. J., Choi, J. J., & Yun, S. I. (2020). Lettuce growth and nitrogen loss in soil treated with corn starch carbamate produced using urea. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer* 53(1): 13-21. <https://doi.org/10.7745/KJSSF.2020.53.1.013>
- Kizil, Ü., Genc, L., Inalpulat, M., Şapolyo, D., & Mirik, M. (2012). Lettuce (*Lactuca sativa* L.) yield prediction under water stress using artificial neural network (ANN) model and vegetation indices. *Žemdirbystė= Agriculture*, 99 (4), 409 -418.
- Kubavat, D., Trivedi, K., Vaghela, P., Prasad, K., Vijay-Anand, G. K., Trivedi, H., Patidar R., Chaudhari J., Andhariya B., & Ghosh, A. (2020). Characterization of a chitosan-based sustained release nanofertilizer formulation used as a soil conditioner while simultaneously improving biomass production of *Zea mays* L. *Land Degradation & Development*, 31(17), 27342746. <https://doi.org/10.1002/ldr.3629>
- Lara-Izaguirre, A. Y., Rojas-Velázquez, A. N., Romero-Méndez, M. J., Ramírez-Tobías, H. M., Cruz-Crespo, E., Alcalá-Jáuregui, J. A., & Loredó-Ostí, C. (2019). Growth and  $\text{NO}_3^-$  accumulation in hydroponic lettuce with nitrate/ammonium ratios in two cultivation seasons. *Revista fitotecnia mexicana*, 42(1), 21-29.
- Lawrencia, D., Wong, S. K., Low, D. Y. S., Goh, B. H., Goh, J. K., Ruktanonchai, U. R., Soottitantawat A., Lee L, H., & Tang, S. Y. (2021). Controlled release fertilizers: A review on coating materials and mechanism of release. *Plants*, 10 (2), 238. <https://doi.org/10.3390/plants10020238>
- Ling, Q. H., Zhang, H. C., Dai, Q. G., Ding, Y. F., Ling, L., Su, Z. F., Xu, M., Que, J. H., & Wang, S. H. (2005). Study on precise and quantitative N application in rice. *Scientia Agricultura Sinica*, 38, 2457–2467.
- Marschner, H. (2011). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, 3rd ed.; Elsevier: London, UK; Academic Press, London, England, 672.



- Muñoz-Huerta, R. F., Guevara-Gonzalez, R. G., Contreras-Medina, L. M., Torres-Pacheco, I., Prado-Olivarez, J., & Ocampo-Velázquez, R. V. (2013). A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: advantages, disadvantages and recent advances. *Sensors*, 13(8), 10823-10843. <https://doi.org/10.3390/s130810823>
- Nofal, A. S. Ashmawi, A. E., Mohammed, A. A., El-Abd, M. T., & Helaly, A. A., (2021). Effect of soil application of nano NPK fertilizers on growth, productivity and quality of Lettuce (*Lactuca sativa*). *Al-Azhar Journal of Agricultural Research*, 46(1), 91-100. <https://doi.org/10.21608/ajar.2021.218559>
- NOM-021-RECNAT-2000 (NORMA Oficial Mexicana). 2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D. F
- Okuyay, G., Karagöz, S., Ulaş, A., & Özen, İ. (2020). Efficiency of an agrotexile surface structure possessing fertilizer and water management coupled with mulching property in romaine lettuce growth trials. *The Journal of the Textile Institute*, 111(12), 1735-1744. <https://doi.org/10.1080/00405000.2020.1727268>
- Pandey, S. & Ramontja, J. (2016). Recent modifications of bentonite clay for adsorption applications. *Focus on Sciences 2* (4),1-10. DOI: 10.21859/focsci-020455
- Pohshna, C., & Mailapalli, D. R. (2022). Engineered Urea-Doped Hydroxyapatite Nanomaterials as Nitrogen and Phosphorus Fertilizers for Rice. *ACS Agricultural Science & Technology*, 2(1), 100-112. <https://doi.org/10.1021/acsagcitech.1c00191>
- Raliya, R., Saharan, V., Dimkpa, C., & Biswas, P. (2017). Nanofertilizer for precision and sustainable agriculture: current state and future perspectives. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(26), 6487-6503. DOI 10.1021/acs.jafc.7b02178
- Rathnappriya, R. H. K., Sakai, K., Okamoto, K., Kimura, S., Haraguchi, T., Nakandakari, T., Setouchi, H., & Bandara, W. B. M. A. C. (2022). Examination of the effectiveness of controlled release fertilizer to balance sugarcane yield and reduce nitrate leaching to groundwater. *Agronomy*, 12(3), 695. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030695>
- Romero-Méndez M. J. Rojas-Velázquez A. N., Lara M. J. L. Diaz F. P. E & Woo R J. L. (2019). Efecto de un fertilizante nitrogenado a base de bentonita modificada y tensoactivo HDTMA en el crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa L.*) hidropónica. *Agrociencia* 53:219-234.

- Romero-Méndez, M. J., & Rojas-Velázquez, Á. N. (2021). Comportamiento de un fertilizante de liberación lenta a base de organobentonita-fosfato en plantas de lechuga. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 44(1), 51-51.
- Saha, B. K., Rose, M. T., Wong, V. N., Cavagnaro, T. R., & Patti, A. F. (2018). Nitrogen dynamics in soil fertilized with slow-release brown coal-urea fertilizers. *Scientific reports*, 8(1), 14577. DOI:10.1038/s41598-01832787-3
- Schwab, F., Zhai, G., Kern, M., Turner, A., Schnoor, J. L., & Wiesner, M. R. (2015). Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants—Critical review. *Nanotoxicology*, 10(3), 257-278. <https://doi.org/10.3109/17435390.2015.1048326>
- Sharaf-Eldin, M. A., Elsayy, M. B., Eisa, M. Y., El-Ramady, H., Usman, M., & Zia-ur-Rehman, M. (2022). Application of nano nitrogen fertilizers to enhance nitrogen efficiency for lettuce growth under different irrigation regimes. *Pak. J. Agri. Sci* 59(3), 367-379. DOI: 10.21162/PAKJAS/22.1044
- Umar, W., Czinkota, I., Gulyás, M., Aziz, T., & Hameed, M. K. (2022). Development and characterization of slow-release N and Zn fertilizer by coating urea with Zn fortified nano-bentonite and ZnO NPs using various binders. *Environmental Technology & Innovation*, 26, 102250. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102250>
- Wen, P., Wu, Z., He, Y., Ye, B. C., Han, Y., Guan, X., & Wang, J. (2016). Microwave-assisted one-step synthesis and characterization of a slow-release nitrogen fertilizer with inorganic and organic composites. *RSC advances*, 6(44), 37337-37346. <https://doi.org/10.1039/C5RA27828G>
- Yuan, G. (2014). An organoclay formula for the slow release of soluble compounds. *Apple Clay Science*. 100, 84-87. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2014.04.005>
- Zanin, G., Maucieri, C., Dal Ferro, N., Bortolini, L., & Borin, M. (2020). Evaluating a Controlled-Release Fertilizer for Plant Establishment in Floating Elements for Bioretention Ponds. *Agronomy*, 10, 199. <https://doi.org/10.3390/agronomy10020199>
- Zareabyaneh, H., & Bayatvarkeshi, M. (2015). Effects of slow-release fertilizers on nitrate leaching, its distribution in soil profile, N-use efficiency, and yield in potato crop. *Environmental earth sciences*, 74(4), 3385-3393. <https://doi.org/10.1007/s12665-015-4374-y>
- Zhang, X., Davidson, E. A., Mauzerall, D. L., Searchinger, T. D., Dumas, P., & Shen, Y. (2015). Managing nitrogen for sustainable development. *Nature*, 528(7580), 51-59. <https://www.nature.com/articles/nature15743>

## **CAPITULO III. EFFECT OF A NITROGENOUS NANOCOMPOSITE ON LEACHING AND N CONTENT IN LETTUCE IN SOIL COLUMNS**

### **Summary**

Nanofertilizers could promote nutrient efficiency with slow release compared to conventional fertilizers (CFs). Most of the applied nitrogen is lost on the soil by leaching, due to the rapid release behavior of CFs. Clays can function as a nano-sized porous structure to retain and slowly release nutrients. The objective of this study was to evaluate a modified clay as a slow-release nitrogenous nanocomposite and its effect on leaching and N content of lettuce (*Lactuca sativa*). The treatments of CFs at 100%, nitrogenous nanocomposite (NCN) at 100%, mixture 25/75, 50/50, 75/25 and 25/0, 50/0 75/0% NCN were applied on columns of soil with lettuce for 45 days. Leachates at the end of the cycle increased in treatments with NCN. Treatments with NCN have higher N content in the leaf. In regards to biomass growth, leaf area, leaf N, drained variables, electrical conductivity, and  $\text{NO}_3^-$  content, it was possible to show that the doses of 50 and 75% of NCN match the characteristics of the crop compared to the control, which allows us to use lower doses than those recommended with CFs.

**Keywords:** nitrogen, nanofertilizers, nitrate leaching, bentonite

### **Introduction**

Nanotechnology is the manipulation of atoms, molecules, or molecular groups in structures to create materials and devices with new or different properties [1]. With the application of nanofertilizers in agriculture, sustainability in global food production could be achieved [2]. Nanofertilizers refer to macro-or micronutrient fertilizers, having a particle size of less than 100 nm that are used to promote crop productivity [3]. They can be grouped into three categories: the first is nano-supported fertilizers, materials with a nanometric structure that regulate the release of the fertilizer through adsorption processes, the second is nano-sized fertilizers, manufactured on a nanoscale, and the third is nanoscale coated fertilizers, they are nanopolymer wrapped fertilizers to contain regular size fertilizers [4]. This makes the nutrients available for a longer period compared to high

solubility fertilizers, which quickly release their nutrients [5], in response to environmental triggers or plant requirements [6].

The research and application of nanofertilizers is an important priority to supply the real amount of nutrients to plants [7]. To meet the growth and productivity needs of crops, it is necessary to regulate and synchronize the release and absorption of nutrients [8] through the implementation of efficient strategies when using nutrients. The slow release of fertilizers provides uses according to the growth and environmental status of the plants [7]. They increase the efficiency in the use of nutrients and reduce the costs of environmental security by diminishing the excessive use of fertilizers [9]. The preparation of nano fertilizers can be carried out with organic, inorganic, natural and synthetic polymeric materials, among others [10]. Nutrients retained in nanopores within a carrier material- such as clays- have been used to form nanocomposite structures to control nutrient release [11-14]. Nanocomposites are multi-phase matrixes of silicates (montmorillonite clay and some polymers), which are incorporated with nanoparticles to improve the property of the material [15] and are composed of a matrix filled with reinforcements with at least one dimension at the nanometric scale [16]. Nanostructured clays may require good candidates to transport nutrients because they are ionic systems characterized by the presence of anions and cations that compensate one another, leading to neutrality [17]. These materials create a crystalline three-dimensional structure of cavities, channels and/or pores at a nanometer scale. Its natural structure generates a surface that can retain water, as well as exchange cations [18].

Nitrogen is an important element of many structural, genetic and metabolic compounds in plant cells [1]. However, most of the nitrogen application is lost in the soil solution in the form of nitrate leaching, denitrification, and ammonia volatilization due to harsh weather conditions [19]. This is due to the rapid nutrient release behavior of conventional fertilizers, which increase nutrient losses through leaching and runoff [20]. Macronutrients such as nitrogen are lost by 40-70% when applied to the soil, which causes a considerable loss of resources [21]. The ionic nature of clays, as well as their ability to host a wide range of organic and inorganic ions in combination with a high ionic exchange capacity, can make them suitable for slow release of nutrients and increase their

efficiency. Various studies have been carried out with nanostructures such as nanofertilizers, controlled release nitrogenous fertilizer based on double hydroxides in layers to evaluate the release of nitrate in water and soil [22], Nitrate-LDH to deliver nitrogen to the soil sustainably [23], Montmorillonite-urea [11] in plant with Bentonite nitrate [24]. Based on the above, the objective of this study was to evaluate nitrogenous nanocomposite (NCN) based on modified clay and its effect on leaching and N content of the lettuce (*Lactuca sativa* L.) crop in columns of soil.

## **Materials and Methods**

### **Fertilizer Preparation**

The nitrogenous nanocomposite was obtained in laboratories of the Faculty of Agronomy and Veterinary under the Autonomous University of San Luis Potosí using the methodology proposed by Romero-Mendez et al. [24]. consists of modifying a bentonite type clay through the sorption of a hexadecylamine cationic surfactant (HDA  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{NH}_2$ , Aldrich Chemicals), to subsequently charge the nitrate ion ( $\text{NO}_3^-$ ). The concentration of  $110 \text{ mg g}^{-1}$  of  $\text{NO}_3^-$  used was determined by the difference of the final and initial concentration. The interlaminar spaces of the nanocomposite were shown in a range of 60-100 nm.

### **Experiment Setup**

At the hydroponics center of the Faculty of Agronomy and Veterinary, an experiment with lettuce plants was established in April 2022 in a soil column system using a 9 X 5 m tunnel type greenhouse. Lettuce seedlings of the Montemar variety were used, the soil columns consisted of PVC tubes of 11 cm in diameter and 20 cm height, the column was filled with 2.37 kg to match the density of the soil. In the lower part of the column, a plastic mesh with opening holes of less than 1 mm was placed to contain the soil inside the column and not interrupt the flow of leachate, in addition to a container at the bottom to collect the drainage.

### **Treatments**

Fertilization treatments were evaluated in the soil columns with different proportions of nitrogen supplied with the nitrogenous nanocomposite. The dose 115-69-210 [25] was applied, in percentage combination of conventional fertilizers (CFs) and (NCN) to obtain 8 treatments: mixture of (CFs) and (NCN) 0/100, 25/75, 50 /50 and 75/25, in addition to using only the material NCN 25/0, 50/0, 75/0 and 100/0 (Table 1). The commercial fertilizers that were used to apply the fertilization dose were:  $K_2HPO_4$ ,  $K_2SO_4$  and  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ , which were applied at the beginning and on the surface of the column as well as in the part corresponding to the NCN. Irrigation consisted of a total volume of 8100 mL distributed over the first 15 days in a volume of 100 ml in each column, the second 15 days 150 mL and the last 15 days 250 mL, in addition to adding 200 mL on days 15, 30 and 45 to obtain a leachate.

**Table 1.** Treatments applied during the experiment to evaluate the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns.

No.	Nitrogenous nanocomposite (%)	Conventional fertilizer (%)	Total, units (%)	Treatments
1	0	100	100	0/100
2	25	75	100	25/75
3	50	50	100	50/50
4	75	25	100	75/25
5	25	0	25	25/0
6	50	0	50	50/0
7	75	0	75	75/0
8	100	0	100	100/0

### Response Variables

The variables determined every 15 days in the leached solution were electrical conductivity (EC) (Meter, Walfront, China),  $NO_3^-$   $K^+$   $Ca^{+2}$  ion content (Laqua Twin Ionometer, Horiba, Japan), as well as the evolution of the SPAD unit variables (Soil Plant Analysis Development, SPAD-502 Plus Chlorophyll Meter 2900P, Spectrum Technologies, Illinois, USA), and the normalized difference vegetation index (NDVI, Green Seeker Trimble handheld crop sensor, California, USA). At the end of the experiment, the fresh weight was evaluated on a digital scale (Ohaus PAJ4102N Gold

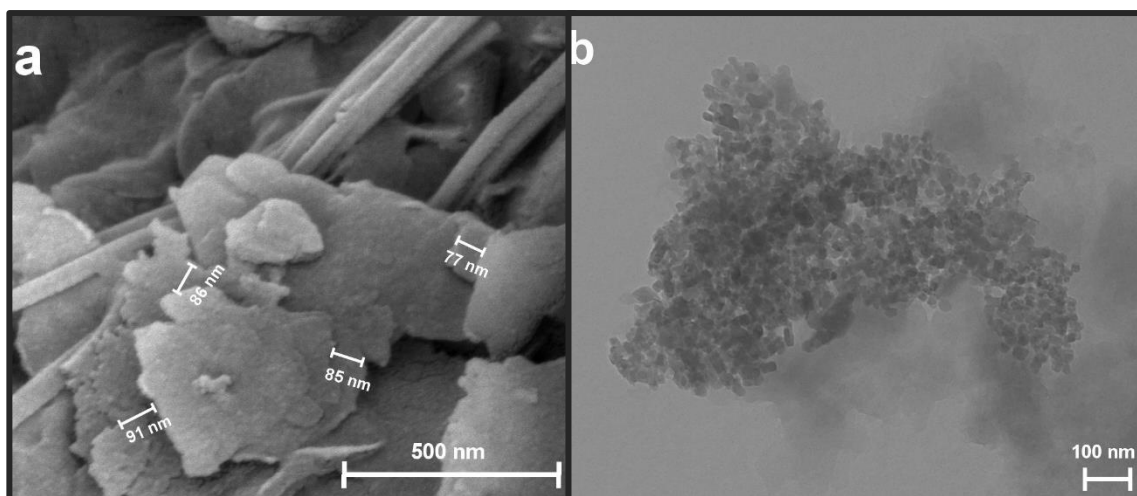
series, USA), leaf area (CID 202 Portable Leaf Area Meter, USA), total dry biomass in a forced-air drying oven (Omron, Ja-pan) at 72°C, until constant weight was obtained on a digital scale (Ohaus PAJ4102N Gold series, USA) and the analysis of ions ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{+2}$ ) was carried out in the petiole cell extract (Laqua Twin Ionometer, Horiba, Japan), the determination of foliar N was calculated by means of the kjeldalh method [26], for morphological characterization, a scanning electron microscope (SEM, UHR FEI HELIOS NANOLAB 600, USA) and a transmission electron microscope (model JEM 1230, JEOL, USA) were used to observe the size of the particles.

### **Experimental Design and Statistical Analysis**

The experiment was established in a completely randomized design, with 8 repetitions per treatment. The experimental unit consisted of a lettuce plant placed in a column of soil. The data obtained in the experiments were subjected to an analysis of variance and the means of the treatments were compared using a Tukey test ( $p < 0.05$ ), performed with SAS version 9.0.

### **Results and Discussion**

Clay nanofertilizers such as bentonite retain nutrients in multiphase silicate matrices that are incorporated with nanoparticles to improve the property of the material. In this case, the fertilizing material is inside the bentonite sheets and their space is less than 100 nm, as shown in Figure 1 (a). The size and distribution of the particles of the synthesized NCN was investigated by transmission electron microscope (TEM) at the energy of 100 kV, shown in Figure 1 (b) The TEM image showed the uniform distribution of particles with size, where most of the particles were 20 nm. These materials create a crystalline three-dimensional structure of cavities, channels and/or pores at a nanometer scale. Its natural structure generates a surface that can retain water, as well as the exchange of cations [18], which are composed of a matrix filled with reinforcements with at least one dimension on the nanometric scale [16].



**Fig. 1** Scanning electron microscopy (SEM) image, magnitude 500 nm (a). Transmission electron microscopy (TEM) image, magnitude 100 nm (b), of a nitrogenous nanocomposite.

#### Leaf area

In Table 2, leaf area shows that most of the treatments were statistically similar with average values of 2850 cm<sup>2</sup>. Only the 25/0 treatment decreased 23% with respect to the control treatment. However, it was statistically equal to treatment 50/0 and 75/0, which in turn were equal to the other treatments. The 100/0 treatment statistically generated the same amount of area as the control, which indicates that the 100% NCN application produces the same leaf area as conventional fertilizers. Insufficient amount of nitrogen can limit plant growth by having lower N availability at lower doses [27]. However, the leaf area increased by 31% when applying an NPK nanofertilizer with half the recommended dose in lettuce [28]. The synchronization of the release of nitrogen in the slow-release fertilizer with the lettuce crop is important because if not released when the plant requires it, the leaf area decreases by absorbing fewer nutrients [29]. In this sense, applying nanofertilizers in doses of 50, 75 and 100% without conventional fertilizer can be a viable alternative for the growth of lettuce since the slow release does not limit the leaf area.



**Table 2.** Conventional fertilization/nitrogenous nanocomposites on growth variables in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns. Different letters in the treatments indicate significant differences Tukey; (P <0.05).

Treatments	Fresh weight	Leaf area	Dry biomass (g)		
	(g)	(cm <sup>2</sup> )	Leaves	Root	Total
0/100	186.74 a	2884 a	11.23 a	6.44 ab	17.67 a
25/75	179.86 ab	2901 a	11.26 a	7.50 a	18.76 a
50/50	179.00 ab	2917 a	10.89 a	6.77 ab	17.67 a
75/25	179.04 ab	2901 a	10.41 a	7.15 a	17.56 a
25/0	138.53 b	2201 b	5.79 c	4.67 b	9.16 c
50/0	154.16 ab	2647 ab	6.88 bc	5.85 ab	12.74 bc
75/0	149.44 ab	2822 ab	9.25 ab	7.25 a	16.50 ab
100/0	179.33 ab	2896 a	10.10 a	6.12 ab	16.21 ab
DMS	47.84	354.58	3.18	2.1	4.11
CV	18.06	8.01	21.32	20.67	16.39

#### Fresh weight

For lettuce fresh weight (Table 2 ), the 25/0 treatment reduced fresh weight by 25.8% compared to the control treatment 0/100, the other treatments had similar values to the control and 25/0 with an average of 160 g fresh weight. Nofal [28] mentioned that the use of NPK nano fertilizers increased the fresh weight of lettuce by 24% using half the recommended dose, this could be due to the retention and slow release of ions according to crop demand. In our case, the doses with 25/0 nano fertilizers decreasing the fresh weight could be due to the fact that the interlaminar spaces do not carry enough nitrogenous material to satisfy the demand of the lettuce crop.

#### Dry biomass

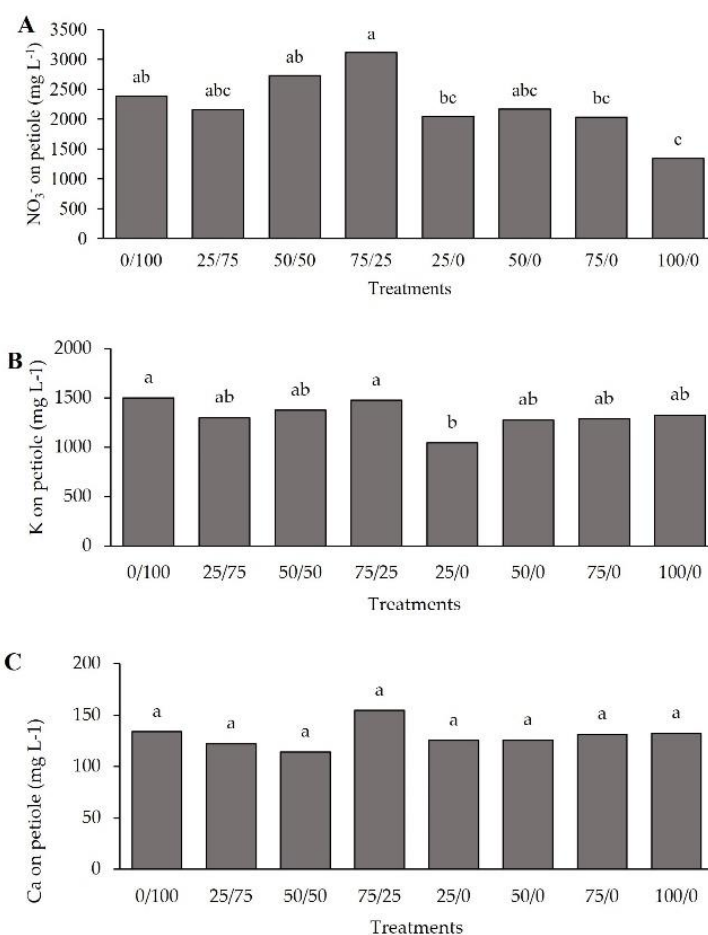
The dry biomass of the leaves presented significant differences between treatments in Table 2. The 50/0 and 25/0 treatments reduced dry biomass 38.7% and 48.4% respectively compared to the control treatment, while the other treatments were equal to the control. The same trend was shown in the dry biomass of the roots, wherein the 25/0 treatment decreased 27.5% with respect to the control 0/100. The other treatments were similar with

an average of 6.7 gr. For total dry biomass, there were significant differences for the same treatments 25/0 and 50/0, decreasing 48 and 28% respectively. A lettuce crop evaluated with a nano nitrogen fertilizer in soil 25% conventional fertilizer and 75% nanoparticles in two crop cycles increased 123 to 159% in plant weight [30]. Similarly, the dry biomass in lettuce increased when applying an NPK nano fertilizer with half the recommended dose [28]. The application of nano-shaped nitrogen increases growth, yield, by improving protein content and uptake of other essential nutrients [31]. The addition of the clay mineral struvite as a slow-release fertilizer to the lettuce crop significantly increased the mean fresh and dry weight of the lettuce compared to the control [32]. When slow-release and fast-release nitrogen fertilizers were evaluated at doses of 0, 60, 90 and 120 kg N ha<sup>-1</sup> applied to lettuce plants, it was found that the increase in the level of nitrogen fertilizer is associated with an increase in the fresh and dry weight of the plants. However, the slow-release fertilizer with the highest dose was greater in fresh and dry biomass [33]. In this sense, nitrogen content in the NCN 25 and 50 doses without traditional fertilizer was not sufficient for the plant to grow properly, and this negatively affected total dry biomass.

#### Ion content in petiole cell extract

The nitrate content in the petiole cell extract showed significant differences between the treatments as shown in Figure 2 (A). The highest value was presented with the 75/25 treatment (3113 mg L<sup>-1</sup>), which was 34% lower than the 25/0, 75/0 treatments and 56% lower than the 100/0 treatment. In lettuce plants, a nano nitrogen fertilizer and bulk fertilizer were evaluated under different irrigation regimes, the NO<sub>3</sub><sup>-</sup> leaf content was significantly affected by the application of nano-nitrogen by drip irrigation in different combinations of recommended doses of N, being the doses of 25, 50 in combination with nanofertilizer and bulk fertilizer those who showed lower leaf content with values of 750-1200 mg L<sup>-1</sup>. The best combination was in bulk with irrigation and foliar applications with maximum values obtained from 1500 mg L<sup>-1</sup> [30]. Nitrate concentration in the petiole varies according to the climatic conditions in the cultivation seasons and the fertilizer used, as mentioned by Lara-Izaguirre [38], in lettuce with different ratios of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; 5431 (mg L<sup>-1</sup>) in the summer and 2416 (mg L<sup>-1</sup>) in autumn.

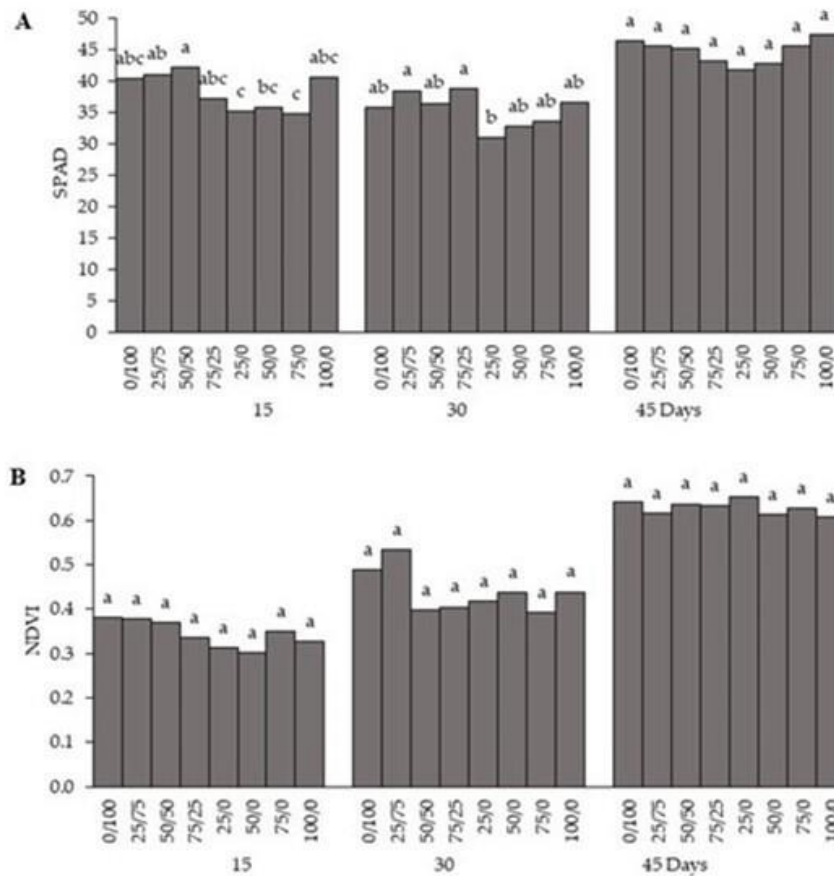
The potassium ion content in the analysis of the petiole was similar between treatments as shown in Figure 2 (B), except for treatment 25/0 which generated 30% less than the control treatment. The average of the other treatments was 1360 mg L<sup>-1</sup>. In petiole calcium ion, there were no significant differences as shown in Figure 2 (C). The average of the treatments was 130 mg L<sup>-1</sup>. However, the 75/25 treatment was slightly higher than the other treatments with 155 mg L<sup>-1</sup>. Benavides-Mendoza [34] conducted field studies to determine the ranges of the petiole cell extract in lettuce, the ionic concentration ranges in the petiole cell extract provide an approximation to the ranges of nutritional sufficiency for K 2950-3325 mg L<sup>-1</sup> and 104-125 mg L<sup>-1</sup> for calcium.



**Fig. 2** Content of **A)** Nitrate, **B)** Potassium and **C)** Calcium in the petiole cell extract in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite in lettuce in soil columns. Different letters in the treatments indicate significant differences Tukey; ( $P < 0.05$ ).

## SPAD units

Figure 3 (A) shows the different measurements that were made during the experiment. Significant differences were shown at 15 and 30 days of evaluation: in the first, the 25/0 and 75/0 treatments decreased 12.6 and 13.8% compared to the control treatment, the other treatments were the same as the control. On day 30, the treatment that decreased with respect to the control treatment was 25/0 with 13%. While at 45 days, there were no significant differences between treatments, which had an average value of 44.8. The effect of SPAD in lettuce does not vary in relation to the doses of  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ , but it does vary when cultivating in different cycles; values of 39.38 in autumn and 29.58 in summer [38]. Drip irrigation makes the use of nanofertilizers in lettuce more efficient by increasing 25% of SPAD units (38 to 44) compared to the control applied to the soil (30-35) [30].



**Fig. 3** SPAD units (A), NDVI (B) measured at 15, 30 and 45 days in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns. Different letters in the treatments indicate significant differences, Tukey ( $P < 0.05$ ).

## Normalized Difference Vegetation Index (NDVI)

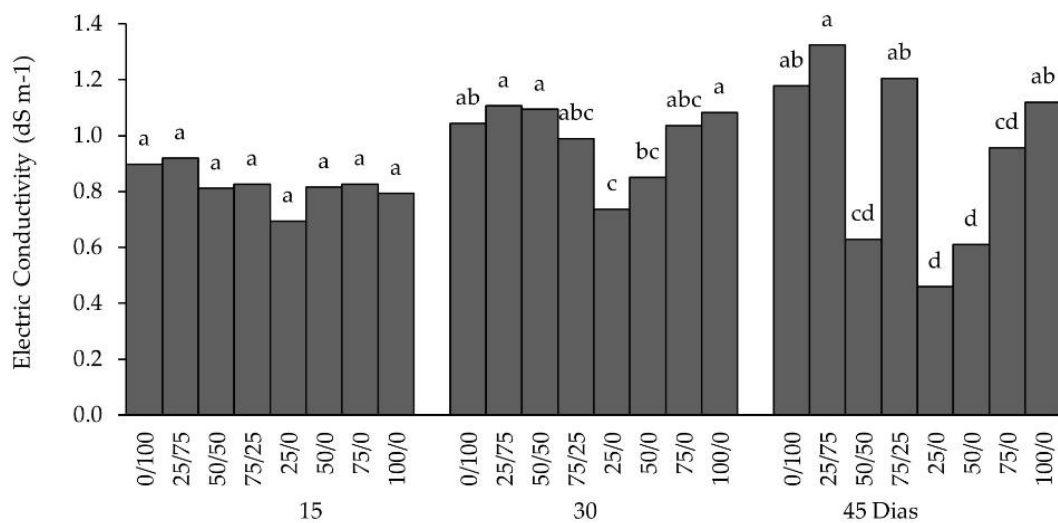
The NDVI at the different evaluation times showed no significant differences between treatments as shown in Figure 3 (B). However, the increase can be observed due to the measurement time, with an average value at 15 days of 0.34, at 30 days it increased to 0.44 and at 45 days it reached mean values of 0.63. Galieni [39] mentioned that lettuce in growing seasons has no differences (0.82 to 0.85) and in treatments without N the NDVI values are reduced. In carrot, slow-release nitrogen fertilizers were evaluated for a period of 3 years, the treatments did not affect the NDVI readings, they were in the ranges of 0.76 and 0.80, and it was possible to determine that the slow-release fertilizers require only one application in comparison with the control with two applications. This reduces environmental impacts, particularly leaching, due to the release of N over a longer period compared to traditional N source products [40]. Nitrogen status was evaluated in geraniums with controlled release fertilizer, with different doses from 0-16 g in greenhouse-grown plants. The NDVI values were higher 0.78 for the plants that received application of N fertilizer and 0.51 for the plants that did not receive fertilizer. As the plants grew, the NDVI was able to differentiate between the fertilizer doses where the treatments were higher, the differences can be attributed to the release rates, distribution and N content [41]. In this sense, the NDVI allows monitoring crop health during the growing season to confirm whether preplant N application of N fertilizer was sufficient to meet crop needs [40]. Since this experiment did not show significant differences in the NDVI, we can mention that the amount of N applied in the different treatments with conventional fertilizer and with nanocomposite were in adequate amounts for lettuce, as the normalized difference index was similar for all, therefore the plant did not show any type of stress in any treatment that could be differentiated with the NDVI.

## Analysis of the leached solution

### Electrical conductivity

At 15 days, the EC of the leached solutions did not show significant differences between treatments as shown Figure 4, the average value was  $0.69 \text{ dS m}^{-1}$ , while at 30 days the

25/0 treatment had the lowest value, the same for the day 45 in addition to the 50/0 treatment. The EC of the leachate during the first weeks of the study is associated with the nutrient release from the controlled release fertilizer and with the soluble salts leached from the substrate [35], in addition to the fact that the plants absorb them much easier [36]. The conductivity increases due to the release of nutrients from the fertilizer [37]. In this sense, we can observe that the EC was higher in this work, especially in the treatments where both nano and conventional fertilizers were applied (0/100, 25/75, 75/25 and 100/0).



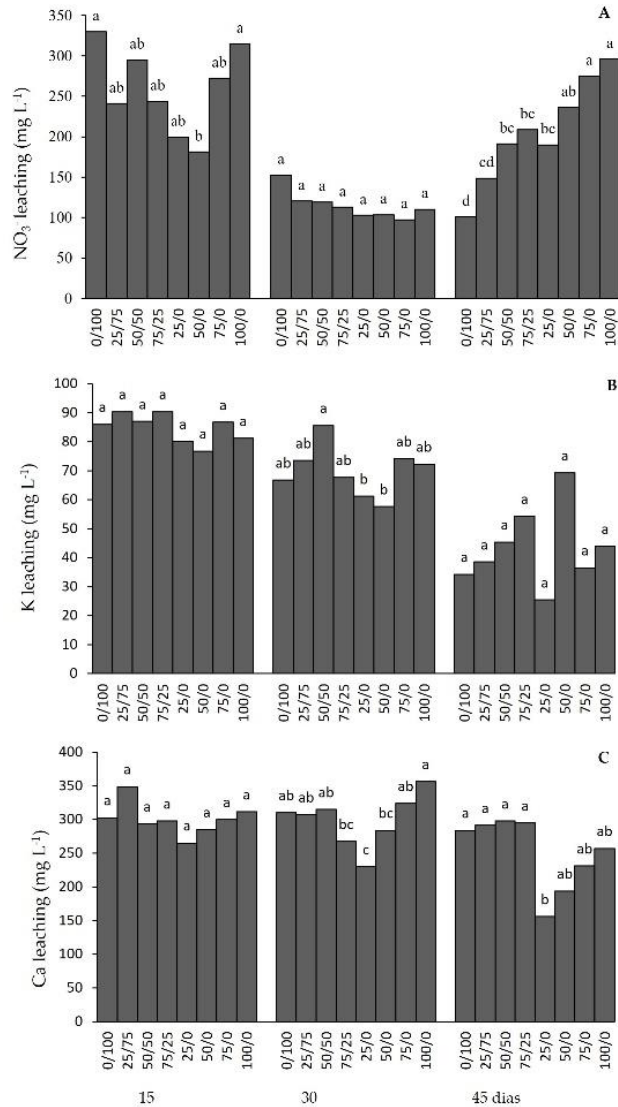
**Fig. 4** Electrical conductivity ( $\text{dS m}^{-1}$ ) of the leached solutions measured at 15, 30 and 45 days in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns. Different letters in the treatments indicate significant differences, Tukey ( $P < 0.05$ ).

#### $\text{NO}_3^-$ $\text{K}^+$ and $\text{Ca}^{+2}$ leaching

In Figure 5 (A), the nitrate content in the leachate after 15 days showed significant differences, where the 50/0 treatment reduced 45% compared to the control treatment. By day 30, the content decreased by half, however, there were no differences between treatments. On day 45, the 75/0 and 100/0 treatments were statistically higher than all the treatments with traditional fertilizer application and the lowest dose of NNC was found on 25/0. In an evaluation of sugarcane, the application of doses of urea and nitrogen

chelated nanofertilizers showed that the highest nitrate leaching ( $699.0 \text{ mg L}^{-1}$ ) belongs to the highest level of urea fertilizer and to the lowest level applied of NNC ( $183.0 \text{ mg L}^{-1}$ ). Increased nitrogen levels in all fertilizer treatments were greater in soil nitrate concentration and leaching nitrate [42]. In soil column, N application of several pellets of lignite urea, a delayed release N fertilizer material, can potentially reduce N losses and, at the same time, add N to the soil profile. The lower leaching loss of mineral N from pellets containing the highest amount of lignite emphasizes the role in N retention. The higher nutrient retention may occur through the formation of organomineral complexes that are more stable and less likely to be lost by leaching or volatilization [43]. The yield with nitrogenous nanofertilizer was higher when increasing the amount of fertilizer, given the low leaching rate of slow-release fertilizers [44]. Reduced nutrient leaching with the use of slow release nanofertilizers can reduce soil and water pollution.

In the first 15 days of cultivation, the treatments did not show significant differences, as shown in Figure 5b, showing average values of  $85 \text{ mg L}^{-1}$ , likewise, in the following 30 days, the average decreased to  $70 \text{ mg L}^{-1}$  with no differences between treatments, except for 25 /0 and 50/0 treatments with a value of  $60 \text{ mg L}^{-1}$ . Finally, on day 45 the leaching remained without differences between treatments with an average decrease of  $40 \text{ mg L}^{-1}$ . In the calcium leaching shown in Fig. 5c the average concentrations were 300, 270 and  $250 \text{ mg L}^{-1}$  for days 145, 30 and 45 days respectively without statistically affecting the treatments, except on day 45 with  $150 \text{ mg L}^{-1}$  in treatment 25/0. In an evaluation of nutrient release by slow-release compressed NPK fertilizers in soil columns, Fernandez-Sanjurjo [45] obtained concentrations of leached  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{+2}$  ions of 20-40 and 20-50 ( $\text{mg L}^{-1}$ ), respectively. In our case, the leaching of both ions decreased with time, indicating normal nutrient uptake.



**Fig. 5** A) NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, B) K<sup>+</sup> and C) Ca<sup>2+</sup> leaching in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns. Different letters in the treatments indicate significant differences, Tukey (P < 0.05).

#### Nitrogen content in leaf

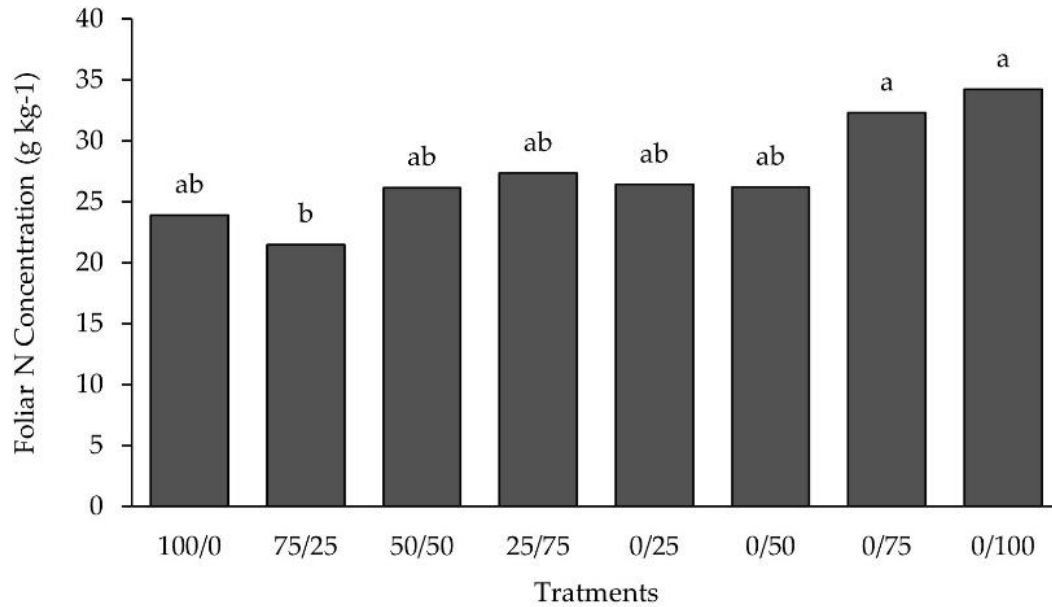
The application of NCN in different combinations with conventional fertilizers significantly affected the concentration of nitrogen in the lettuce plant, with a higher content in the 0/75 and 0/100 treatment by 33% compared to the 75/25 treatment, the rest of the treatments did not present differences, as shown in Figure 6 However, Mills and Jones [46] mentioned that lettuce values are in a sufficiency range of 2.5 to 4%, where most in this work are above 2.5% except for 100/0 and 75/25 treatments. In an experiment



with the cultivation of lettuce with three treatments: urea, starch-urea mixture and corn starch carbamate (slow-release fertilizer), lettuce nitrogen content was not significantly different between treatment groups, as all treatments absorbed nitrogen at similar levels, and starch carbamate can be used as a slow-release fertilizer due to its low solubility and release rate and mineralization [47]. In lettuce plants, the nutrient uptake was evaluated with the application of nano nitrogen under different irrigation and essential regimes on the lettuce plant with different combinations of nano nitrogen forms and in bulk with surface irrigation method and by drip.

The maximum N contents (5.15 to 5.87%) were detected by applying N at a rate of 75% in massive drip irrigation and 25% in nano form through foliar application in both seasons [30].

The data show that, under the specific conditions of the study, total substitution and up to 25% reduction of mineral N by basal application of nanofertilizers is the best strategy to minimize the use of conventional fertilizers in lettuce cultivation without compromising yield. However, the result may depend to a large extent on the soils used, and their physical, chemical and biological composition. Therefore, it is recommended that future studies should evaluate other types of soils, more doses of nanofertilizers, lettuce varieties and application times before reaching a final conclusion.



**Fig. 6** Nitrogen concentration in lettuce leaves in the evaluation of the effect of a nitrogenous nanocomposite on lettuce in soil columns. Different letters in the treatments indicate significant differences, Tukey ( $P < 0.05$ ).

## Conclusions

The use of doses with nitrogenous nanocomposite in the soil columns released fertilizer in similar amounts to the control with conventional fertilizer that did not affect the growth of the lettuce plant. Doses with 75 and 100% NCN have a similar effect on the lettuce plant growth. The nitrogen concentration in the leaves is within the optimal values. However, the release of the nitrogenous nanocomposite increased the number of nitrates in the leachate.

The application of nitrogen to the soil in the form of a nitrogenous nanocomposite can be an option to replace the use of conventional fertilizers, since the 0/50 and 0/75 treatments require less quantity than the control treatment. However, the same results are obtained, that is, the same is produced with less quantity and reduces the nitrogen in the leachates.

The application of nitrogenous nanocomposite not only matches the growth characteristics of the crop, but it also allows the use of lower doses than those recommended.

## References

1. Selva, P.P.; Balakrishnan N. A Review of nano fertilizers and their use and functions in soil. *Int. j. curr. microbiol. appl. Sci.* 2017. 6(12): 3117-3133. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.612.364>
2. Zulfiqar, F.; Navarro, M.; Ashraf, M.; Akram, N. A.; Munné-Bosch, S. Nanofertilizer use for sustainable agriculture: Advantages and limitations. *Plant Sci.* 2019. 289, 110270. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110270>
3. Ndaba, B.; Roopnarain, A.; Haripriya, R.; Maaza, M. Biosynthesized metallic nanoparticles as fertilizers: An emerging precision agriculture strategy. *J. Integr. Agric.* 2022 21(5), 1225-1242. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(21\)63751-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(21)63751-6)
4. Shao, C.; Zhao, H.; Wang, P. Recent development in functional nanomaterials for sustainable and smart agricultural chemical technologies. *Nano Converg.* 2022, 9(1), 1-17. <https://doi.org/10.1186/s40580-022-00302-0>
5. Shaji, H.; Chandran, V.; Mathew, L. Organic fertilizers as a route to controlled release of nutrients. In *Controlled Release Fertilizers for Sustainable Agriculture*. 2021 pp. 231-245. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819555-0.00013-3>
6. Wang, P.; Lombi, E.; Zhao, F. J.; Kopittke, P. M. Nanotechnology: a new opportunity in plant sciences. *Trends Plant Sci.* 2016. 21(8), 699-712. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.04.005>
7. Al-Mamun, M. R.; Hasan, M. R.; Ahommed, M. S.; Bacchu, M. S.; Ali, M. R.; Khan, M. Z. H. Nanofertilizers towards sustainable agriculture and environment. *Environ. Technol. Innov.* 2021. 23, 101658. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101658>
8. Shang, Y.; Hasan, M. K.; Ahammed, G. J.; Li, M.; Yin, H.; Zhou, J. Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: a review. *Mol.* 2019. 24(14), 2558. <https://doi.org/10.3390/molecules24142558>.
9. Panpatte, D. G.; Jhala, Y. K. (Eds.). (2019). *Nanotechnology for Agriculture: Crop Production & Protection*. Springer Nature.
10. Servin, A.; Elmer, W.; Mukherjee, A.; la Torre-Roche, D.; Hamdi, H.; White, J. C.; Bindraban, P.; Dimkpa, C. A review of the use of engineered nanomaterials to

- suppress plant disease and enhance crop yield. *J. Nanoparticle Res.* 2015. 17(2), 1-21. Doi: 10.1007/s11051-015-2907-7
11. Golbashy, M.; Sabahi, H.; Allahdadi, I.; Nazokdast, H.; Hosseini, M. Synthesis The Montmorillonite-Pomegranate (*Punicagranatum L.*) Peel Polyphenols Nanostructure As a Drug Delivery Vehicle. *Biomed. Pharmacol.* 2016. 9(1), 385-392. doi: <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/950>
  12. Kottegoda, N.; Sandaruwan, C.; Priyadarshana, G.; Siriwardhana, A.; Rathnayake, U. A.; Berugoda Arachchige, D. M.; Amaratunga, G. A. Urea-hydroxyapatite nanohybrids for slow release of nitrogen. *ACS nano.* 2017. 11(2), 1214-1221. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b07781>
  13. Borges, R.; Wypych, F.; Petit, E.; Forano, C.; Prevot, V. Potential sustainable slow-release fertilizers obtained by mechanochemical activation of MgAl and MgFe layered double hydroxides and K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. *J. Nanomater.* 2019 9(2), 183. <https://doi.org/10.3390/nano9020183>
  14. Tarafder, C.; Daizy, M.; Alam, M. M.; Ali, M. R.; Islam, M. J.; Islam, R.; Khan, M. Z. H. Formulation of a hybrid nanofertilizer for slow and sustainable release of micronutrients. *ACS omega.* 2020. 5(37), 23960-23966. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c03233>
  15. Naseem, F.; Zhi, Y.; Farrukh, M. A.; Hussain, F.; Yin, Z. Mesoporous ZnAl<sub>2</sub>Si<sub>10</sub>O<sub>24</sub> nanofertilizers enable high yield of *Oryza sativa L.* *Sci. Rep.* 2020. 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67611->
  16. Saadi, S.; Nazari, B. Recent developments and applications of nanocomposites in solar cells: a review. *J. compos. compd.* 2019. 1(1), 41-50. <https://doi.org/10.29252/jcc.1.1.7>
  17. Lazaratou, C. V.; Vayenas, D. V.; Papoulis, D. The role of clays, clay minerals and clay-based materials for nitrate removal from water systems: A review. *Appl. Clay Sci.* 2020. 185, 105377. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105377>
  18. Bernardi, A. C.; Monte, M. B. D. M.; Paiva, P. R. P.; Werneck, C. G.; Haim, P. G.; Barros, F. D. S. Dry matter production and nutrient accumulation after successive crops of lettuce, tomato, rice, and andropogongrass in a substrate with zeolite. *Rev. Bras. Cienc. Solo.* 2010. 34, 435-442. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832010000200017>

19. Cameron, K. C.; Di, H. J.; Moir, J. L. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Ann. Appl. Biol.* 2013. 162(2), 145-173. <https://doi.org/10.1111/aab.12014>
20. Khajavi-Shojaei, S.; Moezzi, A.; Norouzi, M. M.; Taghavi, M. Synthesis modified biochar-based slow-release nitrogen fertilizer increases nitrogen use efficiency and corn (*Zea mays* L.) growth. *Biomass Convers. Biorefinery.* 2020. 1-9. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01137-7>
21. Zulfiqar, F.; Navarro, M.; Ashraf, M.; Akram, N. A.; Munné-Bosch, S. Nanofertilizer use for sustainable agriculture: Advantages and limitations. *Plant Sci.* 2019. 289, 110270. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110270>
22. Ureña-Amate, M. D.; Boutarouch, N. D.; del Mar Socias-Viciano, M.; González-Pradas, E. Controlled release of nitrate from hydrotalcite modified formulations. *Appl. Clay Sci.* 2011. 52(4),368373. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2011.03.018>
23. Berber, M. R.; Hafez, I. H.; Minagawa, K.; Mori, T. A sustained controlled release formulation of soil nitrogen based on nitrate-layered double hydroxide nanoparticle material. *J. Soils Sediments.* 2014. 14(1), 60-66. <https://doi.org/10.1007/s11368-013-0766-3>
24. Romero-Méndez, M. J.; Rojas-Velázquez, Á. N.; Mireles, J. L. L.; Flores, P. E. D.; Reza, J. L. W. Efecto de un fertilizante nitrogenado a base de bentonita modificada y tensoactivo HDTMA en el crecimiento de lechuga (*lactuca sativa* L.) hidropónica. *Agrociencia.* 2019. 53(2), 219-234.
25. Velásquez, P.; Ruíz, H.; Chaves, G.; Luna, C. Productividad de lechuga *Lactuca sativa* en condiciones de macrotúnel en suelo Vitric haplustands. *Rev. Mexicana cienc. agric.* 2014. 31(2), 93-105. <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.143102.34>
26. Lynch, J. M.; Barbano, D. M. Kjeldahl nitrogen analysis as a reference method for protein determination in dairy products. *J. AOAC Int.* 1999. 82(6), 1389-1398. <https://doi.org/10.1093/jaoac/82.6.1389>
27. Marschner, H.; Marschner, P. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, 3rd ed.; Elsevier: London, UK; Academic Press: London, UK, 2012
28. Nofal, A. S.; Ashmawi, A. E.; Mohammed, A. A.; El-Abd, M. T.; Helaly, A. A. Effect of soil application of nano NPK fertilizers on growth, productivity and quality of Lettuce (*Lactuca sativa*). *Azhar J. Agric. Res.* 2021. 46(1), 91-100. doi: 10.21608/ajar.2021.218559

29. Okyay, G.; Karagöz, S.; Ulaş, A.; Özen, İ. Efficiency of an agrotexile surface structure possessing fertilizer and water management coupled with mulching property in romaine lettuce growth trials. *J. Text. Inst.* 2020. 111(12), 1735-1744. <https://doi.org/10.1080/00405000.2020.1727268>
30. Sharaf-Eldin, M. A.; Elsayy, M. B.; Eisa, M. Y.; El-Ramady, H.; Usman, M.; Zia-ur Rehman, M. 2022. Application of nano-nitrogen fertilizers to enhance nitrogen efficiency for lettuce growth under different irrigation regimes. *Pak. J. Agric. Sci.* 2020. 59(3), 367-379. doi: 10.21162/PAKJAS/22.1044
31. Zahedi, S. M.; Karimi, M.; Teixeira da Silva, J. A. The use of nanotechnology to increase quality and yield of fruit crops. *J. Sci. Food Agric.* 2020. 100(1), 25-31. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10004>
32. Ryu, H. D.; Lim, C. S.; Kim, Y. K.; Kim, K. Y.; Lee, S. I. Recovery of struvite obtained from semiconductor wastewater and reuse as a slow-release fertilizer. *Environ. Eng. Sci.* 2012. 29(6), 540-548. <http://doi.org/10.1089/ees.2011.0207>
33. Awaad, M. S.; Badr, R. A.; Badr, M. A.; Abd-elrahman, A. H. Effects of different nitrogen and potassium sources on lettuce (*Lactuca sativa* L.) yield in a sandy soil. *Eurasian J. Soil Sci.* 2016. 5(4), 299-306. <https://doi.org/10.18393/ejss.2016.4.299-306>
34. Benavides-Mendoza, A.; Alba-Romenus, K. D.; Francisco-Francisco, N. Relation between soil solution composition and petiole cellular extract of crops in western Mexico. *Terra Latinoam.* 2021. 39. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.873>
35. Merhaut, D. J.; Blythe, E. K.; Newman, J. P.; Albano, J. P. Nutrient Release from Controlled-release Fertilizers in Acid Substrate in a Greenhouse Environment: I. Leachate Electrical Conductivity, pH, and Nitrogen, Phosphorus, and Potassium Concentrations. *HortScience.* 2006. 41(3), 780-787. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.3.780>
36. Andiru, G. A.; Pasian, C. C.; Frantz, J. M. Effects of controlled-release fertilizer placement on nutrient leaching and growth of bedding impatiens. *J. Environ. Hortic.* 2015. 33(2), 58-65. <https://doi.org/10.24266/0738-2898-33.2.58>
37. Zanin, G.; Maucieri, C.; Dal Ferro, N.; Bortolini, L.; Borin, M. Evaluating a Controlled-Release Fertilizer for Plant Establishment in Floating Elements for Bioretention Ponds. *Agronomy.* 2020. 10, 199.

38. Lara-Izaguirre, A. Y.; Rojas-Velázquez, A. N.; Romero-Méndez, M. J.; Ramírez-Tobías, H. M.; Cruz-Crespo, E.; Alcalá-Jáuregui, J. A.; Loredó-Ostí, C. Growth and  $\text{NO}_3^-$ -accumulation in hydroponic lettuce with nitrate/ammonium ratios in two cultivation seasons. *Rev Fitotec Mex.* 2019. 42(1), 21-29.
39. Galieni, A.; Stagnari, F.; Speca, S.; Pisante, M. Leaf traits as indicators of limiting growing conditions for lettuce (*Lactuca sativa*). *Ann. Appl. Biol.* 2016. 169(3), 342-356. <https://doi.org/10.1111/aab.12305>
40. Sanderson, K. R.; Fillmore, S. A. E. Slow-release nitrogen fertilizer in carrot production on Prince Edward Island. *Canadian J. Plant Sci.* 2012. 92(6), 1223-1228. [https://doi.org/10.4141/cjps2011\\_201](https://doi.org/10.4141/cjps2011_201)
41. Dunn B. L.; Shrestha, A.; Goad, C. Determining nitrogen fertility status using optical sensors in geranium with controlled release fertilizer. *J. Appl. Hortic.* 2015. 17(1), 7-11. <https://doi.org/10.37855/jah.2015.v17i01.02>
42. Alimohammadi, M.; Panahpour, E.; Naseri, A. Assessing the effects of urea and nano-nitrogen chelate fertilizers on sugarcane yield and dynamic of nitrate in soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* 2020. 66(2), 352-359. <https://doi.org/10.1080/00380768.2020.1727298>
43. Saha, B. K.; Rose, M. T.; Wong, V. N.; Cavagnaro, T. R.; Patti, A. F. Nitrogen dynamics in soil fertilized with slow-release brown coal-urea fertilizers. *Sci. Rep.* 2018. 8(1), 1-10. doi:10.1038/s41598-018-32787-3
44. Zareabyaneh, H.; Bayatvarkeshi, M. Effects of slow-release fertilizers on nitrate leaching, its distribution in soil profile, N-use efficiency, and yield in potato crop. *Environ. Earth Sci.* 2015. 74(4), 3385-3393.
45. Fernández-Sanjurjo, M. J.; Álvarez-Rodríguez, E.; Núñez-Delgado, A.; Fernández-Marcos, M. L.; Romar-Gasalla, A Nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium release from two compressed fertilizers: column experiments. *Solid Earth.* 2014. 5(2), 1351-1360. DOI: <https://doi.org/10.5194/se-5-1351-2014>
46. Mills, H. A.; Benton, J. J. *Plant analysis handbook II: a practical preparation, analysis, and interpretation guide* (No. 631.42/J76). MicroMacro Publishing. 1996
47. Kim, D. H.; Kang, Y. J.; Choi, J. J.; Yun, S. I. Lettuce growth and nitrogen loss in soil treated with corn starch carbamate produced using urea. *Korean J. Soil. Sci.* 2020. 53(1): 13-21. doi: 10.7745/KJSSF.2020.53.1.013

## CONCLUSIONES GENERALES

El surfactante HDA permite modificar la bentonita sin afectar tóxicamente a las plantas de lechuga en suelo, para posteriormente sintetizar el nanocompuesto nitrogenado y evaluar su efecto como fertilizante de lenta liberación.

La longitud de la cadena de carbonos y el ion acompañante del surfactante está implicada en la toxicidad de plantas de lechuga, las de cadena corta (HDA 16 y DDA 12) causan menor daño que las de cadena larga (OTAC 21, HDTMA 19), y además el ion acompañante incrementa la toxicidad (cloro OTAC y bromo en HDTMA).

La síntesis de bentonita con nitrógeno formó un nanocompuesto con propiedades de liberación lenta, por lo tanto, el material nanocompuesto nitrogenado podría ser una solución para reducir el uso de fertilizantes convencionales y disminuir las pérdidas de nitrógeno en suelo; sin embargo, se requiere mayor cantidad de N en la evaluación para conocer mejor el comportamiento del N en suelo. El uso de dosis de 25% de nanofertilizante sin fertilizante convencional disminuyó el área foliar y el peso fresco y aumentó la concentración de nitrato en lixiviado.

Los resultados de experimentos con mayor cantidad de N aplicado con la dosis 115-69-210 kg ha<sup>-1</sup> es mejor para el crecimiento de lechuga sin importar cualquier tipo de fertilización tanto en FC como en NCN. Sin embargo, a través de los nanocompuestos nitrogenados con dosis de 75 y 100 % de NCN se tiene un efecto similar en el crecimiento de las plantas de lechuga que el obtenido con los fertilizantes convencionales. Por lo tanto, la aplicación de nitrógeno en suelo en forma de nanocompuesto nitrogenado puede ser una opción para sustituir el uso de fertilizantes convencionales, debido a que los tratamientos 0/50 y 0/75 usan menor cantidad de N que el tratamiento control permitiendo hacer uso de dosis más bajas que las recomendadas.

Se concluye que el nanocompuesto nitrogenado adsorbe y libera iones nitrato, no afecta tóxicamente a las lechugas en suelo y reduce las dosis de fertilizantes convencionales en el crecimiento del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*).