

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTO DE COMPLEJOS DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSÁN-YODO EN
LECHUGA BAJO ESTRÉS BIÓTICO

Tesis

Que presenta KARLA STEPHANIE TREVIÑO RUIZ
como requisito parcial para tener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila

Octubre 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



EFFECTO DE COMPLEJOS DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSÁN-YODO EN
LECHUGA BAJO ESTRÉS BIÓTICO

Tesis

Que presenta KARLA STEPHANIE TREVIÑO RUIZ
como requisito parcial para tener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA HORTICULTURA

Dra. Susana González Morales
Director UAAAN

Dra. Honeisa Ortega Ortiz
Co-Director

Dr. Antonio Flores Naveda
Subdirector de Postgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Octubre 2025

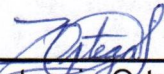
EFFECTO DE COMPLEJOS DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSÁN-YODO EN
LECHUGA BAJO ESTRÉS BIÓTICO

Tesis

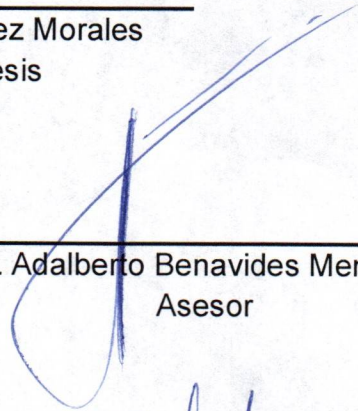
Elaborada por KARLA STEPHANIE TREVIÑO RUIZ como requisito parcial
para obtener el grado de Maestro en Ciencias de Horticultura
con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



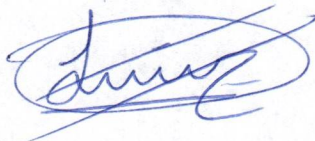
Dra. Susana González Morales
Director de Tesis



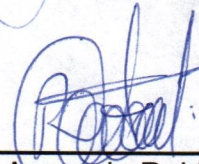
Dra. Hortensia Ortega Ortiz
Asesor



Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor



Dr. Antonio Juárez Maldonado
Asesor



Dr. Armando Robledo Olivo
Asesor



Dr. Antonio Flores Naveda
Subdirector de Postgrado
UAAAN

Saltillo Coahuila.

Octubre 2025

AGRADECIMIENTOS

A mi querida **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por ser ese lugar al que siempre quiero regresar. Gracias al programa de Maestría en Ciencias en Horticultura por todo lo que aprendí de mí misma en este proceso.

Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT)** por el apoyo mediante el proyecto A1-S-20923 y al **Centro de Investigación en Química Aplicada** por el apoyo recibido durante la realización de este estudio y por las facilidades prestadas para la realización de los análisis de laboratorio.

Quiero darles un especial agradecimiento a la **Dra. Susana González Morales** por su valiosa guía durante esta investigación y a la **Dra. Hortensia Ortega Ortiz** por todo el apoyo que me brindó. Admiro enormemente el trabajo de ambas como mujeres investigadoras y les deseo un enorme éxito en sus vidas.

A mis asesores **Dr. Armando Robledo Olivo**, **Dr. Adalberto Benavides Mendoza** y **Dr. Antonio Juárez Maldonado**, por todo lo que aprendí con ustedes y por todo el apoyo que recibí en sus laboratorios. Su amor por la ciencia y su dedicación perdurará siempre en mí.

Al **LCQ Jesús Alejandro Espinosa Muñoz**, del laboratorio de caracterización de Materiales del CIQA, por su apoyo en la determinación de los minerales por ICP en las plantas de lechuga.

Al **MC José Alejandro Díaz Elizondo** por su ayuda en la preparación del quitosán en planta piloto del CIQA.

DEDICATORIA

Dedico especialmente este logro a mi querida madre Karla Lucia Ruiz Martínez. Gracias por formar parte de mi camino, por alentar mis sueños y sobre todo por enseñarme a ser y a sentir

Tu amor incondicional ha sido mi mayor regalo

A mi padre **Eduardo Treviño Hernández** por ser mi fortaleza y apoyo. Gracias a los dos por apoyarme en todo momento y por acompañarme durante el proceso de experimentación y toma de datos.

A mi hermana **Lucia Monserrat Treviño Ruiz** por ser mi compañera de vida. Por todas las cosas que comenzamos juntas y que estamos creando juntas.

A mis queridas amigas **Mariana Iracheta Mellado** por motivarme a no rendirme y **Ana Luisa Rivera Lazarín** por ser una inspiración para mí tanto en lo personal como en lo profesional, gracias porque me han acompañado en los momentos difíciles que pase estos últimos años.

A todos y cada uno de mis compañeros que vivieron junto conmigo estos años, gracias por sus consejos y por su ayuda en esta investigación

ÍNDICE GENERAL

LIBERACIÓN DE TESIS	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIA	v
ÍNDICE	vi
LISTA DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	ix
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
HIPÓTESIS	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
El yodo y su impacto en la salud	5
Yodo en la naturaleza	6
Disponibilidad y absorción del yodo.....	7
Yodo en las plantas	7
Prevención de la deficiencia de yodo	8
Biofortificación con yodo.....	9
Quitosán y su uso en la nanotecnología.....	10
Cultivo de lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.)	11
<i>Bremia lactucae</i>	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
Descripción del área de estudio.....	13
Síntesis de NPsCS y preparación de los complejos NPsCS-I.....	13
Fase experimental biofortificación	14
Desarrollo del cultivo	14
Aplicación de tratamientos	14
Diseño experimental.....	15
Análisis de datos	15
Experimento con inoculación del patógeno	15
Desarrollo del cultivo	15
Preparación del inóculo	16

Aplicación de tratamientos	16
Diseño experimental.....	16
Análisis de datos	17
Análisis de variables agronómicas, bioquímicas y actividad enzimática	17
Variables agronómicas	17
Conductancia y densidad estomática	18
Variables evaluadas relacionadas con el efecto de biofortificación	19
Recolección de muestras	19
Contenido de yodo	19
Contenido de minerales	19
Contenido de Fósforo	20
Contenido de Nitrógeno	20
Vitamina C.....	21
Fenoles totales	21
Pigmentos fotosintéticos	22
Variables evaluadas relacionadas con la tolerancia al estrés por patógenos en hojas.....	22
Recolección de muestras	22
Incidencia y severidad de <i>B. lactucae</i>	23
Extracción de enzimas quitinasa y glucanasa	23
Actividad quitinasa	23
Actividad glucanasa	24
Actividad fenilalanina amonio liasa (PAL)	24
Proteínas totales	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
Experimento de biofortificación.....	26
Variables agronómicas	26
Biofortificación con yodo	28
Contenido de minerales	29
Vitamina C.....	32
Fenoles totales	33
Pigmentos fotosintéticos	34
Densidad estomática	35

Experimento con inoculación del patógeno	37
Incidencia y severidad de <i>B. lactucae</i>	37
Variables agronómicas	38
Conductancia y densidad estomática	39
Fenoles totales	42
Actividad enzimática de PAL, quitinasa y β -1,3 glucanasa	43
CONCLUSIONES	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

LISTA DE CUADROS

Tabla 1. Tratamientos aplicados al cultivo de lechuga.	15
Tabla 2. Tratamientos aplicados al cultivo de lechuga inoculado con <i>B. lactucae</i>	17
Tabla 3. Efecto de la aplicación de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre las variables agronómicas de lechuga a los 60 DDT	27
Tabla 4. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo en el contenido de minerales en hojas de lechuga	30
Tabla 5. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo en la morfología y densidad estomática (DS) de hojas de lechuga.....	36
Tabla 6. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre las variables agronómicas en lechuga infectada por <i>B. lactucae</i> a los 60 DDT.....	39
Tabla 7. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo en la conductancia y densidad estomática de hojas de lechuga infectada por <i>B. lactucae</i>	41
Tabla 8. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre las variables agronómicas en lechuga infectada por <i>B. lactucae</i> en diferentes etapas fenológicas.	42
Tabla 9. Actividad enzimática en lechuga tratada con complejos de nanopartículas de quitosán-yodo infectada por <i>B. lactucae</i> en diferentes etapas de crecimiento.	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre el contenido de yodo en plantas de lechuga.	28
Figura 2. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre el contenido de vitamina C en lechuga.	32
Figura 3. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre el contenido de fenoles totales en lechuga.	33
Figura 4. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre el contenido de clorofilas en hojas de lechuga.....	34
Figura 5. Severidad de <i>B. lactucae</i> en plantas de lechuga tratadas con nanopartículas de quitosan-yodo a los 60 DDT	37
Figura 6. . Incidencia de <i>B. lactucae</i> en plantas de lechuga tratadas con complejos de nanopartículas de quitosan-yodo a los 30 y 60 DDT.	38
Figura 7. Conductancia en lechuga infectada por <i>B. lactucae</i> tratada con complejos de nanopartículas de quitosán-yodo.	40

RESUMEN

EFFECTO DE COMPLEJOS DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSÁN-YODO EN
LECHUGA BAJO ESTRÉS BIÓTICO

Por

KARLA STEPHANIE TREVIÑO RUIZ
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DRA. SUSANA GONZÁLEZ MORALES - ASESOR

Saltillo, Coahuila

Septiembre 2025

RESUMEN

El yodo (I) no se considera un elemento esencial para las plantas terrestres, sin embargo, se ha demostrado que las plantas absorben y acumulan yodo. En el presente trabajo se realizó la aplicación vía foliar de complejos de nanopartículas de quitosán-yodo (NPsCS-I) en plantas de lechuga, con el objetivo de evaluar su efecto biofortificante, además de su efecto en el crecimiento y rendimiento. La aplicación de los complejos de NPsCS-I en el cultivo de lechuga tuvo un efecto significativo en el rendimiento (ANOVA, Fisher $p \leq 0.05$). El mayor rendimiento del cultivo se encontró con la aplicación del complejo NPsCS-KIO₃ en una dosis de 5 mg L⁻¹ (940.5 g planta⁻¹) incrementando en un 23.6% con respecto al testigo. Se concluye que la aplicación foliar de los complejos influyó de manera significativa en el rendimiento del cultivo y en la absorción del ion yodo (I⁻) en hojas de lechuga.

En condiciones de estrés biótico por la presencia de *Bremia lactucae*, la aplicación foliar de NPsCS-KIO₃ con 5 mg L⁻¹ redujo la severidad del ataque del patógeno en un 47.1%, mientras que la aplicación del complejo de NPsCS-KI mostró una disminución en la severidad del 39% y 35.3% para las dosis de 5 y 25 mg L⁻¹ respectivamente. Además, la morfología y densidad estomática fueron afectadas por los tratamientos, lo que indica una modulación de los mecanismos de defensa de la planta. Los resultados sugieren que los complejos de NPsCS-I pueden ser una herramienta efectiva para mejorar la respuesta de la lechuga al estrés biótico inducido por *Bremia lactucae*.

PALABRAS CLAVE: Biofortificación, *Bremia lactucae*, estrés biótico nanopartículas de quitosán, yodato de potasio, yoduro de potasio.

ABSTRACT

EFFECT OF CHITOSAN-IODINE NANOPARTICLE COMPLEXES ON
LETTUCE UNDER BIOTIC STRESS

By

KARLA STEPHANIE TREVIÑO RUIZ
MASTER IN SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DRA. SUSANA GONZÁLEZ MORALES

ADVISER

Saltillo, Coahuila

Septiembre 2025

ABSTRACT

Iodine (I) is not considered an essential element for terrestrial plants. However, it has been shown that plants absorb and accumulate iodine. In the present work, foliar application of nano chitosan-iodine complexes (NPsCS-I) was carried out in lettuce plants to evaluate its biofortifying effect, in addition to its impact on growth and yield. The application of NPsCS-I complexes in lettuce cultivation had a significant effect on yield (ANOVA, Fisher $p \leq 0.05$). The highest crop yield was found with the application of the NPsCS-KIO₃ complex at a dose of 5 mg L⁻¹ of KIO₃ (940.5 g plant⁻¹) increasing by 23.6% compared to the control. It is concluded that the foliar application of the complexes significantly influenced crop yield and the absorption of the iodine ion (I⁻) in lettuce leaves.

Under biotic stress conditions due to the presence of *Bremia lactucae*, the foliar application of NPsCS-KIO₃ at 5 mg L⁻¹ reduced the severity of the pathogen attack by 47.1%, while the application of the NPsCS- KI complex showed a decrease in severity of 39% and 35.3% for the 5 and 25 mg L⁻¹ doses respectively. Furthermore, stomatal morphology and density were affected by the treatments, indicating a modulation of the plant's defense mechanisms. The results suggest that NPsCS-I can be an effective tool to improve the response of lettuce to biotic stress induced by *Bremia lactucae*.

KEY WORDS: Biofortification, *Bremia lactucae*, biotic stress, chitosan nanoparticles, potassium iodate, potassium iodide.

INTRODUCCIÓN

La agricultura moderna enfrenta desafíos significativos para garantizar la seguridad alimentaria y nutricional. Simultáneamente, la calidad nutricional de los alimentos ha disminuido en las últimas décadas, generando deficiencias de micronutrientes esenciales como el yodo en la población mundial (Ruel *et al.*, 2017; Fanzo *et al.*, 2021).

La deficiencia de yodo es un problema de salud que afecta a un tercio de la población mundial (Li *et al.*, 2017). La Organización Mundial de la Salud (OMS) (2004) contabiliza que existe su carencia en 54 países y se estima que cerca de 2,000 millones de personas viven con una ingesta insuficiente de este elemento, lo que puede conducir a trastornos por deficiencia de yodo (DDY) (World Health Organization, 2022).

El yodo es un micronutriente esencial en humanos, especialmente crítico durante el embarazo y la lactancia. Su deficiencia en la dieta materna tiene consecuencias significativas para la salud tanto de la madre como del feto, afectando directamente la síntesis de hormonas tiroideas. La deficiencia severa de yodo incrementa significativamente el riesgo de nódulos tiroideos en mujeres embarazadas, afectando hasta al 30% de esta población en áreas de alto riesgo. Durante el embarazo, se asocia con un mayor riesgo de muerte fetal y un aumento en la mortalidad perinatal e infantil. Durante la infancia, se ha asociado con trastornos de déficit de atención e hiperactividad, además puede traer como consecuencia retardo mental y problemas de crecimiento, de la audición y del habla (Alexander *et al.*, 2017).

El yodo es un elemento necesario para la producción de la hormona tiroidea, por lo que su insuficiencia se manifiesta en enfermedades tiroideas como el bocio y el hipertiroidismo, además, se ha relacionado esta carencia con la fibromialgia (American Thyroid Association, 2024).

En un estudio realizado en Oaxaca, se determinó el contenido nutricional de la dieta proporcionada a los beneficiarios de la Casa del Niño indígena, encontrando una insuficiencia de yodo en un rango de edad de 6 a 16 años (Castro-Juárez *et*

al., 2022). Además, se encontró en infantes mexicanos un crecimiento insuficiente, condición que ha sido asociada a deficiencias de nutrimentos como el yodo, y la cual se ve acentuada en infantes indígenas (Galván *et al.*, 2020).

Con el fin de prevenir y controlar la carencia de yodo, el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) y la OMS (2004) recomiendan la yodación universal de la sal. Pese a ello la UNICEF calcula que actualmente solo el 66% de los hogares de todo el mundo tienen acceso a la sal yodatada.

La NOM-038-SSA2-2010 marca que, para asegurar la ingesta de 150 µg de yodo al día, recomendada por la OMS y el Instituto de Medicina, es necesario un consumo de sal de 10 g por persona por día, valor que está por encima de los 5 g recomendados por la OMS y que puede contribuir a la hipertensión. En general, la OMS ha observado un excesivo consumo de sal en la población a nivel mundial lo cual ha llevado a la aplicación de estrategias enfocadas en reducir en un 30% la ingesta media de sal (World Health Organization, 2020).

Además de relacionar el yodo con enfermedades por su deficiencia en humanos, se ha demostrado que las plantas absorben y acumulan yodo, sin embargo, no se considera como un elemento esencial para las plantas terrestres. Debido a esto, el yodo no se contempla en los esquemas de fertilización (Gupta *et al.*, 2015). La biofortificación de vegetales con yodo emerge como una estrategia prometedora para incrementar la ingesta de este micronutriente esencial en la dieta humana (Zimmermann, 2019). Siendo la volatilización del yodo otro factor a considerar, se han propuesto diversas técnicas para mitigarlo, entre ellas el uso de materia orgánica, materiales adsorbentes o la aplicación de biopolímeros como el quitosán (Medrano-Macias *et al.*, 2016).

Para abordar estas problemáticas, la nanotecnología emerge como una herramienta prometedora. Las nanopartículas de quitosán ofrecen la posibilidad de encapsular y liberar de manera controlada micronutrientes como el yodo. Algunos autores mostraron en su estudio la viabilidad del uso de complejos de quitosán-yodo, especialmente al utilizar KIO_3 , como una alternativa para biofortificar cultivos con yodo (Dávila-Rangel *et al.*, 2020).

El quitosán es reconocido como un inductor eficaz de respuestas de defensa en plantas, desencadenando una serie de mecanismos fisiológicos y bioquímicos. Estos incluyen alteraciones en la permeabilidad de la membrana celular, la generación de especies reactivas de oxígeno, la activación de enzimas relacionadas con la defensa, la modulación de la biosíntesis de ácido jasmónico, el fortalecimiento de la lignificación y la regulación del flujo de iones (Sharp y Shabala, 2018).

En este contexto, la lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una hortaliza de hoja ampliamente consumida a nivel mundial por su valor nutricional y su relevancia en la dieta humana. Sin embargo, la producción de lechuga se ve amenazada por diversos factores, incluyendo el estrés biótico y la disminución de la calidad nutricional de los alimentos (Mou, 2020). Una de las enfermedades más importantes de este cultivo es el mildiu, ocasionada por el hongo *Bremia lactucae* Regel. Esta enfermedad está ampliamente distribuida por todo el mundo y es causante de graves pérdidas económicas, tanto en cultivos bajo invernadero como al aire libre puesto que por sus condiciones biológicas pueden dañar seriamente el cultivo hasta perderlo por completo (García *et al.*, 2021).

Por lo anterior, en este trabajo se realizó la aplicación vía foliar de complejos de nanoquitosán-yodo en plantas de lechuga, con el objetivo de evaluar su efecto en la biofortificación en dicho cultivo; así como la calidad nutricional en las plantas tratadas, además se evaluó el efecto promotor del crecimiento y vigor en la respuesta de tolerancia contra *Bremia lactucae*.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto bioestimulante y biofortificante en plantas de lechuga tratadas con complejos de nanopartículas de quitosán-yodo (NPsCS-I) bajo estrés biótico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto de promoción del crecimiento y vigor en plantas de lechuga tratadas con complejos de nanopartículas de quitosán-yodo (NPsCS-I).
2. Evaluar el efecto en la calidad nutricional en plantas de lechuga tratadas con complejos de NPsCS-I.
3. Determinar la biofortificación del yodo en hojas de lechuga tratadas con complejos de NPsCS-I.
4. Evaluar el efecto de tolerancia a *Bremia lactucae* en plantas de lechuga tratadas con complejos de NPsCS-I.

HIPÓTESIS

La aplicación foliar de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo (NPsCS-I) permitirá que el cultivo de lechuga presente un efecto biofortificante por la acumulación de yodo en el órgano de consumo humano, así como una mejora en la calidad nutricional; así como un efecto bioestimulante que promoverá el crecimiento del cultivo de la lechuga.

El uso de nanopartículas de quitosán-yodo en la lechuga mejorará la tolerancia contra la infección por *Bremia lactucae*.

REVISIÓN DE LITERATURA

El yodo y su impacto en la salud

El yodo es un elemento que no produce el cuerpo humano, por lo que es un componente que debe obtenerse a través de la dieta. Al ser un elemento necesario para la producción de la hormona tiroidea, su deficiencia puede producir agrandamiento de la tiroides, hipotiroidismo y retardo mental en los infantes cuyas madres tuvieron deficiencia de yodo durante el embarazo (American Thyroid Association, 2024).

La deficiencia de yodo se diagnostica en poblaciones y no específicamente a nivel individual. La deficiencia de yodo se define como una concentración media de yodo en la orina por debajo de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ en una población. Por lo que, cuando se observa su deficiencia en una población entera, la mejor manera de tratarlo es asegurando que los alimentos comunes de consumo frecuente contengan suficientes niveles de yodo (American Thyroid Association, 2024).

Una solución a la deficiencia de yodo ha sido la introducción de la sal yodada, sin embargo, en muchas partes del mundo no se tiene suficiente yodo disponible en la dieta por lo que la deficiencia de este elemento continúa siendo un importante problema de salud pública globalmente. Aunado a esto, se considera que una ingesta diaria de yodo superior a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ es excesiva y puede ocasionar problemas de salud como el hipertiroidismo inducido por el yodo y la tiroides autoinmune (OMS, 2014).

El riesgo de insuficiencia de yodo, que aún afecta a cerca del 40% de la población mundial (American Thyroid Association, 2024), se manifiesta en los desórdenes por deficiencia de yodo (DDY), los cuales se originan cuando la ingesta y asimilación de yodo son insuficientes para la producción de tiroxina y triyodotironina por la glándula tiroidea (Lazarus , 2015).

El yodo ha demostrado poseer propiedades antioxidantes y antiproliferativas, lo que sugiere un papel relevante en la carcinogénesis y el tratamiento de diversas líneas celulares. Su capacidad para modular el estrés oxidativo y la proliferación

celular lo convierte en un agente de interés en la investigación oncológica (Venturi, 2017).

Yodo en la naturaleza

El yodo es un elemento ampliamente estudiado debido a su importancia metabólica en mamíferos. Su distribución irregular en la corteza terrestre ha ocasionado que muchas regiones del planeta presenten deficiencia de este elemento, acentuándose en áreas montañosas y llanuras (FAO, 2019).

El mar es el mayor reservorio de yodo, éste se moviliza hacia las zonas terrestres a través de formas químicas volátiles producidas por algas marinas o bien por aerosoles marinos que son arrastrados por el viento. Esto podría explicar porque los suelos alejados del océano generalmente están desabastecidos de yodo y por consiguiente las plantas que crecen o se cultivan en estos suelos tendrán baja concentración del elemento (Zimmermann, 2019).

La cantidad de yodo presente en el suelo varía considerablemente, oscilando entre menos de 0.1 y hasta 150 mg kg⁻¹. Esta amplia gama de concentraciones está fuertemente influenciada por la composición del material original del suelo, lo que resalta la importancia de considerar este factor al evaluar la disponibilidad de yodo para las plantas (White y Broadley, 2019).

En comparación con el yodo inorgánico, el yodo orgánico parece ser absorbido de manera más eficaz por las plantas que crecen en el suelo. El yodo inorgánico puede ser la forma dominante para el transporte de yodo en las plantas. Las trazas de yodo pueden actuar como un nutriente beneficioso, un antioxidante y un ingrediente activo antiestrés para promover el crecimiento de las plantas, mientras que el yodo excesivo puede causar estrés oxidativo en las plantas (Zhang *et al.*, 2023).

Disponibilidad y absorción del yodo

A diferencia de la mayoría de los elementos presentes en el suelo, que derivan principalmente del desgaste de la litosfera, el yodo exhibe un comportamiento geoquímico distintivo y único. Esta particularidad influye significativamente en su disponibilidad y distribución en el ambiente edáfico (Dai y Andersson, 2020).

La presencia de yodo en un suelo es una combinación del suministro de yodo y la capacidad del suelo para retenerlo, sin embargo, en suelos ricos en materia orgánica es más probable que el KI mantenga una mayor movilidad y disponibilidad para las plantas (Kiferle *et al.*, 2013).

En condiciones de campo, el yoduro del suelo es más susceptible a pérdidas por lixiviación, debido a su mayor solubilidad en comparación con la forma de yodato (Lawson *et al.*, 2016). La disponibilidad y absorción de yodo en el suelo se ve significativamente influenciada por la cantidad de materia orgánica presente, especialmente cuando el yodo se encuentra en su forma de yodato. La actividad microbiana en las sustancias húmicas desempeña un papel crucial en la retención del yodo, reduciendo su volatilización y, por ende, mejorando su disponibilidad para las plantas (Weng y Horwath, 2019).

La textura del suelo, específicamente el contenido de arcillas, muestra una relación inversa con la absorción de yodo por las plantas. Esto sugiere que suelos con mayor contenido de arcilla tienden a limitar la captación de yodo por los cultivos. Por otro lado, el pH del suelo, dentro de un rango de 5.4 a 7.6, no parece ejercer un efecto significativo en la absorción de yodo (White y Broadley, 2019).

Yodo en las plantas

La forma en que este elemento es acumulado en plantas terrestres es poco conocido, sin embargo, estudios recientes han demostrado que, tras la aplicación de yodo inorgánico u orgánico al sustrato, la mayor parte del yodo se acumula en las raíces, mientras que una fracción significativa se transloca a las partes aéreas y se almacena en los cloroplastos, contribuyendo a la función fotosintética y a la protección contra el estrés oxidativo (Weng y Hong, 2018). En otras especies como nabo y amaranto se encontró el yodo presente en las plantas y se

concentró en las raíces y el tallo después de la absorción inicial del suelo (Ligowe *et al.*, 2021).

Otros autores investigaron la absorción y acumulación de yodo en la porción comestible de vegetales como *Brassica napus* y *Brassica pekinensis* que se cultivaron en dos suelos diferentes: suelo arenoso y suelo franco limoso, con diferentes concentraciones de aplicación de yodo (usado en forma de yoduro de sodio) en dosis de 0 ppm, 50 ppm y 100 ppm. Las concentraciones de yodo en las raíces de BNP y BPK oscilaron entre 46 y 223.7 $\mu\text{g/g}$, lo que muestra una fuerte correlación con otros nutrientes del suelo (Faridullah *et al.*, 2023).

Al ser almacenado por los cloroplastos se pudiera explicar la inducción de tolerancia que tiene el yodo frente a algunos tipos de estrés, ya que gran parte del proceso antioxidante celular se encuentra en los cloroplastos (Leija-Martínez *et al.*, 2016).

Prevención de la deficiencia de yodo

En los últimos 80 años, se han hecho esfuerzos a nivel mundial para tratar de eliminar la deficiencia de yodo, siendo la eliminación de la deficiencia de yodo una de las metas principales de la Organización Mundial de la Salud. La sal yodada ha sido una de las soluciones principales a nivel mundial. Inyecciones de aceite yodado se han utilizado ocasionalmente en regiones del mundo donde no es posible el uso extensivo de la sal yodada. La yodación de los suministros de agua también ha sido efectiva en algunos otros lugares (OMS, 2014).

En Estados Unidos, el Instituto de Medicina ha establecido el Consumo Dietético Recomendado (RDA) de yodo en adultos en 150 $\mu\text{g día}^{-1}$. Para mujeres embarazadas es de 220 μg y 290 μg diarios para mujeres que están lactando. Debido a que los efectos de la deficiencia de yodo son más severos en mujeres embarazadas y sus bebés, la Asociación Americana de la Tiroides (ATA) ha recomendado que todas las mujeres embarazadas y lactando en los Estados Unidos y Canadá tomen multivitaminas prenatales diariamente que contengan 150 μg de yodo.

Biofortificación con yodo

Como se ha mencionado anteriormente, el yodo es vital para la salud humana y la biofortificación de cultivos con yodo podría ser una estrategia para aumentar los niveles de yodo en los alimentos derivados de plantas y, por lo tanto, mejorar la nutrición humana (Krzepilko *et al.*, 2019). Algunos autores reportan efectos positivos al aplicar sales de yodo en diversos cultivos (Halka *et al.*, 2020; Sabatino *et al.*, 2021).

La biofortificación con este elemento se ha llevado a cabo utilizando diversas fuentes, que incluyen algas marinas, yodo orgánico y sales de yodato y yoduro (Stasińska-Jakubas y Hawrylak-Nowak, 2022). En sus formas inorgánicas han sido ampliamente usados el yoduro de potasio (KI) y yodato de potasio (KIO₃). Investigaciones como las de Krzepilko *et al.*, (2019) y Gupta *et al.*, (2015) han profundizado en la eficacia de estas sales inorgánicas, proporcionando valiosa información sobre sus tasas de absorción, translocación y acumulación en diferentes especies vegetales.

La aplicación de yodo en forma de yodato ha sido utilizada para aumentar el nivel de proteínas en semillas de soya, además los resultados mostraron que el yodo en bajas concentraciones ayuda a la planta a desarrollar una extensa red de enzimas antioxidantes para combatir el efecto del estrés por cadmio (Gupta *et al.*, 2015).

Realizar aplicaciones de yoduro y yodato por medio de aspersión foliar, es una forma para evitar la complejidad de los fenómenos de absorción y transporte del yodo cuando este se aplica al suelo. En el trabajo de Lawson *et al.*, (2016), reportaron que las concentraciones de yodo en las partes comestibles de lechuga (*Lactuca sativa*) aumentaron cuando se aplicaron vía foliar soluciones de yoduro de potasio (KI) y yodato de potasio (KIO₃) a dosis de hasta 0.25 kg ha⁻¹ en diferentes fechas cercanas a la cosecha.

Algunos trabajos sugieren que algunas hortalizas de hoja como lechuga y espinaca son aptas para la biofortificación con yodo, así como en hortalizas de importancia comercial como el tomate, los resultados sugieren que la aplicación

de yodo influye en la capacidad antioxidante de una serie de plantas como la lechuga y el tomate (Kiferle *et al.*, 2020).

Aplicaciones de yoduro y yodato fueron aplicados en plantas de lechuga, los resultados de este estudio demuestran que la respuesta al estrés oxidativo es variable y depende de la forma de yodo aplicada. Al aplicar yoduro se produjo una reducción en la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) y un aumento en la actividad de las enzimas catalasa (CAT), la L-galactonolactona deshidrogenasa y en la actividad de compuestos antioxidantes como el ascorbato y el glutatión. Por su parte, la aplicación de yodato produjo un incremento en las actividades de SOD, ascorbato peroxidasa y CAT; también aumentó la concentración de ascorbato y las actividades regenerativas del ciclo Halliwell-Asad (Weng y Hong, 2018).

Las concentraciones de yodo en las partes comestibles de lechuga (*Lactuca sativa*) aumentaron cuando se aplicaron vía foliar soluciones de yoduro de potasio (KI) y yodato de potasio (KIO₃) a dosis de hasta 0.25 kg L ha⁻¹ en diferentes fechas cercanas a la cosecha (Lawson *et al.*, 2016).

Qitosán y su uso en la nanotecnología

El quitosán (CS) es un compuesto que gracias a sus propiedades fisicoquímicas es idóneo para ser utilizado en medicina, farmacia, protección del medio ambiente y principalmente en la agricultura (Stasinska-Jakubas y Hawrylak-Nowak, 2022). Además, el quitosán tiene diversas aplicaciones en el campo de la nanotecnología debido a su fácil y controlable extracción, biocompatibilidad, biodegradabilidad, no toxicidad, propiedades antifúngicas, fácil modificación química además de su capacidad para formar geles, películas y nanopartículas sólidas (Ashra *et al.*, 2019).

Los usos y potencial de la nanotecnología en la producción de cultivos agrícolas son enormes. Estos incluyen la mejora en la calidad y la seguridad de los alimentos, la reducción de los insumos agrícolas, el enriquecimiento de la absorción de nutrientes del suelo y el manejo de plagas de insectos a través de

las nuevas formulaciones de insecticidas basadas en nanomateriales (Sabry y Ragaei, 2018; Prasad *et al.*, 2017).

Los oligosacáridos derivados del quitosán se han descrito como elicitores que conducen a una variedad de respuestas de defensa en las plantas huésped contra infecciones microbianas, incluida la acumulación de fitoalexinas, proteínas relacionadas con la patogénesis e inhibidores de proteínasa, síntesis de lignina y formación de calosa (Mondéjar-López *et al.*, 2022).

Dávila-Rangel *et al.*, (2020) mostraron en su estudio la viabilidad del uso de complejos de quitosán-yodo, especialmente al utilizar KIO_3 , como una alternativa para biofortificar cultivos con yodo. En sus resultados encontraron que la aplicación única de CS- KIO_3 a 5 y 25 mg kg^{-1} al suelo aumentó la biomasa de la lechuga, mientras que la aplicación de una dosis dividida condujo a una disminución de la biomasa. Además, los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que la aplicación de CS- KIO_3 no solo incrementa la biomasa de la lechuga, sino que también podría contribuir a la retención del yodo en el suelo, minimizando las pérdidas por volatilización.

El quitosán en su forma de nanopartícula ha sido estudiado como encapsulante de aceite esencial de ajo, incrementando de esta manera su capacidad antifúngica (Mondéjar-López *et al.*, 2022). Además, el uso de yodo I con nanopartículas ha sido evaluado con nanopartículas de silicio en plantas de perejil (Golubkina *et al.*, 2021).

Se han evaluado los efectos del hidrogel de quitosán-alcohol polivinílico con nanopartículas de cobre absorbidas (CS-PVA-nCu) en la morfología de la hoja y el crecimiento de plantas de sandía. Mostrando una estimulación en el crecimiento de los tallos primarios, el sistema radicular y un aumento en el ancho de los estomas (González-Gómez *et al.*, 2017).

Cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.)

Es una hortaliza de hoja ampliamente consumida a nivel mundial, valorada por su consumo en fresco y su rico perfil nutricional, que incluye vitaminas A, C, E, B1, B2, B3 y B9, así como minerales esenciales como fósforo, hierro, calcio y

potasio. Además, es una fuente importante de antioxidantes y aminoácidos (Kim *et al.*, 2016; Yang y Kim, 2019).

En México, la lechuga es un cultivo de gran relevancia económica y social. Según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), en 2023, se cosecharon aproximadamente 22,843 ha de lechuga, con una producción total de 552,940 ton. Los principales estados productores son Guanajuato, Zacatecas y Puebla, que en conjunto representan una parte significativa de la producción nacional. La lechuga no solo contribuye a la seguridad alimentaria, sino que también genera empleo y divisas a través de la exportación, consolidándose como un cultivo estratégico para la agricultura mexicana.

Bremia lactucae

La lechuga es susceptible a diversas plagas y enfermedades que pueden comprometer su producción y calidad. Entre las plagas más comunes se encuentran los pulgones (*Nasonovia ribisnigri*, *Myzus persicae*), trips (*Thrips* spp.), gusanos cortadores (*Agrotis* spp.) y minadores de hojas (*Liriomyza* spp.). En cuanto a las enfermedades, destacan la podredumbre gris (*Botrytis cinerea*), la esclerotinia (*Sclerotinia sclerotiorum*) y el oídio (*Golovinomyces cichoracearum*) (Lebeda *et al.*, 2021).

Sin embargo, una de las enfermedades de la lechuga más extendida y destructiva en todo el mundo es el mildiu ocasionado por el hongo *Bremia lactucae* Regel. Este patógeno, altamente especializado y genéticamente variable, dificulta su control y causa pérdidas significativas en la producción, especialmente en condiciones de alta humedad y temperaturas moderadas. Los síntomas incluyen manchas foliares y crecimiento blanco y esponjoso en el envés de las hojas, afectando principalmente a las hojas más viejas y pudiendo causar su muerte. *B. lactucae* es un parásito obligado, lo que significa que puede crecer y reproducirse sólo en tejido vegetal vivo, es capaz de infectar a la lechuga en todas las etapas de crecimiento (Abada y Attia, 2017; Lebeda *et al.*, 2021).

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

La presente investigación se llevó a cabo en el Departamento de Horticultura en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila. El experimento se estableció en un invernadero tipo capilla con orientación sur-norte que se localiza en las coordenadas 25° 21' 21" latitud norte y 101° 02' 10" longitud oeste, a una altitud 1758 msnm durante los meses de febrero a septiembre de 2022.

La fase experimental se realizó en cuatro etapas: I) Síntesis de NPsCS y preparación de los complejos de NPsCS-I. II) Experimento de biofortificación. III) Experimento con inoculación del patógeno. IV) Análisis de variables agronómicas, bioquímicas y actividad enzimática. Estas etapas se describen a continuación.

Síntesis de NPsCS y preparación de los complejos NPsCS-I.

Para la síntesis de las nanopartículas se utilizó el método de gelificación ionotrópica reportado por Manikandan y Sathiyabama (2016). La cual se llevó a cabo en el Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA). Se utilizó quitosán de la marca Marine Chemicals (Marine, Hydrocolloids, Kerala, India). Se disolvió el quitosán ($M_v=200,000$ g/mol) al 0.5% (p/v) en ácido acético al 1% (v/v). La formación de las nanopartículas de quitosán se realizó por la adición de tripolifosfato (TPP), el cual se disolvió en agua a una concentración de 0.5 % (p/v). Para realizar la síntesis de 1 L de quitosán se agregaron 300 mL de TPP en las siguientes condiciones de reacción: Cs:TPP en una relación 10:3 (v/v) con un tiempo de reacción de 2 horas y agitación continua a 600 rpm. Posteriormente la suspensión se centrifugó a 8,500 rpm durante 15 minutos a una temperatura de 5°C. El precipitado se lavó dos veces para eliminar las sustancias sin reaccionar, centrifugándose 2 veces a 15,000 rpm durante 15 min a una temperatura de 5°C. Finalmente, el precipitado obtenido fue liofilizado.

Para preparar el complejo de nanopartículas con sales de yodo se realizó el procedimiento anterior agregando a la solución 240 mL de las sales de yoduro de

potasio (KI) y yodato de potasio (KIO_3), respectivamente. Este procedimiento se realizó inmediatamente después de añadir el TPP.

Para preparar las dispersiones de los complejos de NPsCS-I con una concentración de 25 mg de sales de yodo se tomó 1 g del complejo y para la concentración de 5 mg se tomaron 0.2 g. Posteriormente se dispersaron en el ultrasonido durante 3 minutos a una amplitud del 50% por tres veces. Adicionalmente, se prepararon las soluciones de sales de KI y KIO_3 .

El tamaño de las NPsCS fue de 140-440 nm y de los complejos NPsC-I con KI de 60-200 nm y con KIO_3 de 80-400 nm, presentando todas las nanopartículas una forma esférica.

Fase experimental biofortificación

Desarrollo del cultivo

El experimento se estableció en un invernadero tipo capilla del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio durante los meses de febrero a mayo de 2022. La temperatura promedio fue de 28°C y 50 a 60% de humedad relativa (se utilizó un monitor de temperatura y humedad de la marca Uplayteck). Se utilizaron semillas de lechuga de la variedad Great Lakes. Las semillas fueron sembradas en charolas de germinación. A los 30 días fueron trasplantadas a macetas de 10 L, utilizando una mezcla de peatmoss y perlita en proporción 1:1 (v/v) como sustrato, además se adicionó un 10% de vermiculita. La aportación de agua y fertilizantes se realizó mediante un sistema de riego por goteo. La nutrición fue provista a través de la solución Steiner (Steiner, 1961) de acuerdo con la etapa fenológica.

Aplicación de tratamientos

Durante el ciclo del cultivo se realizaron cuatro aplicaciones de manera foliar de los tratamientos (Tabla 1), siendo la primera aplicación al momento del trasplante y posteriormente cada 15 días.

Clave	Tratamiento
T0	Testigo absoluto
T1	NPsCS
T2	Yoduro de potasio 5 mg L ⁻¹
T3	Yoduro de potasio 25 mg L ⁻¹
T4	Complejo de NPsCS -I con 5 mg L ⁻¹ KI
T5	Complejo de NPsCS -I con 25 mg L ⁻¹ KI
T6	Yodato de potasio 5 mg L ⁻¹
T7	Yodato de potasio 25 mg L ⁻¹
T8	Complejo de NPsCS-I con 5 mg L ⁻¹ KIO ₃
T9	Complejo de NPsCS-I con 25 mg L ⁻¹ KIO ₃

Tabla 1. Tratamientos aplicados al cultivo de lechuga.

Donde: NPsCS-I (complejos de nanoquitosán-yodo); KI (yoduro de potasio) y KIO₃ (yodato de potasio).

Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar. Cada bloque consistió en 9 tratamientos y un testigo. La unidad experimental constó de seis plantas y se tuvieron en total tres bloques.

Análisis de datos

Los datos obtenidos para cada variable fueron sometidos al análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de medias de LSD Fisher ($p \leq 0.05$) con el software para análisis estadístico InfoStat (InfoStat Group, Córdoba, Argentina.).

III) Experimento con inoculación del patógeno

Desarrollo del cultivo

El experimento se estableció en un invernadero tipo capilla del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro durante los meses

de julio a septiembre de 2022. Las condiciones durante las cuales se desarrolló el cultivo fueron similares a la primera fase experimental.

Preparación del inóculo

El inóculo, se preparó mediante el lavado, con agua destilada, de hojas de lechuga afectadas por el hongo. Mediante este lavado se recolectaron las esporas del hongo (Parra *et al.*, 2015; Yañez *et al.*, 2012). Para ello se tomó material contaminado (tres lechugas), se picó y sumergió en un balde con cuatro litros de agua destilada durante un lapso de dos horas y posteriormente se realizó el conteo de esporas utilizando un microscopio óptico para determinar el número de esporas germinadas. Finalmente, al inóculo se agregaron cuatro gotas de Tween-20 por cada litro del preparado (Abdel-Maksoud y Farouk, 2017). En el caso de esta investigación el inóculo fue pulverizado sobre las plantas con ayuda de un atomizador inmediatamente después del conteo de esporas.

La inoculación artificial con *B. lactucae* se realizó a los 20 DDT, inoculando las hojas con 4.15×10^7 esporas/mL del hongo fitopatógeno siguiendo la metodología de Attia *et al.*, (1990). Se realizó una segunda inoculación con 3.2×10^7 esporas/mL 15 días después de la primera inoculación para asegurar la infección en el cultivo.

Aplicación de tratamientos

Durante el ciclo del cultivo se realizaron cinco aplicaciones de manera foliar de los tratamientos (Tabla 2), siendo la primera aplicación al momento del trasplante y posteriormente cada 15 días.

Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar. Cada bloque consistió en 9 tratamientos, un testigo absoluto y un testigo infectado. La unidad experimental constó de seis plantas y se tuvieron en total tres bloques.

Tabla 2. Tratamientos aplicados al cultivo de lechuga inoculado con *B. lactucae*.

Tratamiento	
T0	Testigo absoluto (sin patógeno)
T1	Testigo infectado (con patógeno)
T2	NPsCS (con patógeno)
T3	Yoduro de potasio 5 mg L ⁻¹ (con patógeno)
T4	Yoduro de potasio 25 mg L ⁻¹ (con patógeno)
T5	Complejo de NPsCS-I con 5 mg L ⁻¹ KI (con patógeno)
T6	Complejo de NPsCS-I con 25 mg L ⁻¹ KI (con patógeno)
T7	Yodato de potasio 5 mg L ⁻¹ (con patógeno)
T8	Yodato de potasio 25 mg L ⁻¹ (con patógeno)
T9	Complejo de NPsCS-I con 5 mg L ⁻¹ KIO ₃ (con patógeno)
T10	Complejo de NPsCS-I con 25 mg L ⁻¹ KIO ₃ (con patógeno)

Donde: NPsCS-I (complejos de nanoquitosán-yodo); KI (yoduro de potasio) y KIO₃ (yodato de potasio).

Análisis de datos

Los datos obtenidos para cada variable fueron sometidos al análisis de varianza y prueba de comparaciones múltiples de medias de LSD Fisher ($p \leq 0.05$) con el software para análisis estadístico InfoStat (InfoStat Group, Córdoba, Argentina.).

Análisis de variables agronómicas, bioquímicas y actividad enzimática

Variables agronómicas

Se determinaron variables agronómicas en ambas fases experimentales de dos plantas por bloque (un total de tres bloques) a los 30 y 60 días después del trasplante (DDT) tales como altura de planta y diámetro ecuatorial de la cabeza, las cuales se midieron con el uso de un flexómetro (cm). El rendimiento se registró pesando la cabeza de la lechuga en una balanza analítica. Para medir la biomasa seca aérea y radicular se recolectaron hojas de cada individuo, posteriormente el tejido se secó en una estufa de secado a una temperatura de 70 °C durante 3 días, se registró el peso (g planta⁻¹) con una balanza analítica.

Conductancia y densidad estomática

El análisis de densidad estomática fue realizado en ambas fases experimentales, mientras que la conductancia estomática fue evaluada únicamente en el experimento de patógenos que corresponde a la segunda fase experimental.

La conductancia estomática fue determinada utilizando un porómetro medidor de apertura estomática LEAF SC-1 de la marca Decagon Devices Inc., evaluando una hoja de dos individuos por bloque por tratamiento.

Para el estudio morfológico de la epidermis foliar se siguió la metodología usada por González *et al.*, (2017) utilizando la hoja más joven totalmente expandida con orientación hacia el oriente de tres plantas seleccionadas al azar de cada tratamiento, de las cuáles se tomaron impresiones estomáticas. Se colocó una película delgada de pegamento transparente para PVC con un pincel de aproximadamente 1 cm² sobre el envés y haz de las hojas, se esperó durante 15 minutos para que la película de pegamento secara. Las muestras se extrajeron con trozos de cinta adhesiva transparente los cuales se adhirieron posteriormente a un portaobjetos de vidrio y se procedió a observar en un microscopio y al localizar los estomas y células epidérmicas se tomaron fotografías. Las imágenes digitales fueron capturadas y posteriormente analizadas con el software de procesamiento de imágenes AxioVision rel. 4.8 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Alemania). En cada impresión foliar se realizaron conteos de estomas y células para determinar densidad estomática (SD), longitud (SL) y ancho (SW) de los estomas adaxial y abaxial.

La densidad estomática en unidades de estomas mm⁻² se calculó con la siguiente fórmula:

$$SD = \frac{\text{Número de estomas por cuadro}}{\text{Área del cuadro visualizado}}$$

Variables evaluadas relacionadas con el efecto de biofortificación

Recolección de muestras

Para realizar los análisis de contenido de yodo y los minerales, se tomó una muestra compuesta por el tejido seco de dos plantas (por bloque y por tratamiento). Para el resto de las variables bioquímicas, se colectaron muestras compuestas de dos individuos por unidad experimental, y fueron almacenadas en condiciones de congelamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y posteriormente fueron liofilizadas en el Centro de Investigación de Química Aplicada bajo condiciones de presión y temperatura de 0.420 mBar y $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ respectivamente, durante 24 horas. Las muestras fueron molidas y almacenadas para su posterior análisis en laboratorio.

Contenido de yodo

El contenido de yodo se determinó siguiendo la técnica de cenizas alcalinas (Fisher *et al.*, 1986) con un equipo de espectroscopía de emisión atómica de inducción por plasma (ICP-OES Agilent 725). Se pesaron 500 mg del tejido vegetal seco (cabeza de lechuga) previamente molido. La muestra se colocó en un crisol y posteriormente se agregaron 2 mL de KOH (2 M) y 1 mL de KNO_3 (2 M). En seguida la muestra en el crisol se llevó a predigestión en estufa a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 h en una campana con extractor. Posteriormente se colocaron las muestras a una temperatura de $580\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 h para que se llevará a cabo el resto de la digestión. Finalmente, las cenizas fueron pasadas a tubos cónicos para ser extraídas con 2 mL de KOH 2 M. La muestra fue centrifugada a 10,000 rpm por 15 minutos, una vez que se sedimentaron los sólidos, se tomó 1 mL del sobrenadante y se colocó en un matraz de aforación de 10 mL, aforando con la solución de KOH 2 M para su posterior análisis en el ICP-OES.

Contenido de minerales

El contenido de minerales se determinó mediante la digestión ácida de muestras de lechuga previamente secadas en estufa a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y molidas. De cada muestra se tomaron 0.5 g a los cuales se les agregaron 30 mL de ácido nítrico (HNO_3) y

se calentaron hasta punto de ebullición durante 5 h. Posteriormente se filtraron con papel filtro Whatman No. 42 y se aforó con H₂O desionizada a 50 mL. De cada muestra se realizó una dilución tomando 5 mL de la solución y aforando a 50 mL con H₂O desionizada. Ambas muestras fueron analizadas en el ICP para determinación del contenido de macro y micronutrientes.

Contenido de Fósforo

Para la determinación del contenido de fósforo se utilizó la muestra digerida para absorción atómica (en este caso la dilución), se tomó 1 mL de la muestra y se colocó en un tubo de ensayo, se agregaron 5 mL de una solución de molibdato de amonio y 2 mL de solución de ácido aminonaftolsufónico (ANSA), posteriormente se agitó y se dejó reposar por 20 minutos. Se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 650 nm. Con el dato obtenido se determinó la concentración del fósforo en base a la curva de calibración.

Contenido de Nitrógeno

Para la determinación del contenido de nitrógeno, se tomaron 50 mg de la muestra seca y molida previamente, y se colocó en un tubo digestor agregando 4 mL de la solución digestora, posteriormente se colocó en el digestor a una temperatura de 350°C dentro de una campana extractora, durante 5 horas hasta que la muestra tomó un color verde limón. La muestra se pasó al destilador Kjeldahl, haciéndose reaccionar con NaOH al 50% y se recibió el destilado en 30 mL de una solución de H₃BO₃ al 2% hasta que el volumen subió aproximadamente a 60 mL, éste destilado se tituló con H₂SO₄ 0.025N (observándose un cambio de coloración de verde a rosa). Para los cálculos se utilizó la siguiente fórmula

$$\%N = \frac{(ml \text{ gastados de } H_2SO_4 - ml \text{ gastados del blanco})(100)(.014)(N)}{\text{Peso de la muestra}}$$

Donde:

N= Normalidad del ácido sulfúrico

Vitamina C

El contenido de vitamina C se determinó por el método volumétrico (Horwitz, 2000), se pesaron 100 mg de muestra liofilizada y se colocaron en un mortero, después se le agregaron 10 mL de HCl al 2% y se molió por completo, a la mezcla se le agregaron 100 mL de agua destilada. La mezcla fue homogenizada con el mortero y filtrada, en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se midió el volumen exacto de la muestra y se tomaron 10 mL del filtrado. En una bureta volumétrica de 10 mL se colocó reactivo de Thielmann y se tituló hasta la aparición de una coloración rosa constante durante 30 segundos. Los resultados se expresaron en mg/100 g de peso fresco siguiendo la siguiente fórmula:

$$\text{Vitamina C} = \frac{\text{ml gastados de reactivo de Thielmann} * 0.088 * VT * 100}{VA * P}$$

Donde:

0.088= miligramos de ácido ascórbico equivalentes a ml de reactivo de Thielmann

VT= Volumen total del filtrado de vitamina C en HCl

VA= Volumen en mL de la alícuota valorada

P= Peso de la muestra en gramos

Fenoles totales

El contenido de compuestos fenólicos totales se realizó para ambas fases experimentales, se extrajo con una muestra de 100 mg de tejido liofilizado agregando 2 mL de la solución agua y acetona en una proporción 1:1 (Yu y Dahlgren, 2000). Posteriormente, se sometió a vórtex por 30 seg, y se sonicó durante 5 minutos, finalmente se sometió a centrifugación a 4 °C y 12,500 rpm durante 10 min. Una vez que se retiró el sobrenadante, se realizó la cuantificación colorimétricamente mediante el reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, Alemania). Se tomaron 50 µL del extracto y se agregaron 200 µL del reactivo Folin-Ciocalteu, se añadieron 500 µL Na₂CO₃ al 20% y se adicionaron 5 mL de

agua destilada, una vez hecha la mezcla fue sometida a vórtex, se colocó a 45 °C durante 30 min para que la reacción fuera efectuada y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm (Sultana *et al.*, 2009). La curva de calibración se trazó con ácido gálico a concentraciones de 50, 100, 200, 500, 750 y 1000 mg L⁻¹. Los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico g⁻¹ de tejido seco.

Pigmentos fotosintéticos

El contenido de clorofilas se determinó siguiendo el método descrito por Sumanta (2014), con algunas modificaciones midiendo Ch a: Clorofila a, Ch b: Clorofila b, C total: Clorofila total. En un tubo de ensayo, se agregaron 60 mg de tejido liofilizado y 5 mL de metanol puro, se incubó a temperatura ambiente en oscuridad por 24 h para la extracción completa de los pigmentos. Pasadas las 24 h, se procedió a hacer una dilución 1:15 (muestra: metanol) para medir la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.) a longitudes de onda de 666, 653 y 470 nm. La concentración de los pigmentos se expresó en miligramos por gramo de peso seco (mg g⁻¹ PS), usando las siguientes formulas:

$$Ch\ a = 15.65 * A_{666} - 7.34 * A_{653}$$

$$Ch\ b = 27.05 * A_{653} - A_{666}$$

$$Cl\ total = Cl\ a + Cl\ b$$

Variables evaluadas relacionadas con la tolerancia al estrés por patógenos en hojas

Recolección de muestras

Se determinó la actividad de las enzimas quitinasa, β-1,3 glucanasa y fenilalanina amonio liasa (PAL), así como la incidencia y severidad del patógeno. Las determinaciones en laboratorio se realizaron en hojas correspondientes a tres muestreos; el primer muestreo a las 24 h después de la tercera aplicación de los tratamientos, el segundo muestreo a las 24 h después de la cuarta aplicación y

el tercer muestreo 24 h después de la quinta aplicación de los tratamientos, el cual corresponde al final del ciclo del cultivo.

En cada muestreo, se colectaron muestras compuestas de dos individuos por unidad experimental y por tratamiento. Se utilizó nitrógeno líquido para congelar las muestras, posteriormente se almacenaron en un ultracongelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, y se liofilizaron en el Centro de Investigación de Química Aplicada bajo condiciones de presión y temperatura de 0.420 mBar y $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ respectivamente, durante 48 horas. Las muestras fueron molidas y almacenadas para su posterior análisis en el laboratorio.

Incidencia y severidad de *B. lactucae*

Se evaluó incidencia y severidad de la enfermedad de *B. lactucae* cada 10 días a partir de la inoculación. La incidencia de la enfermedad se determinó por presencia de plantas sanas y enfermas. La severidad de los síntomas de la enfermedad se midió utilizando una escala de 0-3 propuesta por Lebeda *et al.*, (2008).

Extracción de enzimas quitinasa y glucanasa

Se procedió a la extracción con una solución amortiguadora de acetato de sodio 0.1 mol L^{-1} pH 5.2 para la determinación de las actividades β - 1,3 glucanasa y quitinasa. Se tomaron 100 mg de la muestra liofilizada y se añadieron 2 mL de buffer. Posteriormente se agitó en vortex por 5 segundos, se llevó a sonicación durante 5 min, se centrifugo a 12,500 rpm durante 10 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. El sobrenadante se extrajo con jeringas y se filtró con filtro pirinola de 45 micras de diámetro de poro.

Actividad quitinasa

Para este ensayo se adicionaron 500 μL de solución amortiguadora de ácido cítrico 0.1 M y fosfato de sodio 0.1 M a pH 5.2 a 250 μL de extracto enzimático (dilución 1:1) y se le agregaron 250 μL de quitina coloidal 0.5%. Se incubaron las muestras a temperatura ambiente durante 20 minutos. La reacción se detuvo al

calentarla a ebullición por 5 minutos. Se determinó el incremento de azúcares reductores por la técnica de Miller (1959), agregando 1 mL de DNS, y se calentó durante 2 minutos, deteniendo la reacción con un baño de agua fría durante 5 minutos, posteriormente se agregaron 5 mL de agua destilada y se agito en vórtex por 30 segundos, se dejó reposar 5 minutos y se leyó en espectrofotómetro a una absorbancia de 540 nm. Los resultados se expresaron como la cantidad de N-acetilglucosamina liberada por minuto y por miligramo de proteína total en la muestra, con unidades de μg N-acetilglucosamina/min/mg proteína (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2006).

Actividad glucanasa

A 200 μL de sustrato laminarina 1 mg mL^{-1} se le agregaron 100 μL de solución amortiguadora de acetato de sodio 0.1 M a un pH de 5.2 y 100 μL de extracto enzimático, las muestras se incubaron a 40° C durante 30 minutos. La actividad enzimática se determinó por la medición del nivel de producción de azúcares reductores (Miller, 1959) agregando 1 mL de DNS, y se calentó durante 4 minutos, deteniendo la reacción en un baño de agua fría durante 5 minutos, posteriormente se agregaron 5 mL de agua destilada y se agitaron en un vórtex por 30 segundos, se dejó reposar 5 minutos y se leyó en espectrofotómetro a una absorbancia de 540 nm. La actividad enzimática se determinó midiendo la producción de glucosa. Los resultados se expresaron como la cantidad de glucosa liberada por minuto y por miligramo de proteína total en la muestra, con unidades de μg glucosa/min/mg proteína (Rodríguez-Pedroso, *et al.*, 2006).

Actividad fenilalanina amonio liasa (PAL)

El extracto enzimático para esta determinación se obtuvo añadiendo 1.5 mL de buffer de fosfatos 0.1 M y pH 7.2 a 100 mg de muestra liofilizada, se sonicó por 10 min, posteriormente se sometió a centrifugación a 12,000 rpm por 10 min a 4°C, el sobrenadante se recolectó y se filtró en membrana de nylon de 0.45 μm de diámetro de poro (Ramos *et al.*, 2010).

La actividad de la enzima PAL se determinó siguiendo la metodología de Sykłowska-Baranek *et al.*, (2015), con algunas modificaciones. En un tubo de ensayo se colocaron 100 μL del extracto (dilución 1:1 con el buffer de fosfatos) 900 μL de L-fenilalanina 6 mM. Se incubó a 40 °C por 30 minutos, la reacción se detuvo agregando 250 μL de HCl al 5 N. Se colocaron en baño de hielo y se les agregaron 5 mL de agua destilada. Finalmente, se determinó la absorbancia a 290 nm en un espectrofotómetro UV-Vis con una celda de cuarzo. Las lecturas de las diferentes muestras se sustituyeron en la ecuación obtenida de la curva de calibración del ácido transcinámico (100 ppm).

Los resultados se expresaron como Unidades (U), siguiendo la siguiente fórmula:

$$PAL = \frac{V_o \mu M \left(\frac{6.25 (ml)}{0.1 (ml)} \right) \left(\frac{1}{t} \right)}{\text{Proteínas totales} \frac{g}{kg}} = U$$

U que equivalen a la producción de μM de ácido transcinámico por minuto por proteínas totales (g kg^{-1}), donde:

$$U = \frac{\mu M * min}{\frac{mg}{g}}$$

Proteínas totales

La cuantificación de proteínas se determinó mediante la técnica colorimétrica de Bradford (1976), se tomaron 0.1 mL del extracto enzimático y se agregó 1 mL del reactivo Bradford. Se dejó reposar durante 5 minutos y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Modelo G10S, Waltham, MA, EE. UU.). Se realizó una curva de calibración con albúmina de suero bovino estándar (0.005-0.5 mg mL^{-1}). Los resultados se expresaron como g kg^{-1} de proteínas totales en peso seco.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento de biofortificación

Variables agronómicas

La aplicación de los complejos de NPsCS-I a los 60 DDT en el cultivo de lechuga tuvo un efecto significativo en las variables agronómicas evaluadas de altura de planta y rendimiento (ANOVA, Fisher $p \leq 0.05$) (Tabla 3). En las variables de diámetro ecuatorial y biomasa seca aérea y radicular, no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

El mayor rendimiento del cultivo ($940.5 \text{ g planta}^{-1}$) se encontró con la aplicación del complejo de NPsCS-KIO₃ en una dosis de 5 mg L^{-1} , lo cual representa un incremento del 30.8% con respecto al testigo. Mientras que la aplicación de KI en una dosis de 25 mg L^{-1} mostró una disminución en la altura de planta del 14.4% con respecto al testigo, esto se ha observado en especies como la albahaca donde altos niveles de I en la solución nutritiva han provocado una marcada reducción de la expansión de la hoja y en la actividad fotosintética, lo cual fue atribuido a una gran acumulación de este elemento en los tejidos foliares (Incrocci *et al.*, 2019).

La aplicación de los complejos de NPsCS con sales de KI y KIO₃ no tuvieron un efecto significativo sobre la altura de las plantas en ninguna dosis aplicada, sin embargo, en otros estudios, formulaciones de NPsCS mostraron actividades prometedoras al promover la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas en trigo, tomate y otras especies de plantas (Chun y Chandrasekaran 2019; Li *et al.*, 2019).

En estudios similares, Dávila-Rangel *et al.*, (2020) mostraron en su estudio la viabilidad del uso de complejos de Cs-I, especialmente al utilizar KIO₃, como una alternativa para biofortificar cultivos con yodo. En sus resultados encontraron que con una sola aplicación CS-KIO₃ a $5 \text{ y } 25 \text{ mg kg}^{-1}$ al suelo aumentó la biomasa de la lechuga, mientras que la aplicación de una dosis dividida condujo a una disminución de la biomasa. Además, observaron un incremento en el diámetro polar al aplicar KI en una dosis de 25 mg kg^{-1} .

En el estudio de Voogt *et al.*, (2020) se investigó el efecto de la aplicación de yodo en el crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) en un sistema hidropónico. Los autores observaron un aumento del 11.5 % en el crecimiento vegetativo de las plantas tratadas con yodo en comparación con el grupo control. Este aumento se manifestó en diversas variables, incluyendo la altura de la planta, biomasa, número de hojas y área foliar.

Estudios indican que un factor importante en las respuestas a la aplicación de yodo es la forma de aplicación. La aplicación foliar de NPsCS mejoró el crecimiento, el rendimiento y el contenido mineral en *Panicum miliaceum* L. (Sathiyabama y Manikandan, 2021).

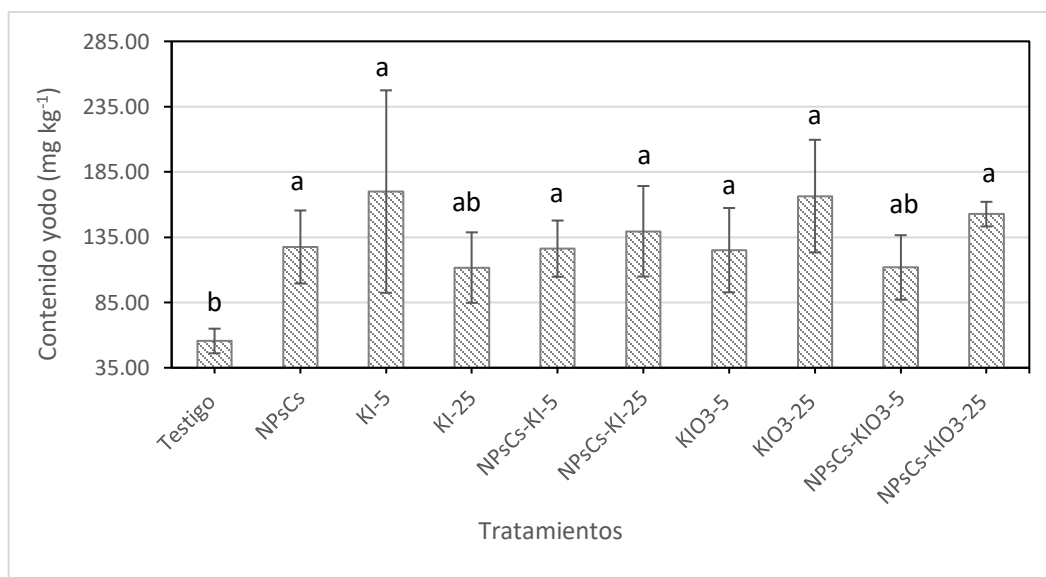
Tabla 3. Efecto de la aplicación de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre las variables agronómicas de lechuga a los 60 DDT

Tratamientos	Altura de planta (cm planta ⁻¹)	Diámetro ecuatorial (cm planta ⁻¹)	Rendimiento (g planta ⁻¹)	Biomasa seca aérea (g planta ⁻¹)	Biomasa seca de raíz (g planta ⁻¹)
Testigo					
absoluto	35.4 a	15.8 a	719 b	27.7 a	2.4 a
NPsCS	32.4 ab	16.3 a	783 ab	29.5 a	2.4 a
KI-5	32.2 ab	18.1 a	803.7 ab	27.6 a	2.6 a
KI-25	30.3 b	16.9 a	773.7 ab	25.1 a	1.7 a
NPsCS-KI-5	31.1 ab	16.9 a	773.6 ab	27.6 a	2.4 a
NPsCS-KI-25	34.9 ab	16.7 a	778.4 ab	27.8 a	2.1 a
KIO ₃ -5	33.9 ab	16.1 a	686.1 b	26.2 a	2.2 a
KIO ₃ -25	32.5 ab	16.7 a	703 b	27.2 a	2.2 a
NPsCS-KIO ₃ -5	32.6 ab	17.9 a	940.5 a	26.8 a	2.3 a
NPsCS-KIO ₃ -25	31.1 ab	16.0 a	869.4 ab	26.2 a	1.9 a

Donde NPsCS: nanoquitosán, KI: yoduro de potasio y KIO₃: yodato de potasio. Letras distintas en columnas representan diferencias significativas entre tratamientos (Fisher, $p \leq 0.05$).

Biofortificación con yodo

En cuanto al contenido de yodo, en el análisis de varianza se observó un efecto significativo entre tratamientos (ANOVA, Fisher $p \leq 0.05$) (Figura 1). En la comparación de medias se observó que la aplicación de complejos de NPsCS con sales de KI en una dosis de 5 mg L^{-1} incrementó el contenido de yodo en un 127.4 % con respecto al testigo absoluto, al aumentar la dosis a 25 mg L^{-1} se obtuvo un incremento del 151.3 %. En cuanto a la aplicación de complejos de NPsCS con sales KIO_3 , el tratamiento con la dosis menor no presentó diferencias significativas, mientras que en la dosis alta (25 mg L^{-1}) se encontró un aumento del 175 %.



Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos (Fisher, $p \leq 0.05$). Las líneas sobre las barras indican la desviación estándar.

Figura 1. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre el contenido de yodo en plantas de lechuga.

Dávila-Rangel *et al.*, (2020) mostraron en su estudio la viabilidad del uso de complejos de quitosán-yodo, especialmente al utilizar KIO_3 , como una alternativa para biofortificar cultivos con yodo. En sus resultados encontraron que la máxima acumulación de yodo en lechuga se observó después de la aplicación en dos partes de CS- KIO_3 en una dosis de 25 mg kg^{-1} .

El efecto benéfico de la biofortificación con yodo puede relacionarse con la incorporación de este elemento en las proteínas vegetales, afectando así el crecimiento y desarrollo de las plantas (Kiferle *et al.*, 2021).

En los resultados arrojados por su investigación, Sady *et al.*, (2018) reportaron que después del período de maduración el contenido de yodo en la parte comestible (tallo y hoja) de la lechuga alcanzó los 26.90 mg kg⁻¹, y el contenido de yodo en la raíz de la lechuga alcanzó los 11.30 mg kg⁻¹. El uso combinado de KIO₃ y ácido salicílico aumenta el grado de acumulación de yodo en lechuga en un 28.2 % (m/m).

Las concentraciones de yodo en las partes comestibles de lechuga (*Lactuca sativa*) aumentaron cuando se aplicaron vía foliar soluciones de yoduro de potasio (KI) y yodato de potasio (KIO₃) a dosis de hasta 0.25 kg yodo ha⁻¹ en diferentes fechas cercanas a la cosecha (Lawson *et al.*, 2016). En otro estudio, las concentraciones de yodo en las hojas de las plantas de espinaca tratadas con yoduro fueron mucho más altas que las tratadas con yodato. Las concentraciones de yodo en las hojas fueron generalmente más altas que en las raíces (Zhu *et al.*, 2003).

En cuanto a la distribución del yodo en la planta, se encontró que, en especies sometidas a cosechas repetidas, como *B. napus* y *A. retroflexus*, el yodo presente en la planta se concentra en las raíces y el tallo después de la absorción inicial del suelo. La biofortificación de vegetales verdes que están sujetos a múltiples cosechas requiere aplicaciones repetidas (Ligowe *et al.*, 2021).

Contenido de minerales

El análisis de medias Fisher ($p > 0.05$) se muestra en la Tabla 4. Con respecto a los macronutrientes, se observaron diferencias significativas en el contenido de calcio y magnesio. La aplicación de KIO₃ en una concentración de 5 mg L⁻¹ mostró un aumento del contenido de calcio en un 87.1% con respecto al testigo. En el caso del magnesio, la aplicación de esta forma de yoduro mostró una disminución del 52.8% con respecto al tratamiento donde se aplicaron las nanopartículas (para esta sal y en esa misma dosis). Se observó una disminución en los

tratamientos donde fueron aplicadas las NPsCS con KI, del 41.6% para la dosis de 5 mg L⁻¹ y del 30.7% para la dosis de 25 mg L⁻¹, esto fue con respecto a al tratamiento dónde se aplicó KIO₃ en una concentración de 5 mg L⁻¹.

Tabla 4. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo en el contenido de minerales en hojas de lechuga

Tratamiento	Macronutrientes					
	K (%)	P (%)	N (%)	Na (%)	Mg (%)	Ca (%)
Testigo	4.39 a	0.45 a	4.37 a	0.29 a	0.22 ab	0.60 b
NPsCS	5.86 a	0.65 a	5.0 a	0.32 a	0.18 ab	0.73 b
KI-5	5.39 a	0.67 a	4.03 a	0.31 a	0.21 ab	0.72 b
KI-25	5.25 a	0.51 a	4.93 a	0.29 a	0.18 ab	0.70 b
NPsCS-KI-5	4.49 a	0.49 a	4.57 a	0.26 a	0.16 b	0.59 b
NPsCS-KI-25	4.35 a	0.50 a	4.30 a	0.28 a	0.19 b	0.64 b
KIO ₃ -5	5.86 a	0.40 a	4.40 a	0.43 a	0.27 a	1.13 a
KIO ₃ -25	5.43 a	0.51 a	4.33 a	0.31 a	0.19 ab	0.70 b
NPsCS-KIO ₃ -5	4.61 a	0.54 a	4.67 a	0.25 a	0.13 b	0.65 b
NPsCS-KIO ₃ -25	4.87 a	0.49 a	4.17 a	0.29 a	0.22 ab	0.65 b

Tratamiento	Micronutrientes			
	Fe (µg/g)	Cu (µg/g)	Zn (µg/g)	Mn (µg/g)
Testigo	48.2 a	69.9 ab	3.8 a	44.6 b
NPsCS	62.9 a	84.1 a	7.4 a	47.1 b
KI-5	51.7 a	74.3 ab	4.2 a	41.3 b
KI-25	55.6 a	70.8 b	3.2 a	38.6 b
NPsCS-KI-5	54.7 a	67.9 ab	4.6 a	39.1 b
NPsCS-KI-25	66.5 a	79.4 b	3.4 a	41.5 b
KIO ₃ -5	116.4 a	112.1 ab	6.5 a	39.5 a
KIO ₃ -25	57.5 a	84.3 ab	4.1 a	46.3 b
NPsCS-KIO ₃ -5	79.7 a	76.0 ab	4.5 a	43.1 ab
NPsCS-KIO ₃ -25	58.1 a	81.8 ab	6.2 a	45.0 b

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (Fisher, $p > 0.05$).

El yodo interactúa con otros componentes químicos del sistema, como compuestos orgánicos e iones metálicos (Fe, Cu, Mn, V), modificando el estado de oxidación y la biodisponibilidad. Estos componentes a su vez dan lugar a cambios en la forma química, biodisponibilidad y tasa de volatilización del yodo en la biomasa, el agua y el suelo, así como posibles cambios en la biodisponibilidad de otros elementos (Terzano *et al.*, 2015). Se ha encontrado una correlación positiva entre la aplicación de yodo y la acumulación de manganeso (Mn) en la lechuga, mientras que no se observó una correlación significativa con la acumulación de cobre (Cu) (Kiferle *et al.*, 2020).

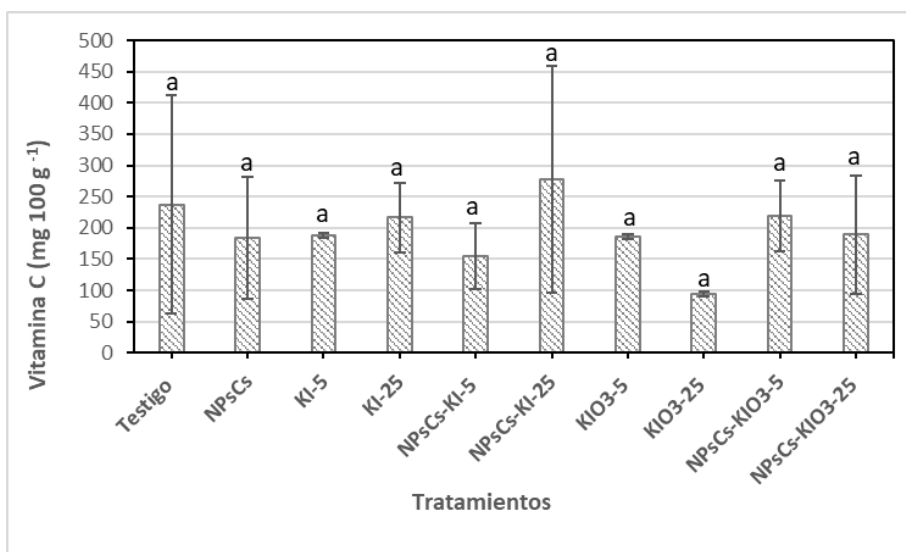
Smoleń *et al.*, (2023) aplicaron KIO_3 y una aplicación simultánea de KIO_3 y ácido salicílico (SA) en lechuga resultando en un contenido más alto de iones de amonio y nitrato (V) en las hojas de lechuga y N-total en hojas y raíces. La aplicación simultánea de KIO_3 +SA aumentó el contenido de nitrato (V) tanto en las hojas como en las raíces, junto con la mayor acumulación de nitratos en las hojas, así como la acumulación de Mg, K, Ca y Mn en hojas y raíces contenido de Fe.

Smolén *et al.*, (2014) observaron una mayor eficiencia de la biofortificación con yodo y selenio en plantas de lechuga hidropónica después de la aplicación foliar de los compuestos probados en lugar de su introducción en el medio nutritivo. La aspersión foliar con IO_3^- y SeO_4^{2-} no afectó la absorción de yodo y selenio por las raíces presentes en el medio nutritivo. La aplicación foliar de yodo junto con selenio mejoró la absorción de SeO_4^{2-} por las hojas en comparación con las plantas rociadas solamente con Se. Los resultados obtenidos pueden sugerir indirectamente que el transporte de yodo y selenio en las plantas puede ocurrir desde las hojas hasta las raíces a través del floema.

Las concentraciones de yodo en las raíces de *Brassica napus* y *Brassica pekinensis* oscilaron entre 46 y 223.7 $\mu\text{g g}^{-1}$, lo que muestra una fuerte correlación con otros nutrientes del suelo. Además, se perdió una gran cantidad de yodo debido a la lixiviación (Faridullah *et al.*, 2023).

Vitamina C

El mayor contenido de vitamina C ($277.20 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) fue encontrado al aplicar las NPsCS-KI en una dosis de 25 mg L^{-1} , sin embargo, los resultados obtenidos en la comparación de medias indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos (ANOVA, Fisher ≤ 0.05) (Figura 2). En lechuga bajo cultivo hidropónico se encontró que el yodo en dosis de $80 \mu\text{g}$ indujo mayor ácido L-ascórbico (vitamina C), aumentando de esta manera la biofortificación del cultivo (Blasco *et al.*, 2008).



Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos (Fisher, $p \leq 0.05$). Las líneas sobre las barras indican la desviación estándar.

Figura 2. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre el contenido de vitamina C en lechuga.

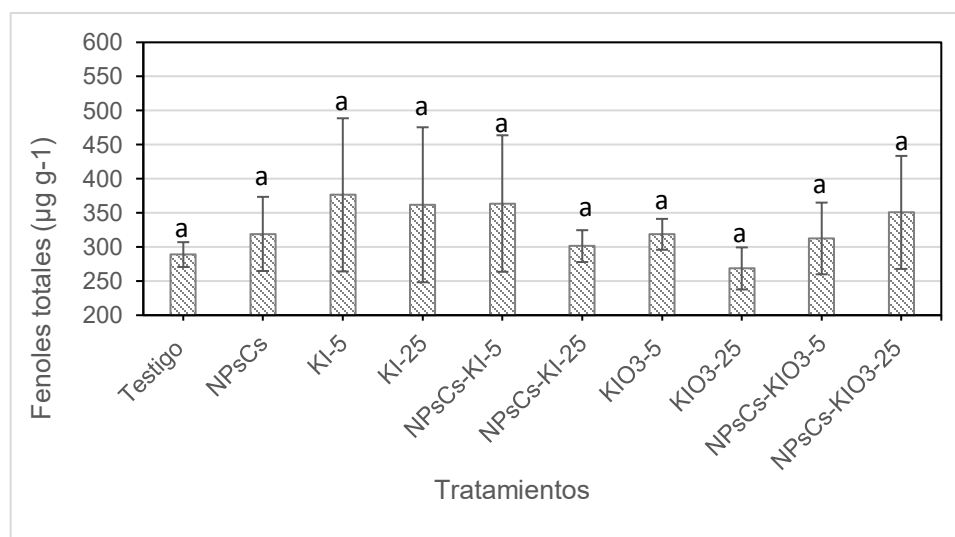
La lechuga tiene un gran contenido de nutrientes como la vitamina C y son ricas en antioxidantes y aminoácidos. Aplicaciones de yodo han mostrado efectos diversos sobre el aumento en el crecimiento y en la capacidad antioxidante en varias especies; dicha capacidad antioxidante varía dependiendo de las fuentes, la concentración y el tipo de aplicación (Halka *et al.*, 2020; Sabatino *et al.*, 2021).

Zhang *et al.*, (2023), concluyeron que las trazas de yodo pueden actuar como un nutriente benéfico. para promover el crecimiento de las plantas, mientras que el yodo excesivo puede causar estrés oxidativo en las plantas.

Smoleń *et al.*, (2019) realizaron un estudio en invernadero para evaluar los efectos de la aplicación de I (como KIO_3), Se (como Na_2SeO_3) y ácido salicílico (SA) en soluciones nutritivas sobre la composición química de seis cultivares de lechuga. En sus resultados, se observó un aumento en el contenido de ácido ascórbico en dos cultivares de lechuga.

Fenoles totales

Los resultados del análisis de varianza para el contenido de compuestos fenólicos totales se muestran en la Figura 3, estos resultados indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos (ANOVA, Fisher $p \leq 0.05$).



Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos (Fisher, $p \leq 0.05$). Las líneas sobre las barras indican la desviación estándar

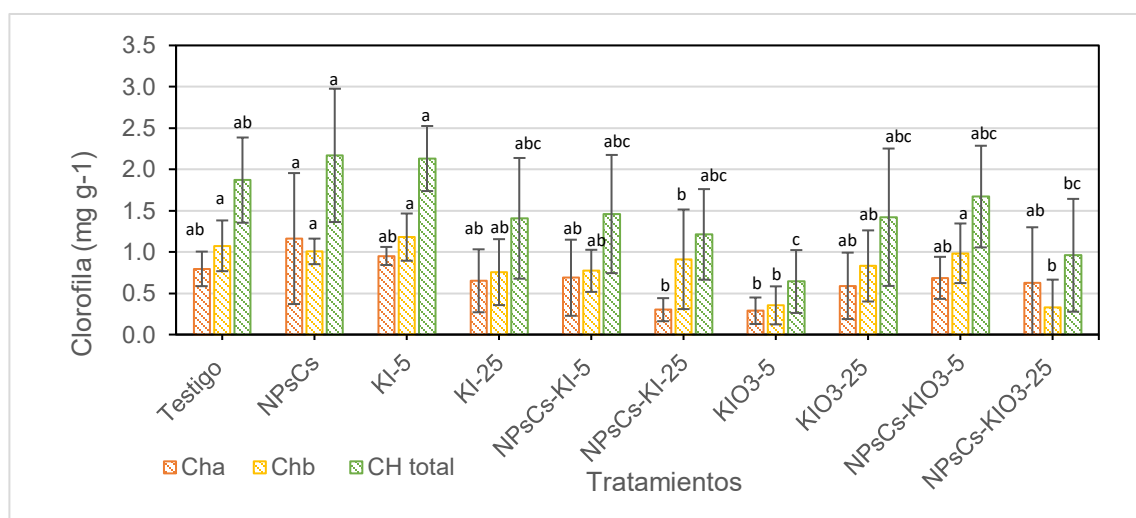
Figura 3. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre el contenido de fenoles totales en lechuga.

Se ha estudiado el efecto del yodo en la calidad nutricional y la actividad antioxidante de la lechuga. Kiferle *et al.*, (2020) encontraron que la aplicación foliar de yoduro de potasio (KI) a una concentración de 10 mg L^{-1} indujo un aumento del 20 % en la concentración de fenoles totales y un aumento del 15 % en la actividad antioxidante en las hojas de lechuga.

Incrocci *et al.*, (2019) reportan que la aplicación de yodo incrementó los fenoles totales en hojas de albahaca y en lechuga, ésta última sometida a estrés salino. Contrario a lo anterior, Rodríguez-Salinas *et al.*, (2022) reportaron que la presencia de yodo en situación salina redujo los fenoles totales en 9% en higuera. Gonzali *et al.*, (2017) reportan que el efecto de la aplicación de yodo provocó la activación de enzimas antioxidantes, así como el sistema antioxidante no enzimático en el que se encuentran los compuestos fenólicos, con el fin de mantener las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), como el O_2 y H_2O_2 en niveles mínimo.

Pigmentos fotosintéticos

La aplicación de NPsCS con sales de KI en una concentración de 25 mg L^{-1} mostró una disminución del contenido de clorofila b en un 15.2 % en comparación con el testigo, mientras que al aplicar NPsCS con sales de KIO_3 en la misma concentración, mostró una disminución del 69.1 % (Figura 4).



Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos (Fisher, $p \leq 0.05$). Las líneas sobre las barras indican la desviación estándar.

Figura 4. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre el contenido de clorofilas en hojas de lechuga.

Las hortalizas de hoja verde contienen diversos tipos de pigmentos dentro de los cuales destacan las clorofilas (Chl) del tipo a y b (Sangeetha y Baskaran, 2010) las cuales se asocian a la capacidad evitar el estrés oxidativo ante la presencia de radicales libres (Clark y Lee, 2016).

La aplicación de yodo en plántulas de higuera incrementó la concentración de clorofila a, independiente del cultivar y la concentración de NaCl. La presencia de yodo en situación salina redujo los fenoles totales en 9 % en higuera (Rodríguez-Salinas, 2022).

Diversos autores han reportado que aplicaciones de yodo aumentan la capacidad antioxidante de los tejidos de las plantas. Kiferle *et al.*, (2019), mencionan que el yodo incrementó los fenoles totales en hojas de albahaca. De manera similar, Gonella *et al.*, (2019) reportaron un aumento en la concentración de antioxidantes en lechuga con la aplicación de yodo. Estos resultados sugieren que el yodo puede modular la síntesis de compuestos antioxidantes, que son importantes para proteger a las plantas del estrés oxidativo. Sin embargo, es importante considerar que el contenido de pigmentos y antioxidantes en la lechuga puede variar significativamente según la variedad, el estado de madurez y los métodos analíticos empleados (Moreno-Pérez *et al.*, 2021).

Densidad estomática

El análisis de medias Fisher ($p > 0.05$) se muestra en la Tabla 5. En el haz de las hojas, la aplicación de NPsCS-KIO₃ en una concentración de 5 mg L⁻¹ mostró diferencias significativas en comparación con el testigo, encontrando una disminución del 27.54 % para la variable de densidad estomática. Por otro lado, la aplicación de KIO₃ en una concentración de 25 mg L⁻¹ mostró una disminución de la densidad estomática en un 29.26 %, en comparación con el testigo. En el envés de las hojas, no se encontraron diferencias significativas en los tratamientos en comparación con el testigo.

En cuanto al largo de los estomas ubicados en el haz de las hojas, la aplicación de KI en las concentraciones de 5 y 25 mg L⁻¹ mostraron incrementos del 12.55 y 13.27 % respectivamente, en comparación con el testigo. Mientras que, en el

envés, se encontró un incremento del 15.92 % con la aplicación de NPsCS con respecto al testigo para esta misma variable.

Tabla 5. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo en la morfología y densidad estomática (DS) de hojas de lechuga.

Tratamiento	Haz			Envés		
	Ancho (μm)	Largo (μm)	DS (estomas/ mm^{-2})	Ancho (μm)	Largo (μm)	DS (estomas/ mm^{-2})
Testigo	20.02 ab	29.24 b	88.34 a	20.56 a	29.98 bcd	56.03 abc
NPsCS	19.71 ab	30.90 ab	60.75 b	22.19 a	34.75 a	52.83 abc
KI-5	20.77 a	32.91 a	79.58 ab	21.22 a	32.36 abc	42.05 c
KI-25	20.18 ab	33.12 a	58.87 b	19.69 ab	31.85 abcd	70.13 a
NPsCS-KI-5	20.57 ab	30.30 ab	79.45 ab	20.65 a	30.30 bcd	64.25 ab
NPsCS-KI-25	20.38 ab	30.56 ab	74.87 ab	20.06 ab	28.98 d	59.17 abc
KIO ₃ -5	19.81 ab	29.41 b	79.68 ab	21.15 a	32.01 abcd	51.54 abc
KIO ₃ -25	19.26 b	29.71 b	62.49 b	17.41 b	29.26 cd	60.79 abc
NPsCS-KIO ₃ -5	19.51 ab	30.65 ab	64.01 b	20.10 ab	32.49 ab	48.26 bc
NPsCS-KIO ₃ -25	20.41 ab	30.72 ab	74.89 ab	19.91 ab	29.91 bcd	60.70 abc

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (Fisher, $p > 0.05$).

La densidad estomática es un factor crucial que influye en la transpiración y el intercambio gaseoso de las plantas, y su modulación puede tener un impacto significativo en la respuesta de las plantas al estrés. Estudios recientes han demostrado que el yodo puede inducir el cierre de estomas en respuesta al estrés oxidativo, lo que sugiere un papel del yodo en la protección de las plantas contra la pérdida excesiva de agua (Weng y Hong, 2018).

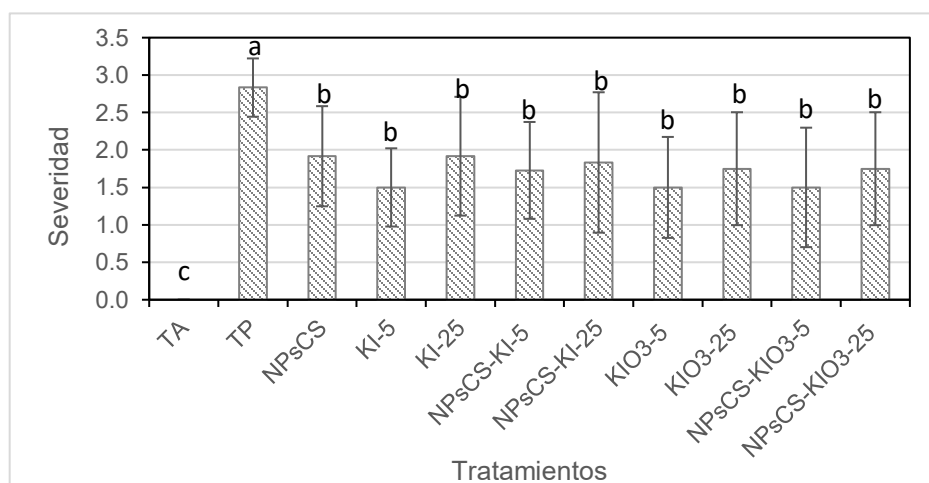
Adicionalmente, se ha observado que la aplicación de yodo puede aumentar la densidad estomática en algunas especies, lo que podría mejorar la eficiencia fotosintética y el crecimiento de las plantas (Voog *et. al.*, 2020). En cuanto a la

morfología de los estomas, estudios recientes han demostrado que el yodo puede afectar el tamaño y la forma de los estomas (Kiferle *et al.*, 2020).

Experimento con inoculación del patógeno

Incidencia y severidad de *B. lactucae*

La aplicación foliar de 5 mg L⁻¹ del complejo de NPsCS con KIO₃ tuvo un mayor efecto en la severidad del ataque de *B. lactucae* encontrándose una reducción en la severidad del 47.1% con respecto al testigo con patógeno. Se observó que al aumentar la dosis a 25 mg L⁻¹ la severidad del patógeno se redujo en un 38.2%. Mientras que, con la aplicación del complejo de NPsCS con KI se encontró una disminución en la severidad del 39% y 35.3% para las dosis de 5 y 25 mg L⁻¹ respectivamente (Figura 5).



Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos (Fisher, $p \leq 0.05$). Las líneas sobre las barras indican la desviación estándar.

Figura 5. Severidad de *B. lactucae* en plantas de lechuga tratadas con nanopartículas de quitosán-yodo a los 60 DDT

Las plantas de lechuga que fueron tratadas con la aplicación foliar de 5 mg L⁻¹ del complejo de NPsCS con KI mostraron un mayor efecto en la incidencia de *B. Lactucae* a los 30 DDT. Encontrando un 27.8% de incidencia del patógeno, lo cual representa un 50% de disminución en comparación con el testigo patógeno.

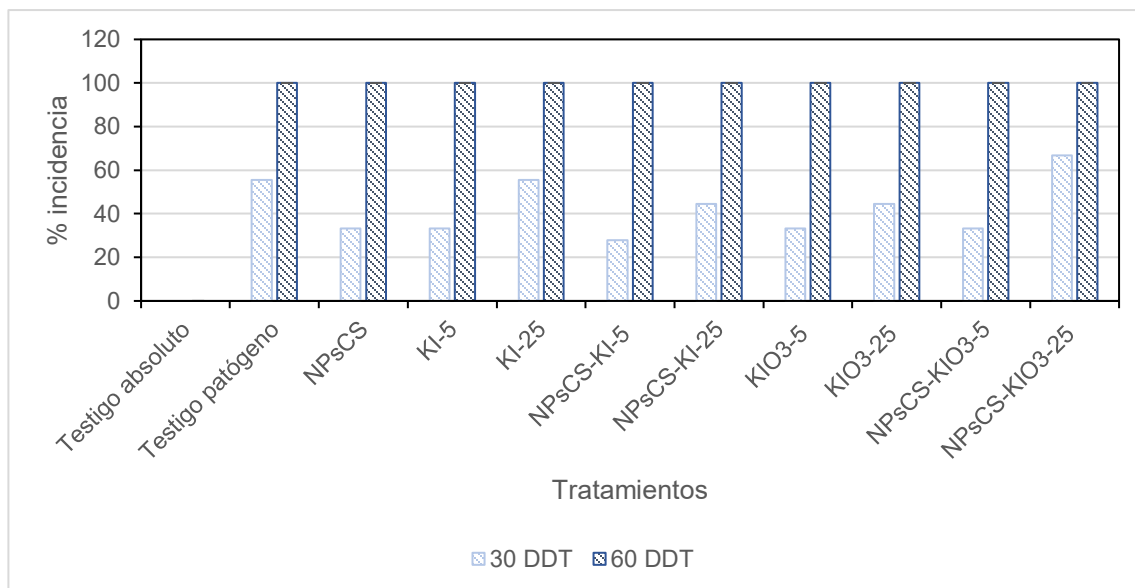


Figura 6. Incidencia de *B. lactucae* en plantas de lechuga tratadas con complejos de nanopartículas de quitosán-yodo a los 30 y 60 DDT.

Abada y Attia (2017) en su investigación probaron productos químicos de resistencia inductora; así como quitosán, ácido salicílico y bioagentes aislados, los cuales dieron como resultado una reducción significativa de las conidias germinadas del hongo causal en comparación con el tratamiento de control. Encontrando que *B. lactucae* prefiere bajas temperaturas (10–15°C) y mayor humedad relativa (95–100%) para el proceso de esporulación e infección.

Variables agronómicas

Al finalizar el ciclo de cultivo (60 DDT), no se encontraron diferencias significativas (ANOVA, Fisher ≤ 0.05) en las variables de altura, diámetro ecuatorial, rendimiento y biomasa seca en los tratamientos comparados con el testigo absoluto y el testigo patógeno (Tabla 6).

Tabla 6. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre las variables agronómicas en lechuga infectada por *B. lactucae* a los 60 DDT.

Tratamiento	Altura (cm planta ⁻¹)	Diámetro ecuatorial (cm planta ⁻¹)	Rendimiento (g planta ⁻¹)	Peso seco aéreo (g planta ⁻¹)	Peso seco de raíz (g planta ⁻¹)
TA	34.06 ab	20.18 a	882.18 ab	34.52 a	8.30 a
TP	32.72 ab	18.85 a	792.53 ab	26.65 a	7.44 a
NPsCS	34.25 ab	17.30 a	859.07 ab	26.37 a	7.97 a
KI-5	35.95 ab	20.35 a	874.62 ab	27.12 a	8.12 a
KI-25	35.17 ab	19.13 a	513.43 c	26.97 a	8.79 a
NPsCS-KI-5	33.92 ab	16.68 a	755.10 ab	27.55 a	5.79 a
NPsCS-KI-25	37.13 a	18.60 a	734.87 ab	23.53 a	9.13 a
KIO ₃ -5	35.48 ab	19.30 a	981.05 a	30.30 a	9.55 a
KIO ₃ -25	31.12 b	20.22 a	798.72 ab	29.17 a	6.84 a
NPsCS-KIO ₃ -5	34.23 ab	19.52 a	792.22 ab	28.00 a	9.54 a
NPsCS-KIO ₃ -25	34.12 ab	17.25 a	650.28 bc	28.17 a	7.91 a

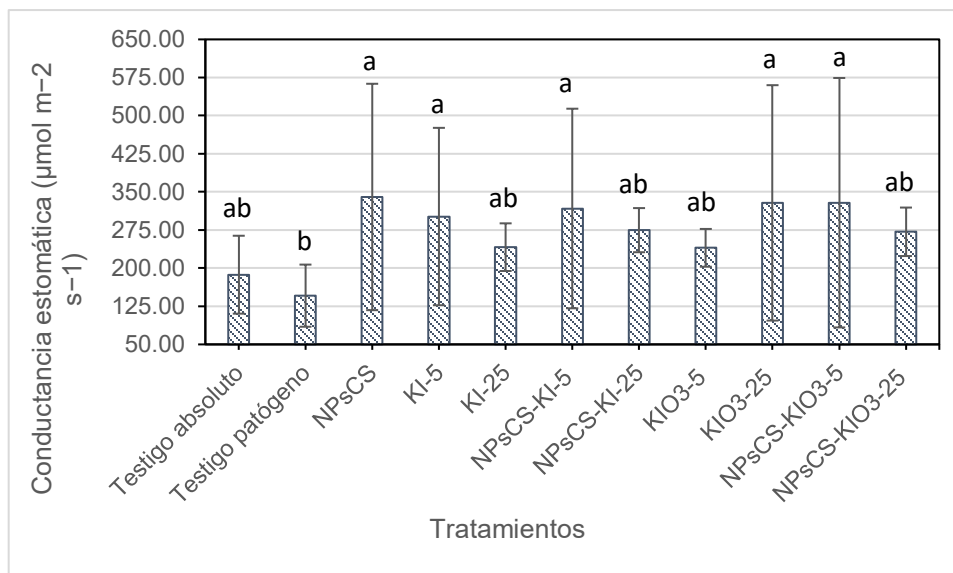
25

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (Fisher, $p > 0.05$).

Conductancia y densidad estomática

La conductancia estomática en lechuga infectada por *B. lactucae* mostró diferencias significativas entre los tratamientos aplicados (Figura 7) en comparación con el testigo infectado (ANOVA, Fisher $p \leq 0.05$).

La aplicación foliar de 5 mg L⁻¹ del complejo de NPsCS con KI resultó en un aumento del 117.52% en la conductancia estomática en comparación con el testigo infectado. De manera similar, el tratamiento NPsCS con KIO₃ para esa misma dosis, mostró un aumento del 125.32%.



Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos (Fisher, $p \leq 0.05$). Las líneas sobre las barras indican la desviación estándar.

Figura 7. Conductancia en lechuga infectada por *B. lactucae* tratada con complejos de nanopartículas de quitosán-yodo.

La conductancia estomática es un indicador clave de la capacidad de la planta para regular la transpiración y el intercambio gaseoso, factores críticos para la respuesta al estrés biótico, como la infección por patógenos (McAusland *et al.*, 2016). Los resultados obtenidos sugieren que las nanopartículas, en combinación con yodo, pueden mejorar la respuesta de la planta al estrés inducido por el patógeno. El aumento en la conductancia estomática podría indicar una mayor capacidad de la planta para realizar la fotosíntesis y movilizar recursos para la defensa.

En cuanto a las variables de morfología y densidad estomática, el análisis de medias Fisher ($p > 0.05$) se muestra en la Tabla 7. Se observó que la aplicación foliar de 25 mg L⁻¹ del complejo de NP_sCS con KIO₃ incremento el tamaño del largo de los estomas del haz de la hoja en un 10.74% con respecto al testigo absoluto. Mientras que la aplicación de complejo de nanopartículas mostró un incremento del 39.81% en el ancho de los estomas con respecto al testigo infectado con el patógeno, esto podría tener un efecto en la transpiración y la liberación de compuestos volátiles de defensa de la planta.

Caso contrario, se observó en el envés de las hojas, que la aplicación de las nanopartículas disminuyó el largo de los estomas en un 7.72%. Mientras que el complejo con KI y una concentración de 5 mg L⁻¹ provocó un aumento en el ancho de los estomas en un 19.46%. En cuanto a la densidad estomática en el haz de la hoja no se encontraron diferencias significativas.

Tabla 7. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo en la conductancia y densidad estomática de hojas de lechuga infectada por *B. lactucae*.

Tratamiento	Haz			Envés		
	Largo (um)	Ancho (um)	DS (estomas/mm ²)	Largo (um)	Ancho (um)	DS (estomas/mm ²)
Testigo absoluto	33.94 c	18.51 b	45.08 a	35.80 bcd	20.81	38.90 abc
Testigo patógeno	36.54 ab	20.68 b	40.47 a	36.64 abc	20.17	31.15 c
NP _s CS	35.68 abc	28.91 a	42.04 a	33.81 d	20.38	39.00 abc
KI-5	36.64 ab	18.71 b	46.69 a	38.78 a	21.08	35.78 abc
KI-25	36.77 ab	20.33 b	41.94 a	35.98 abcd	20.56	32.66 bc
NP _s CS-KI-5	35.92 abc	22.61ab	43.54 a	37.48 abc	24.09	34.15 abc
NP _s CS-KI-25	37.59 a	24.07 ab	54.50 a	38.21 ab	21.22	37.17 abc
KIO ₃ -5	34.75 bc	22.21 ab	45.20 a	35.97 abcd	21.73	41.97 abc
KIO ₃ -25	34.53 bc	21.01 b	52.88 a	38.11 ab	23.43	34.24 abc
NP _s CS-KIO ₃ -5	35.66 abc	21.97 ab	41.96 a	35.47 cd	22.52	48.14 a
NP _s CS-KIO ₃ -25	36.30 ab	20.71 b	52.95 a	36.08 abcd	22.75	46.86 ab

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (Fisher, $p > 0.05$).

Los estomas, además de regular el intercambio gaseoso y la transpiración, son puntos de entrada para muchos patógenos, incluyendo hongos y bacterias. Por lo tanto, la capacidad de la planta para modular la densidad y apertura estomática es fundamental para su defensa. Melotto *et al.*, (2017) investigaron la interacción entre *Arabidopsis thaliana* y *Pseudomonas syringae*. Sus resultados mostraron que las plantas con mayor densidad estomática eran más susceptibles a la infección bacteriana. Observaron que un aumento del 20% en la densidad estomática resultó en un incremento del 30% en la colonización bacteriana.

Hepworth *et al.*, (2018) estudiaron la densidad estomática en la resistencia de tomate (*Solanum lycopersicum*) a *Botrytis cinerea*. Encontraron que los cultivares de tomate con menor densidad estomática presentaban una reducción del 40% en la severidad de la enfermedad en comparación con los cultivares con mayor densidad estomática.

Fenoles totales

A los 42 DDT se pudo observar que la aplicación de sales de KIO_3 en una concentración de 5 mg L^{-1} mostró un aumento del contenido de fenoles totales en un 141.9 % en comparación con el testigo absoluto (Tabla 8).

Tabla 8. Efecto de los complejos de nanopartículas de quitosán-yodo sobre las variables agronómicas en lechuga infectada por *B. lactucae* en diferentes etapas fenológicas.

Tratamientos	29 DDT	42 DDT	57 DDT
Testigo absoluto	124.33 a	179.18 b	309.79 a
Testigo patógeno	199.18 a	366.15 ab	256.15 a
NPsCS	151.91 a	340.39 ab	198.58 a
KI-5	117.36 a	389.18 ab	264.94 a
KI-25	208.58 a	280.70 ab	197.97 a
NPsCS-KI-5	71.00 a	397.06 ab	212.52 a
NPsCS-KI-25	171.00 a	276.45 ab	194.94 a
KIO_3 -5	124.64 a	433.42 a	198.58 a
KIO_3 -25	141.45 a	261.30 ab	201.61 a
NPsCS- KIO_3 -5	123.12 a	301.91 ab	224.03 a
NPsCS- KIO_3 -25	202.21 a	184.33b	236.15 a

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (Fisher, $p > 0.05$).

La participación de compuestos fenólicos en la resistencia de las plantas a enfermedades es un proceso complejo que involucra la activación de diversas enzimas de defensa. Estudios recientes han demostrado que las enzimas fenoloxidasa (PPO) y la peroxidasa (POD) desempeñan roles cruciales en este mecanismo. Nabavi *et al.*, (2019) reportaron que la actividad de PPO y POD se incrementó significativamente en plantas de tomate infectadas con *Fusarium oxysporum*. Observaron que este aumento en la actividad enzimática estaba correlacionado con una mayor acumulación de compuestos fenólicos y una reducción en la severidad de la enfermedad.

Sharma *et al.*, (2020) investigó el papel de PPO y POD en la resistencia de plantas de arroz a *Magnaporthe oryzae*. Sus resultados mostraron que la sobreexpresión de genes que codifican para PPO y POD aumentó la resistencia de las plantas al patógeno. Observaron que estas enzimas catalizan la oxidación de compuestos fenólicos a quinonas, las cuales poseen actividad antimicrobiana y fortalecen la pared celular de la planta, creando una barrera física contra la infección.

Actividad enzimática de PAL, quitinasa y β -1,3 glucanasa

La actividad enzimática de las enzimas PAL, quitinasa y β -1,3 glucanasa fue evaluada durante tres muestreos realizados en las diferentes etapas del cultivo, los resultados expresados en U/mg min pueden observarse en la Tabla 9. El análisis de medias realizado para la enzima quitinasa (ANOVA, Fisher ≤ 0.05) no mostró diferencias significativas con respecto a los tratamientos testigo, sin embargo, puede observarse una disminución en la actividad enzimática al aplicar el tratamiento con el complejo de NPsCS-KIO₃ en la dosis de 5 mg L⁻¹ con respecto al tratamiento donde sólo se aplicaron las sales. Esto sucedió para las enzimas glucanasa y quitinasa, en un 77.5% y 65% respectivamente. Ambas enzimas se relacionan con el ataque de la pared celular de hongos fitopatógenos y, por tanto, inhiben el crecimiento del hongo (Sharma *et al.*, 2020).

Tabla 9. Actividad enzimática en lechuga tratada con complejos de nanopartículas de quitosán-yodo infectada por *B. lactucae* en diferentes etapas de crecimiento.

Tratamiento	29 DDT			43 DDT		
	Quitina	Glucanasa	PAL	Quitina	Glucanasa	PAL
Testigo absoluto	0.50 ab	0.57 a	0.14 a	0.50 ab	1.04 ab	0.03 b
Testigo patógeno	0.35 ab	0.56 a	0.10 a	0.35 ab	1.18 ab	0.05 ab
NPsCS	0.54 ab	0.32 a	0.06 a	0.54 ab	1.26 ab	0.04 ab
KI-5	0.80 ab	1.39 a	0.11 a	0.80 ab	2.12 ab	0.06 ab
KI-25	0.44 ab	0.36 a	0.08 a	0.44 ab	1.19 ab	0.05 ab
NPsCS-KI-5	0.34 ab	0.68 a	0.12 a	0.34 ab	1.29 ab	0.07 ab
NPsCS-KI-25	0.42 ab	1.12 a	0.11 a	0.42 ab	1.23 ab	0.06 ab
KIO ₃ -5	0.93 a	1.72 a	0.10 a	0.93 a	2.17 a	0.09 a
KIO ₃ -25	0.25 ab	1.39 a	0.09 a	0.25 ab	1.09 ab	0.04 ab
NPsCS-KIO ₃ -5	0.21 b	1.48 a	0.12 a	0.21 b	0.95 b	0.04 ab
NPsCS-KIO ₃ -25	0.36 ab	0.53 a	0.06 a	0.36 ab	1.50 ab	0.04 ab
Tratamiento	57 DDT					
	Quitina	Glucanasa	PAL			
Testigo absoluto	0.58 a	2.12 ab	0.07 ab			
Testigo patógeno	0.37 a	1.37 b	0.04 b			
NPsCS	0.57 a	2.34 ab	0.08 a			
KI-5	0.48 a	1.87 ab	0.05 ab			
KI-25	0.37 a	1.81 ab	0.05 ab			
NPsCS-KI-5	0.43 a	2.87 a	0.05 ab			
NPsCS-KI-25	0.37 a	1.52 b	0.07 ab			
KIO ₃ -5	0.43 a	1.84 ab	0.04 b			
KIO ₃ -25	0.48 a	1.58 ab	0.05 ab			
NPsCS-KIO ₃ -5	0.50 a	1.91 ab	0.05 ab			
NPsCS-KIO ₃ -25	0.49 a	1.94 ab	0.07 ab			

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (Fisher, $p > 0.05$).

En cuanto a la actividad de la enzima PAL, se logró observar diferencias entre los tratamientos con respecto a los testigos a partir del segundo muestreo (43 DDT), encontrando un aumento del 182.1% al aplicar las sales de KIO_3 en la dosis de 5 mg L^{-1} con respecto al testigo absoluto a los 43 DDT. Mientras que, a los 57 DDT se encontró un aumento del 73.1% al aplicar el tratamiento de NPsCS con respecto al testigo con patógeno.

La interacción entre el patógeno y la planta huésped induce algunos cambios en el metabolismo celular; principalmente en la actividad de enzimas, particularmente fenilalanina amoníaco liasa (PAL), peroxidasa (POD), polifenol oxidasa (PPO), lipoxigenasa (LOX), superóxido dismutasa (SOD) y β -1,3 glucanasa. Particularmente, PAL es la enzima principal en la vía de los fenilpropanoides, que conduce a la conversión de L-fenilalanina en ácido transcinámico con la eliminación del amoníaco, siendo una enzima clave en la síntesis de varios compuestos secundarios relacionados con la defensa, como los fenoles y la lignina. (Sharma, *et al.*, 2020).

Los datos obtenidos por Abada y Attia (2017) en lechuga, revelaron que hubo un aumento considerable en la actividad de las tres enzimas: PAL, PO y PPO en las hojas de todos los tratamientos asperjados con quitosán y ácido salicílico en comparación con el tratamiento de control.

Estudios recientes han demostrado que el yodo desempeña un papel crucial en la modulación de la respuesta de la lechuga al estrés biótico. Voogt *et al.*, (2020) investigaron el efecto de la biofortificación con yodo en la resistencia de la lechuga a patógenos del suelo. Sus resultados revelaron que la aplicación de yodato de potasio (KIO_3) a una concentración de $20 \mu\text{M}$ aumentó la actividad de enzimas relacionadas con la defensa, como la peroxidasa, en un 30% en comparación con el control no tratado. Además, observaron una reducción del 25% en la severidad de los síntomas de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* en las plantas biofortificadas con yodo.

Aplicaciones de yoduro (I^-) y yodato (IO_3^-) fueron aplicados en plantas de lechuga demostrando que la respuesta al estrés oxidativo es variable y depende de la forma de yodo aplicada. El yoduro reduce la actividad de la enzima superóxido

dismutasa (SOD) y aumenta la actividad de catalasa (CAT), L-galactonolactona deshidrogenasa, ascorbato (AA) y glutatión. El yodato, por otro lado, incrementa las actividades de SOD, ascorbato peroxidasa, CAT y la concentración de AA, así como las actividades regenerativas del ciclo Halliwell-Asada (Voogt *et al.*, 2020). Estos resultados sugieren que el yodo, tanto en forma de yoduro como de yodato, puede modular la respuesta antioxidante de las plantas, lo que podría tener implicaciones importantes para la protección contra el estrés oxidativo

CONCLUSIONES

La aplicación de complejos de nanopartículas de quitosán-yodo (NPsCS-I) influyó significativamente en las variables agronómicas, específicamente en el rendimiento y la altura de la planta. La aplicación del complejo de NPsCS-KIO₃ a una dosis de 5 mg L⁻¹ demostró ser efectiva para incrementar el rendimiento del cultivo, mientras que dosis elevadas de sales de KI pueden tener un efecto negativo en la altura de la planta.

La biofortificación con yodo se logró de manera efectiva, especialmente con la aplicación de NPsCS-KI en una dosis de 5 mg L⁻¹, donde se observó un aumento del 127.4%.

La aplicación foliar de NPsCS-KIO₃ a 5 mg L⁻¹ redujo la severidad del ataque de *Bremia lactucae*, mientras que la aplicación de NPsCS-KI a 5 mg L⁻¹ disminuyó la incidencia en un 39%. Se observaron diferencias significativas en la conductancia estomática, lo que sugiere una mejora en la respuesta de la planta al estrés biótico. Además, la morfología y densidad estomática fueron afectadas por los tratamientos de los complejos de nanopartículas de quitosán yodo con sales de KI y KIO₃.

La aplicación de complejos de nanopartículas de quitosán-yodo demostró modular significativamente la actividad de enzimas clave en la respuesta de defensa de la lechuga frente a *Bremia lactucae*. Específicamente, se observó que los tratamientos con NPsCs-KIO₃ (5 mg L⁻¹) y NPsCs-KI (25 mg L⁻¹) indujeron un aumento notable en la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL). Asimismo, la actividad de la enzima quitinasa, involucrada en la degradación de la pared celular del patógeno, se incrementó significativamente con la aplicación de NPsCs-KIO₃ (25 mg L⁻¹). Por otro lado, la actividad de la enzima glucanasa, mostró un aumento con la aplicación de NPsCs-KIO₃ (5 mg L⁻¹) y NPsCs-KI (25 mg L⁻¹). Estos resultados sugieren que los complejos de NPsCs-I, en las dosis mencionadas, activan mecanismos de defensa enzimáticos en la lechuga, lo que podría contribuir a su mayor resistencia frente al patógeno *Bremia lactucae*.

REFERENCIAS

- Ashrafi, B., Rashidipour, M., Marzban, A., Soroush, S., Azadpour, M., Delfani, S., & Ramak, P. (2019). Mentha piperita essential oils loaded in a chitosan nanogel with inhibitory effect on biofilm formation against *S. mutans* on the dental surface. *Carbohydr Polym*, 212, 142-149.
- Abada, K., & Attia, A. (2017). Potentiality of Inducer Resistance Chemicals and Bioagents in Managing Lettuce Downy Mildew. *American Journal of BioScience*, 5(1), 4.
- Abdel-Maksoud, K., & Farouk, A. (2017). Potentiality of Inducer Resistance Chemicals and Bioagents in Managing Lettuce Downy Mildew. *American Journal of BioScience*, 5(1), 4-12.
- Alexander, E. k., Pearce, E. N., Brent, G. A., Brown, R. S., Chen, H., Dosiou, C., . . . Sullivan, S. (2017). Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. *THYROID*, 315-389.
- Arranz, L., Canel, M. A., & Rafecas, M. (2010). Fibromyalgia and nutrition, what do we. *Rheumatology International*, 30, 1417-1427.
- Association, A. T. (2024.). *Deficiencia de yodo*. Obtenido de https://www.thyroid.org/wpcontent/uploads/patients/brochures/espanol/deficiencia_de_yodo.pdf
- Attia, M. F., Abada, K. A., & Mohamed, I. A. (1990). Studies on Bremia lactucae Regel in A. R. Egypt. *6 th Cong. of Phytopathol, 5-7 March, Cairo, Egypt.*, 403-420.
- Blasco, B., Leyva, R., Romero, L., & Ruiz, J. M. (2013). Iodine effects on phenolic metabolism in lettuce plants under salt stress. *J. Agric. Food Chem.*, 61(11), 2591-2596.
- Blasco, B., Rios, J., Cervilla, L., Sánchez-Rodríguez, E., Ruiz, J., & Romero, L. (2008). Iodine biofortification and antioxidant capacity of lettuce: potential benefits for cultivation and human health. *Annals of Applied Biology*, 15(3), 289-299.

- Castro-Juárez, C., Ramírez-García, S., López-Toledo, S., Honorio, M., & Villa-Ruano, N. (2022). Perfil nutricional de la dieta en la Casa del Niño Indígena CDI de Oaxaca, México. *Revista Espanola de Nutricion Comunitaria* , 28(2).
- Chun, S. C., & Chandrasekaran, M. (2019). Chitosan and chitosan nanoparticles induced expression of pathogenesis-related proteins genes enhances biotic stress tolerance in tomato. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 948–954.
- Clark, R., & Lee, S. (2016). Anticancer properties of capsaicin against human cancer. *Anticancer Research*, 36(3), 837-844.
- Dai, J., & Andersson, M. (2020). Iodine in the environment: sources, distribution, and speciation. *Environmental geochemistry and health*, 42(6), 1649-1667.
- Dávila-Rangel, I. E., Trejo-Téllez, L. I., Ortega-Ortiz, H., Juárez-Maldonado , A., González-Morales, S., Companioni-González , B., . . . Benavides-Mendoza, A. (2020). Comparison of Iodide, Iodate, and Iodine-Chitosan Complexes for the Biofortification of Lettuce. *Applied Sciences*, 7, 10.
- Fanzo, J., Downs, S., & Myers, S. (2021). Sustainable food systems for healthy diets: linking agriculture, nutrition, and environment. *Annual review of public health*(42), 105-125.
- FAO. (2019). *El estado mundial de la agricultura y la alimentación*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/ne496s/ne496s.pdf>
- Faridullah, F., Shabbir, H., Iqbal , A., Bacha , A.-U.-R., Arifeen, A., Ahmad , Z., & Mujtaba, G. (2023). Iodine supplementation through its biofortification in Brassica species depending on the type of soil. *Environ Sci Pollut Res Int*, 30(13), 37208-37218.
- Fuge, R. (1996). Geochemistry of iodine in relation to iodine deficiency disease. En J. D. Appleton, R. Fuge, & G. J. McCall, *Environmental geochemistry and health* (págs. 201-211). London: Geological Society .
- Galván, M., Fernández , T. L., Suárez-Diéguéz, T., & López-Rodríguez, G. (2020). Estado nutricional de yodo en niños escolares mexicanos de

- zonas urbanas y rurales. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 67(4), 228-234.
- Golubkina, N., Moldovan, A., Fedotov, M., Kekina, H., Kharchenko, V., Folmanis, G., . . . Caruso, G. (2021). Iodine and Selenium Biofortification of Chervil Plants Treated with Silicon Nanoparticles. *Plants (Basel)*, 10(11), 2528.
- Gonella, M., Renna, M., Conversa, G., & Santamaria, P. (2018). Iodine biofortification of vegetables: A review. *Frontiers in plant science*, 10, 1243.
- González-Gómez, H., Ramírez Godina, F., Ortega Ortiz, H., Benavides Mendoza, A., Robledo Torres, V., & Cabrera De la Fuente, M. (2017). Use of Chitosan-PVA Hydrogels with Copper Nanoparticles to Improve the Growth of Grafted Watermelon. *Molecules*(22), 1031.
doi:doi:10.3390/molecules2207103
- Gupta, N., Shukla Bajpai,, M., Singh Majumdar, R., & Mishra, P. (2015). Response of Iodine on Antioxidant Levels of Glycine max L. Grown under Cd Stres. *Advances in Biological Research*, 9(1), 40-48.
doi:10.5829/idosi.abr.2015.9.1.9183
- Halka, M., Smoleń, S., & Ledwożyw-Smoleń, I. (2020). Antioxidant potential and iodine accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings as the effect of the application of three different iodobenzoates. *Folia Horticulturae*, 32(2).
- Hepworth, C., Vrána, J., Holub, J., & Hřibová, E. (2018). Stomatal density and resistance to *Botrytis cinerea* in tomato. *Plant Pathology*, 67(8), 1888-1896.
- Horwitz, W. (2000). Ascorbic acid in vitamins preparations and juices, 2,6-Dichloroindophenol titrimetic method. *Official Methods of Analysis of AOAC.International 17th edn*, (pág. 16). Maryland, EUA.
- Incrocci , L., Carmassi , G., Maggini, R., Poli , C., Saidov, D., Tamburini, C., . . . Pardossi, A. (2019). Iodine Accumulation and Tolerance in Sweet Basil (

- Ocimum basilicum L.) With Green or Purple Leaves Grown in Floating System Technique. *ront Plant Sci*, 10, 1494.
- Kiferle, C., Ascriczzi, R., Martinelli, M., Gonzali, S., Mariotti, L., Pistelli, L., . . . Perata, P. (2019). Effect of Iodine treatments on *Ocimum basilicum* L.: biofortification, phenolics production and essential oil composition. *PLoS ONE*, 14(12), 0226559.
- Kiferle, C., Bulgari, R., Franzoni, G., & Puppo, A. (2020). Iodine biofortification improves the nutritional quality and antioxidant activity of lettuce and tomato. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(1), 263-272.
- Kiferle, C., Martinelli, M., Salzano, A. M., Gonzali, S., Beltrami, S., Salvadori, P. A., . . . Perata, P. (2021). Evidences for a Nutritional Role of Iodine in Plants. *Front. Plant Sci*, 12.
- Kim, M., Moon, Y., Tou, J., Mou, B., & Waterland, N. (2016). Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *J. Food Composition and Analysis*, 49, 19-34.
- Krzepiłko, A., Prażak, R., Skwaryło-Bednarz, B., & Molas, J. (2019). Agronomic biofortification as a means of enriching plant foodstuffs with iodine. *Acta Agrobotanica*, 72(2), 1766. doi:<https://doi.org/10.5586/aa.1766>
- Lawson, P., Daum, D., Czauderna, R., & Vorsatz, C. (2016). Factors influencing the efficacy of iodine foliar sprays used for biofortifying butterhead lettuce (*Lactuca sativa*). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 179(5). doi:DOI:10.1002/jpln.201600213
- Lazarus , J. H. (2015). The importance of iodine in public health. . *Environmental geochemistry and health*, 1-14.
- Lebeda, A., Křístková, E., & Doležal, J. (2021). *Bremia lactucae*: current status, diversity, and management. *Bremia lactucae: current status, diversity, and management. Frontiers in plant science*, 12, 639-832.
- Lebeda, A., Petrzalova, I., & Maryska, Z. (2008). Structure and variation in the wild-plant pathosystem: *Lactuca serriola* *Bremia lactucae*. *Eur. J. of Plant Pathol.*, 122, 127-146.

- Lee, S., Choi, H., Suh, S., Doo, I. S., Oh, K. Y., Choi, E. J., . . . Lee, Y. (1999). Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant Physiol.*, *121*, 147-152.
- Leija-Martínez, P., Benavides-Mendoza, A., Rocha-Estrada, A., & Medrano-Macías, J. R. (2016). Biofortificación con yodo en plantas para consumo humano. *Rev. Mex. Cienc. Agríc*, *7*(8), 2025-2036.
- Li, R., He, J., Xie, H., Wang, W., Kumar, S., & Sun, Y. (2019). Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Biological Macromolecules*, *126*, 91–100.
- Ligowe, I. S., Bailey, E. H., Young, S. D., Ander, E. L., Kabambe, V., & Chilimba, A. D. (2021). Agronomic iodine biofortification of leafy vegetables grown in Vertisols, Oxisols and Alfisols. *Environ. Geochem. Health*, *43*, 361-274.
- Manikandan, A., & Sathiyabama, M. (2016). Preparation of Chitosan nanoparticles and its effect on detached rice leaves infected with *Pyricularia grisea*. *International Journal of Biological Macromolecules*, *84*, 58-61.
- McAusland, L., Murchie, E. H., & Matthews, J. S. (2016). Exploiting stomatal behaviour for crop improvement. *Plant Physiology*, *174*(2), 586-600.
- Medrano-Macías, J., Leija-Martínez, P., González-Morales, S., Juárez-Maldonado, A., & Benavides-Mendoza, A. (2016). Use of Iodine to Biofortify and Promote Growth and Stress Tolerance in Crops. *Front. Plant Sci*, *7*, 1146.
- Melo, G. A., Shimizu, M. M., & Mazzafera, P. (2006). Polyphenol oxidase activity in coffee leaves and its role in resistance against the coffee leaf miner and coffee leaf rust. *Phytochemistry*, *67*, 277-285.
- Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K., & He, S. Y. (2017). Plant stomata function in bacterial pathogenesis. *Current Biology*, *16*(2), 174-178.

- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428.
- Mondéjar-López, M., Rubio-Moraga, A., López-Jimenez, A. J., García, J., Ahrazem, O., Gómez-Gómez, L., & Niza, E. (2022). Chitosan nanoparticles loaded with garlic essential oil: A new alternative to tebuconazole as seed dressing agent. *Carbohydr Polym*, 277.
- Moreno-Pérez, E. C., García-Paredes, J. D., & Cervantes-Pérez, A. (2021). Nutritional composition and antioxidant capacity of lettuce cultivars grown in Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(7), 1147-1158.
- Mou, B. (2020). Lettuce breeding. In *Vegetable breeding and genetics: breeding for quality and stress tolerance*. John Wiley & Sons, 201-228.
- Nabavi, S. M., Bilandzic, N., Lorusso, G., Clemente, G., & Travaglia, F. (2019). The Role of Phenolic Compounds in the Defense Mechanisms of Plants. *Antioxidants*, 8(12), 606.
- OMS. (2014). *Concentraciones de yodo en orina para establecer estado nutricional de yodo en poblaciones*. Ginebra: Departamento de Nutrición para la Salud y el Desarrollo .
- Organization, W. H. (2022). *Iodine deficiency*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/micronutrients-iodine-deficiency>.
- Parra, L., Maisonneuve, B., Lebeda, A., Schut, J., Christopoulou, M., Jeken, M., . . . Michelmore, R. (2016). Rationalization of genes for resistance to *Bremia lactucae* in lettuce. *Euphytica*, 210, 309-326.
- Prasad, R., Bhattacharyya, A., & Nguyen, Q. D. (2017). Nanotechnology in Sustainable Agriculture: Recent Developments, Challenges, and Perspectives. *Front. Microbiol.*, 8.
- Rodríguez-Pedroso, A. T., Ramírez-Arrebato, N. Á., & Cárdenas-Travieso, R. M. (2006). Efecto de la Quitosana en la Inducción de la Actividad de Enzimas Relacionadas con la Defensa y Protección de Plántulas de Arroz (*Oryza sativa* L.) contra *Pyricularia grisea* Sacc. *Rev. Mex. Fitopatol*, 24, 1-7.

- Rodríguez-Salinas, P. A., Carballo-Méndez, F. d., Rodríguez-Ortiz, J. C., Niño-Medina, G., Olivares-Saénez, E., & Garza-Alonso, C. A. (2022). Yodo incrementa la concentración de compuestos fenólicos y pigmentos fotosintéticos en tres cultivares de *Ficus carica* L. sometidos a estrés salino. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*(28), 309-318.
- Ruel, M. T., Quisumbing, A. R., & Gillespie, S. (2017). Nutrition-sensitive agriculture: principles, pathways, and evidence. *The Journal of nutrition*, 147(11), 2166–2183.
- Sabatino, L., Di Gaudio, F., Benedetto, B., Roupael, Y., El-Nakhel, C., La Bella, S., . . . De Pasquale, C. (2021). Iodine Biofortification Counters Micronutrient Deficiency and Improve Functional Quality of Open Field Grown Curly Endive. *Horticulturae*, 7(3), 58.
- Sabry, H., & Ragaei, M. (2018). Nanobiotechnology Applications in Plant Protection. En *Springer Internal Publishing AG Nanotechnology in life sciences*.
- Sady, W., Smolen, S., & Ledwozyw-Smolen, I. (2018). *PL Patente n° 228650B1*.
- Sangeetha, R., & Baskaran, V. (2010). Carotenoids composition and retinol equivalent in plants of nutritional and medicinal importance: efficacy of β -carotene from *Chenopodium album* in retinol-deficient rats. *Food Chemistry*, 119(4), 1584-1590.
- Sharma, P., Jha, A. K., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2020). reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 39(4), 963-994.
- Sharp, R. E., & Shabala, S. (2018). Root and shoot responses to abiotic stress: linking classical physiology to molecular biology. *ournal of experimental botany*, 69(1), 17-38.
- Smoleń, S., Czernicka, M., Kęska-Izworska, K., Kowalska, I., Grzebelus, D., Pitala, J., & Halka, M. (2023). Transcriptomic and metabolic studies on the role of inorganic and organic iodine compounds in lettuce plants. *Scientific Reports*, 13, 8440.

- Smoleń, S., Kowalska, I., Kováčik, M., Grzanka, M., & Kutman, U. (2019). Changes in the chemical composition of six lettuce cultivars in response to biofortification with iodine and selenium combined with salicylic acid application. *Agronomy*, 9(660).
- Stasińska-Jakubas, M., & Hawrylak-Nowak, B. (2022). Protective, Biostimulating, and Eliciting Effects of Chitosan and Its Derivatives on Crop Plants. *Molecules*, 27(9), 2801.
- Stein, A. J. (2010). Global impacts of human mineral malnutrition. *Plant Soil*, 335, 133-154.
- Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14, 2167–2180.
- Sumanta, N., Haque, C. I., Nishika, J., & Suprakash, R. (2014). Spectrophotometric analysis of chlorophylls and carotenoids from commonly grown fern species by using various extracting solvents. *Research Journal of Chemical Sciences*, 4(9), 63-69.
- Terzano, R., Cesco, S., & Mimmo, T. (2015). Dynamics, thermodynamics and kinetics of exudates: crucial issues in understanding rhizosphere processes. *Plant Soil*, 386, 399–406.
- Venturi, S. (2017). Evolutionary significance of iodine. *Journal of thyroid research*.
- Voogt, W., Van der Mee, I. M., & Van der Lans, D. L. (2020). Iodine biofortification of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in hydroponic cultivation. *Scientia Horticulturae*, 261.
- Weng, L., & Hong, C. L. (2018). Iodine biofortification of crops: mechanisms, pathways, and challenges. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(15), 2636-2649.
- Weng, L., & Horwath, W. R. (2019). Microbial processes influencing iodine biogeochemistry in soils. *Environmental science & technology*, 53(16), 9390-9399.

- White, P. J., & Broadley, M. R. (2019). Biofortification of crops with essential mineral elements. *Annual review of plant biology*, 70, 253-279.
- WHO. (2020). *World Health Organization. Reducir el consumo de sal*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>
- Yang, T., & Kim, H. J. (2019). Nutrient management regime affects water quality, crop growth, and nitrogen use efficiency of aquaponic systems. *Sci. Hortic*, 256, 108619.
- Yu, Z., & Dahlgren, R. A. (2000). Evaluation of methods for measuring polyphenols in conifer. *J. Chem. Ecol.*, 26, 2119-2140.
- Zhang, Y., Cao, H., Wang, M., Zou, Z., Zhou, P., Wang, X., & Jin, J. (2023). A review of iodine in plants with biofortification: Uptake, accumulation, transportation, function, and toxicity. *Science of the Total Environment*, 878.
- Zhu, Y., Huan, Y., Hu, Y., & Liu, H. (2003). Iodine uptake by spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants grown in solution culture: effects of iodine species and solution concentrations. *Environment International*, 29(1), 33-37.
- Zimmermann, M. B. (2019). Iodine deficiency in children and adolescents. *Endocrine connections*, 8(3), 31-40.