



# Medición de Intercambio Gaseoso, Área Foliar e Índice de Clorofila en Plantas Elicitadas con Nanopartículas

<sup>1</sup>Gorgonio López-Tolentino, <sup>1</sup>Ricardo Hugo Lira-Saldivar, <sup>1</sup>Bulmaro Méndez-Argüello

<sup>1</sup>Departamento Plásticos en la Agricultura. Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Saltillo, Coahuila, México. C.P. 25294.

#### Resumen

La fotosíntesis es un proceso fotoquímico por el cual las plantas, algas y bacterias fotosintéticas utilizan la radiación solar transformándola en energía química para utilizarla en la síntesis de compuestos orgánicos a través de sustancias inorgánicas como minerales, agua y CO<sub>2</sub>. Todos los organismos heterótrofos dependen de estas transformaciones energéticas para su subsistencia. En el establecimiento de un cultivo, es necesario monitorear periódicamente el comportamiento del contenido de clorofila, el índice fotosintético, área foliar y el intercambio gaseoso, ya que estos indicadores nos darán una estimación de lo que podemos esperar en el rendimiento final de los cultivos. Los instrumentos para la medición de variables fisiológicas, fotosíntesis y área foliar proporcionan una estimación rápida y confiable del estado nutricional de los cultivos. Así también, la aplicación foliar o al sistema de riego de NPs tienen el potencial de incrementar la fotosíntesis, el índice de clorofila y el intercambio gaseoso de las plantas.

# Introducción

Las plantas, al igual que todos los seres vivos, necesitan de la nutrición para obtener los materiales necesarios en la realización de sus actividades vitales. Especialmente las plantas necesitan agua y sales minerales que pueden obtener del suelo a través de las raíces, pero además necesitan CO<sub>2</sub>, un elemento imprescindible que se encuentra en grandes concentraciones en la atmosfera, generado por actividades humanas como la quema de





basura, hierbas secas, combustibles como gasolina, diésel, etc., (Soltani et al., 2015). Existen también actividades biológicas como la descomposición de materia orgánica inducida por microorganismos del suelo que son llamados descomponedores (Kaiser et al., 2015).

El proceso de transformación de la materia inorgánica en materia orgánica, sucede en organismos llamados autótrofos o fotosintetizadores, siendo los únicos organismos capaces de desarrollar esta transformación inducidas por la radiación solar. Todos estos organismos contienen un pigmento llamado clorofila y son proteínas que tienen la capacidad de absorber luz solar para transformarla en energía química y así iniciar el proceso fotosintético (Yamatani et al., 2013).

#### **Fotosíntesis**

Es un proceso fotoquímico por el cual las plantas, algas y bacterias fotosintéticas utilizan la radiación solar transformándola en energía química para utilizarla en la síntesis de compuestos orgánicos a través de sustancias inorgánicas como minerales, agua y CO<sub>2</sub>. (Perea-Urria, 2011). Todos los organismos heterótrofos dependen de estas transformaciones energéticas y de materia para su subsistencia (Mateus, 2015).

La fotosíntesis es el proceso más importante que proporciona energía al planeta, ya que por medio de este proceso se producen alimentos y oxígeno. Las principales biomoléculas como los carbohidratos, lípidos y proteínas que conforman más del 90% de los organismos vivos en el planeta, son sintetizadas a través del proceso de fotosíntesis (Fenta et al., 2012). Mediante las biomoléculas se produce la energía que utilizan los organismos para realizar sus actividades vitales a través de procesos metabólicos como el anabolismo y catabolismo.

### Fases de la Fotosíntesis





El proceso de fotosíntesis se lleva a cabo mediante dos fases (lumínica y oscura) que se diferencian por la necesidad de utilizar la radiación solar. La fase luminosa, fase fotoquímica o reacción de Hill es la primera etapa de la fotosíntesis, que depende directamente de la luz o energía lumínica, para poder obtener energía química en forma de ATP y NADPH, a partir de la disociación de moléculas de agua, formando oxígeno e hidrógeno (Teixeira et al., 2013). La energía creada en esta fase, será utilizada durante la fase oscura, para de esta forma continuar con la fotosíntesis. A continuación se desglosan los procesos y reacciones que ocurren en las dos fases de la fotosíntesis en las plantas.

Fase lumínica: Inicia con la absorción de radiación solar realizada por un pigmento fotosintético llamado clorofila, la radiación es absorbida en diferentes longitudes de onda, la necesaria para generar ATP (Adenosin Trifosfato) y poder reductor o NADPH (nicotinamida adenina di-nucleótido fosfato). Los electrones necesarios para convertir NADP + (malato deshidrogenasa) a NADPH, en esta fase los elementos primarios provienen del agua. En este paso también tiene lugar la formación de oxígeno (Mandal y Mukherji, 2000). El proceso de absorción de luz se lleva a cabo por dos conjuntos de proteínas conocidos como fotosistemas l y II (Von Caemmerer y Furbank, 2016).

El primer fotosistema tiene un pico de absorción de la radiación solar de 700 nanómetros (nm) conocido como P700, mientras que el fotosistema II contiene el mismo tipo de clorofila que el fotosistema I, solo que tomando parte en el proceso un proteína diferente con un pico de absorción de 680 nm (conocido como P680). La fase luminosa puede presentarse en dos modalidades, con transporte acíclico de electrones en el cual participan los fotosistemas I y II, y con transporte cíclico de electrones, en el que solo participa el fotosistema I. En la fase acíclica se realiza la fotólisis del agua descomiéndose la molécula en: O e H y cediendo los electrones a la cadena fotosintética. Ahí se sintetiza energía en forma de ATP y se fotoreduce en NADPH, el cual se utilizara en la siguiente fase o fase oscura de la fotosíntesis (Vinit-Dunand et al., 2002).

La fase cíclica o lumínica se origina debido a que los electrones cedidos por el P700 regresan nuevamente por el mismo fotosistema creando un flujo, que en cada vuelta de los





electrones, dan lugar a la síntesis de ATP (Figura 1). En la fase cíclica no existe fotólisis de agua, tampoco se genera NADPH, ni se desprende oxígeno, simplemente se general ATP's para ser utilizados en la fase oscura (Govindjee, 2016).

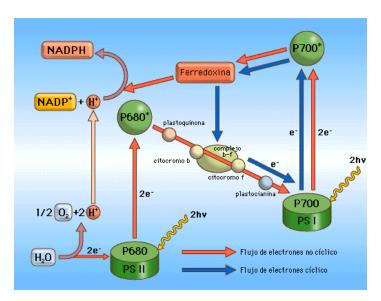


Figura 1. Fase luminosa de la fotosíntesis, la cual incluye la fotólisis del agua, síntesis de la energía reductora o NADPH y la síntesis de energía en forma de ATP (Imagen tomada de https://www.bnl.gov/chemistry/AP/).

Fase oscura o no lumínica: En esta fase a la enzima Ribulosa bifosfato tiene la vital función de fijar o atrapar la molécula dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) presente en el aire, que es la fuente principal de carbono para las plantas y sirven para elaborar biomoléculas de hidratos de carbono o azucares, que contienen carbono, hidrógeno y oxígeno; toda esta cadena de transformación del CO<sub>2</sub> se conoce con el nombre del Ciclo de Calvin (Figura 2) (Schwender et al., 2004).



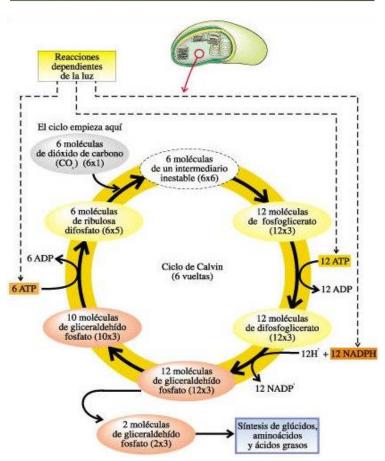


Figura 2. Fase oscura de la fotosíntesis o ciclo de Calvin que involucra tres reacciones: primero ocurre la fijación del CO<sub>2</sub>; luego se origina la reducción del CO<sub>2</sub> a compuestos orgánicos, y por último ocurre la regeneración de la enzima RuBP carboxilasa. Tomado de"http://www.fisicanet.com.ar/biologia/metabolismo/ap12\_fijacion\_de\_carbono.php".

En la primera fase de la fotosíntesis, la energía de la luz se convierte en energía eléctrica; luego el flujo de electrones y la energía eléctrica se transforma en energía química, que se almacena en los enlaces de la enzima NADPH (alto poder reductor) y la enzima ATP (alto contenido energético). En la segunda fase de la fotosíntesis, esta energía producida se usa para reducir el carbono y sintetizar azúcares o glúcidos sencillos (Sagi y Fluhr, 2001). La fijación del carbono tiene lugar en de distintas maneras en las diferentes especies vegetales. De acuerdo a la forma de fijación del carbono, las plantas se clasifican en grupos; el primer grupo corresponde a las plantas C<sub>3</sub> (primer producto formado por tres carbonos), en este grupo, el primer producto de la fotosíntesis contiene tres carbonos, para los grupos de





plantas C<sub>4</sub> siendo el primer producto formado una molécula de cuatro carbonos, y CAM llamadas del metabolismo acido de las crasuláceas (Yamori et al., 2014).

De acuerdo con Raines (2003), las reacciones que ocurren en la fase oscura o Ciclo de Calvin de la fotosíntesis son tres: 1) Fijación del CO<sub>2</sub>; 2) Reducción del CO<sub>2</sub> a compuestos orgánicos, y 3) Regeneración de la enzima RuBP carboxilasa. En el proceso de fijación del CO<sub>2</sub> la enzima que interviene en el ciclo de Calvin se denomina ribulosa bifosfato carboxilasa (rubisco), la cual fija tres átomos de CO<sub>2</sub> atmosférico uniéndolos de tres en tres unidades para formar ribulosa bifosfato; el resultado de tal unión son de seis moléculas de 3-fosfoglicerato. A continuación se desglosan las tres reacciones señaladas:

- 1) Reducción: La molécula formada anteriormente se transforma en 1,3 bifosfoglicerato por la acción de seis unidades de ATP y este compuesto se transforma G3P por la acción de seis unidades de NADPH; una de estas moléculas de G3P por acción de seis unidades de NADPH, una de estas moléculas pasa a las vías metabólicas de la planta para producir compuestos orgánicos como glucosa o almidón.
- 2) Regeneración: El final del proceso de la fase oscura se da por la adición de fosforo mediante tres ATP generando una nueva molécula de ribulosa-1,5-bifosfato desencadenando nuevamente el proceso. Una vez formada la glucosa, suceden una serie de reacciones químicas que terminan en la formación de almidón y otros carbohidratos, necesarios para la formación de tejidos vegetales para el desarrollo general de la planta.

El proceso fotosintético es una de las actividades más importantes de los organismos autótrofos, para ellos mismos y para todas las especies de organismos vivos en el planeta y es uno de los procesos más importantes para la transformación de la materia. Tan solo de este proceso depende la calidad del aire que respiramos permitiendo así la vida de muchas especies más tanto de animales y humanos. Los estomas (Figura 3) ubicados en la epidermis de las hojas están constituidos de un par de células guarda y otras células adyacentes, que cuando se hidratan se hinchan y debido a su micelación radial se abren para formar el poro estomático. Los estomas tiene tamaños de nivel micrométrico, fluctuando en el rango de 10 a 60 μm (Fricker y Willmer, 2012).





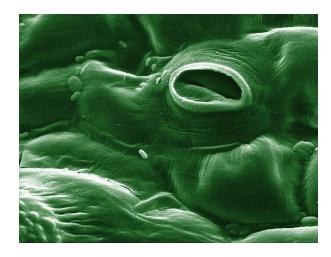


Figura 3. Los estomas se encuentran en las superficies de las hojas, en la mayoría de las plantas y es donde se realiza el intercambio gaseoso, difundiéndose al interior del mesófilo de las plantas el CO<sub>2</sub> y al exterior el vapor de agua mediante el proceso de transpiración (Tomado de Fricker y Willmer, 2012).

La capacidad fotosintética de una planta tiene relación con la cantidad de CO<sub>2</sub> fijado, que dará como consecuencia la síntesis de carbohidratos que serán utilizados por la planta para su desarrollo, el resto lo almacenan en la diferentes estructuras como raíces o frutos para ser utilizados en momentos críticos donde no sea posible realizar completamente la fotosíntesis. Estos de carbohidratos que sintetizan las plantas son utilizados para alimentar a las especies heterótrofas que no son capaces de elaborar su propio alimento; por lo tanto, cuando más fotosíntesis realiza una planta, más carbono estará fijando para convertirlas en biomoléculas, de donde los organismos heterótrofos extraen la energía necesaria para poder vivir (Ramesh, 2003).

## Medición de la fotosíntesis y otras variables fisiológicas

Uno de los instrumentos portátiles más utilizados en la investigación es el LI-6400 (Figura 4), capaces de proporcionar información sobre las respuestas de las plantas como la velocidad de asimilación de CO<sub>2</sub>, conductancia estomática, transpiración, eficiencia en el uso del agua y en la corboxilación y uso de la luz solar fotosintéticamente activa (luz PAR).







Figura 4. Medidor portátil de fotosíntesis y otras variables fisiológicas como conductividad estomática, transpiración, fosforilación. Marca LICOR Modelo LI-6400. Tomado de https://www.licor.com/corp/history.html.

Una vez calibrado el equipo, es muy fácil trasladarlo a campo para realizar las mediciones. Se seleccionan las plantas y las hojas a medir; se recomienda una de la parte intermedia de la planta, bien desarrollada y expuesta al sol. Se coloca la hoja dentro de la cámara, se cierra (Figura 5), se presiona por unos momentos hasta que la lectura se estabilice; luego se abre la cámara y se procedemos con la siguiente hoja, siendo este método rápido y fácil (Papathanasiou et al., 2012).

La posibilidad de incrementar el rendimiento de muchos cultivos con un aumento en la tasa fotosintética ha sido considerada frecuentemente debido a que la biomasa seca producida por la planta está directamente relacionada con su capacidad fotosintética (Slafer et al., 1994). Los principales factores externos como internos que regulan la capacidad fotosintética de las son: temperatura, humedad relativa, radiación solar, disponibilidad de agua en el suelo, contenido de clorofila en las hojas, entre otros. Por lo tanto, conocer la tasa fotosintética de una planta, nos da una idea del rendimiento que se espera de dicha planta o cultivo. Esto lo demostró Gutiérrez et al. (2000), ya que encontraron una relación positiva entre la tasa fotosintética y el rendimiento de grano en plantas de trigo.







Figura 5. Forma de colocación de la hoja para medir fotosíntesis en condiciones de agricultura protegida o en campo abierto. Tomado de https://www.licor.com/corp/history.html"

# Clorofila el Pigmento Fotosintético

La clorofila es el pigmento fotoreceptor responsable de la primera etapa en la transformación de la energía de física de la luz solar, en energía química. Esta molécula se encuentra en los cloroplastos de las células vegetales asociados a lípidos y proteínas; siendo el pigmento el responsable del color verde de las plantas, algas y algunas bacterias fotosintéticas. Los cloroplastos se localizan en el citoplasma cercano a la pared celular (Figura 7). La clorofila absorbe luz ultravioleta, roja y azul, por lo tanto, refleja el color verde, que es del color que vemos las plantas (Smith, 2000).

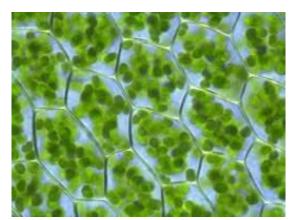


Figura 6. Moléculas de clorofila concentradas en la hoja las cuales se mueven y reorganizan dentro de los cloroplastos por efecto de la intensidad de luz. Tomada de https://www.ecured.cu/Clorofila.





La alta concentración de clorofila en las hojas hace que se perciban de color verde, de la misma forma otros tejidos como el tallo, aunque en bajas concentraciones, también absorben fotones de la luz solar. En los cloroplastos ocurren todas la reacciones fotosintéticas constituido por tres membranas (externa, interna y tilacoidal) y tres espacios (intermenbranal, estroma y lumen del tilacoide), las enzimas involucradas en la cadena de transporte de electrones responsable de la fotofosforilación oxidativa son proteínas constituyentes de la membrana tilacoidal (Allen, 2003). El Ciclo de Calvin tiene lugar en el estroma, de donde los azucares producidos son exportados al citoplasma celular para su consumo y transporte a otros órganos de la planta.

El contenido de clorofila en las plantas, nos permite relacionarlo con su nivel nutricional, para realizar estas mediciones de manera rápida y sin causar algún daño a la hoja se consigue utilizando el medidor SPAD-502 (Figura 7), los valores se muestran en unidades SPAD teniendo una relación con la densidad de clorofila de la planta. Se puede medir directamente en campo seleccionando una hoja por planta (la tercera hoja desarrollada) colocándola dentro de la cámara medidora, presionamos por unos segundos e inmediatamente se muestra el resultado. Los valores varían entre las planta, inclusive, de una hoja a otra (Chang y Robison, 2003).

Con base en un ensayo realizado por Mendoza et al. (1998) en el que demostraron que existe una alta relación entre el contenido de clorofila determinados a partir de unidades SPAD (SPAD-502), y el contenido de nitrógeno en las hojas de tomate, siendo una manera rápida de determinar el estado nutricional de la planta; similares demostraciones realizaron Moreno et al. (2008) al medir el contenido de clorofila en hojas de maíz, en su estudio concluyen que el contenido de este pigmento en la planta está estrechamente relacionado con el contenido de nitrógeno en las hojas (López-Bellido et al., 2004).

Debido a lo antes señalado, el contenido de clorofila en las plantas tiene estrecha relación con el índice de fotosíntesis y a su vez estos dos factores, influyen considerablemente en el rendimiento de una planta, tanto en su desarrollo como en el rendimiento final de la cosecha. Por lo tanto, en el establecimiento de un cultivo, es





necesario monitorear periódicamente el comportamiento del contenido de clorofila y el comportamiento en el índice fotosintético de las plantas, ya que estos dos indicadores nos darán una estimación de lo que podemos esperar en el rendimiento final del cultivo.



Figura 7. Medición de clorofila con el instrumento Minolta SPAD. A) Planta de maíz y B) planta de arroz. Tomado: http://www.sbkmexico.com/catalogo/product\_info.php?products\_id=702.

#### Medición del área foliar en los cultivos

La medición del área foliar (AF) de las plantas abarca muchas disciplinas científicas. El control de la distribución y los cambios de AF es importante para evaluar el crecimiento y el vigor de la vegetación en el planeta. Es de fundamental importancia como parámetro en los procesos de la superficie terrestre y modelos climáticos. Esta variable representa la cantidad de material de hojas en los ecosistemas y controla los vínculos entre la biosfera y la atmósfera a través de diversos procesos como la fotosíntesis, la respiración, la transpiración y la intercepción de la lluvia. Una medida que es aparentemente tan simple y fundamental es realmente la columna vertebral que proporciona el marco para una mayor investigación en áreas como la ecología, agronomía, entomología, la investigación ciclo del carbono y fitopatología (Meza y Bautista, 1999).

La determinación del AF es necesaria para calificar el crecimiento y es usada ampliamente en modelos fotosintéticos, evaluación de los sistemas de conducción y poda. Para ello se hace necesario disponer de métodos prácticos no destructivos para estimarla en el campo (Gutiérrez y Lavín, 2000), con ésta medición se puede determinar la acumulación





de materia seca, el metabolismo de carbohidratos, el rendimiento y calidad de la cosecha (Bugarin et al., 2002).

El AF es una medida necesaria para evaluar la intensidad de asimilación de las plantas, parámetro de gran relevancia cuando se efectúa el análisis de crecimiento de un cultivo. Se ha planteado que para aplicar las técnicas de análisis de crecimiento en estudios con plantas se requiere como mínimo una medida de la cantidad de material vegetal presente (peso seco) y una medida del sistema asimilatorio o de la maquinaria fotosintética de las plantas, y a partir de estas medidas se pueden calcular los diferentes parámetros de un análisis de crecimiento sencillo (Ruiz-Espinoza, et al., 2007). Existen diversos procedimientos para la determinación del área foliar, desde modernos y automáticos equipos como planímetros ópticos (Figura 9), hasta laboriosos y tediosos métodos de laboratorio como el planímetro mecánico.



Figura 9. Medidor de área foliar óptico estacionario de la marca LICOR, modelo LI-3100, el cual permite realizar mediciones rápidas y precisas de hojas grandes o pequeñas. (Tomado de "https://es.licor.com/env/products/leaf\_area/LI-3100C/").

El medidor de AF óptico LI-3100 está diseñado para realizar mediciones eficientes y exactas de objetos grandes y pequeños. La resolución de área de 1 mm² o 0.1 mm² es seleccionable por el usuario sin necesidad de cambiar componentes ópticos. Esta versatilidad brinda la flexibilidad necesaria para los requisitos de diversos proyectos. Con este instrumento se puede medir lo siguiente: área, longitud, ancho máximo, ancho promedio. Es de alta precisión y repetibilidad; funcionamiento rápido y continuo para grandes cantidades





de muestras con un área registrada individual o acumulada. Cuenta con un sistema de banda transparente silenciosa con rodillo prensil ajustable, lo que permite aplanar hojas rizadas. Los datos aparecen en la pantalla LED del instrumento o en la pantalla de una computadora con Windows para recopilar y almacenar datos mediante conexiones RS-232 o USB.

Aplicación de nanopartículas en plantas y se efecto en área foliar, clorofila e intercambio gaseoso.

Las estimaciones de variables fisiológicas son alteradas con la aplicación de nanopartículas metálicas, diversos reportes han demostrado que en algunos cultivos incrementan la clorofila, área foliar e intercambio gaseoso, contrariamente otros investigadores han indicado efectos negativos con la aplicación de estos nanomateriales.

Ghafariyan et al. (2013) informaron que bajas concentraciones de NPsFe aplicadas foliarmente aumentan significativamente el contenido de clorofila en las hojas de soja cultivas en condiciones de invernadero, lo que indica que este tipo de NPsFe puede ser utilizado como fuente de fierro. En el estudio de Delfani et al. (2014) reportan una aplicación foliar de 500 mg L<sup>-1</sup> de NPsFe a plantas de chicharo (*Vigna sinensis*), dosis que aumentó significativamente el número de vainas por planta (47%), numero de semillas (7%), contenido de Fe en las hojas (34%) y el contenido de clorofila (10%), en comparación con valores de las plantas control. La aplicación de las NPs Fe también mejoró el rendimiento en comparación con las plantas que se aplicaron fertilizante tradicional. Los autores señalan que las aplicaciones foliares de Fe y Mg incrementan la eficiencia fotosintética de las plantas.

Se ha reportado que las NPs metálicas de manganeso (NPsMn) son una mejor fuente de micronutrientes que las sales tradiciones como el sulfato de Mn disponible en el mercado (Pradhan et al., 2013). Estos investigadores señalan que las NPsMn incrementan el crecimiento de leguminosas (*Vigna radiata*) y observaron también que las plantas incrementaron su actividad fotosintética. La aplicación de NPsMn en 0.05 mg L<sup>-1</sup> aumentó el crecimiento de las plantas, respecto al tratamiento control (sin Mn). También reportaron un





incremento de la longitud de la raíz (52%), longitud del tallo (38%), número de raíces (71%), biomasa fresca (38%) y biomasa seca (100%).

Otro trabajo señala que las NPs de SiO<sub>2</sub> incrementan el crecimiento y desarrollo de las plantas de *Cucurbita pepo* e *Indocalamus barbatus*, promueven un aumento del intercambio de gaseoso, como la tasa fotosintética neta, la transpiración, conductancia estomática y el transporte de electrones (Siddiqui et al., 2014).

Las nanopartículas de oro NPsAu promovieron el crecimiento de las plantas *Gloriosa* superba y Brassica juncea así mayor número de hojas, área foliar, altura, contenido de clorofila y azúcares; consecuentemente más rendimiento (Arora et al., 2012; Gopinath et al., 2014.). Por otra parte la aplicación de NPsTiO<sub>2</sub> mejora la actividad fotosintética, conductancia estomática y la transpiración en las plantas de tomate (Qi et al., 2013).

La aplicación foliar de 1.5 y 10 mg L<sup>-1</sup> de NpsZnO a plantas de garbanzo (*Cicer arietinum*), promovieron mayor altura y biomasa seca. Se ha destacado que la aplicación de zinc en forma de nanofertilizante aplicado al follaje en bajas dosis es más eficiente para promover el crecimiento de las plantas. Se ha sugerido que esto se debe a que el zinc es requerido para la producción de biomasa, y también porque este microelemento tiene una función muy importante en muchas enzimas involucradas en el proceso fotosintético, así como en la integridad y mantenimiento de las membranas celulares de las plantas (Burman et al., 2013). El zinc como nanofertilizante en dosis de 10 mg L<sup>-1</sup> ha promovido mayor crecimiento en plantas de mijo (*Pennisetum americanum*), así como mayor producción de biomasa seca, longitud de raíz, contenido de clorofila y rendimiento de grano (Tarafdar et al., 2014). Otros discrepan con sus resultados, señalando que el exceso de NPs metálicas causa una reducción significativa en el contenido de la clorofila de plantas (Rao et al., 2014).

# **Conclusiones**

La medición del intercambio gaseoso en plantas, incluyendo fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, además del área foliar, son variables muy útiles en estudios sobre la fisiología de cultivos, porque permiten entender el comportamiento de las





plantas, lo que ayuda a hacer ajustes en la nutrición y manejo agronómico del cultivo, para obtener los mejores rendimientos. Las NPs por lo tanto, tienen el potencial de incrementar la fotosíntesis, el índice de clorofila e intercambio gaseoso de las plantas.

### Literatura Citada

- Allen, J.F. (2003). Cyclic, pseudocyclic and noncyclic photophosphorylation: new links in the chain. Trends in Plant Science, 8(1), 15-19.
- Arora S, Sharma P, Kumar S, Nayan R, Khanna PK, Zaidi MGH (2012) Gold-nanoparticle induced enhancement in growth and seed yield of *Brassica juncea*. Plant Growth Regul 66:303–310.
- Bugarin, M.R., Spinola, A.G., García, P.S., Paredes, D.G. (2002). Acumulación diaria de materia seca y de potasio en la biomasa aérea total de tomate. Terra 20: 401-409.
- Burman, U., Saini, M., Kumar, P. (2013). "Effect of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedlings". Toxicol. Environ. Chem. 95:605-612.
- Chang, S.X., Robison, D. J. (2003). Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD-502 chlorophyll meter. Forest Ecology and Management, 181(3), 331-338.
- Delfani, M., Firouzabadi, M. B., Farrokhi, N. & Makarian, H. (2014). Some physiological responses of black-eyed pea to iron and magnesium nanofertilizers. Communication in Soil Science and Plant Analysis, 45, 530–540.
- Fenta, B.A., Driscoll, S.P., Kunert, K.J. & Foyer, C.H. (2012). Characterization of drought-tolerance traits in nodulated soya beans: The importance of maintaining photosynthesis and shoot biomass under drought-induced limitations on nitrogen metabolism. Journal of Agronomy and Crop Science, 198(2), 92-103.
- Fricker, M. & Willmer, C. (2012). Stomata. Springer science & business Media. The Netherlands. p. 18. ISBN 978-94-011-0579-8.
- García-Breijo F., J.; Roselló, Caselles, J; Santamarinasiurana, M., P. (2006). Introducción al funcionamiento de las plantas. Editorial: Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. 181.
- Ghafariyan, M. H., Malakouti, M. J., Dadpour, M. R., Stroeve, P. & Mahmoudi, M. (2013). Effects of magnetite nanoparticles on soybean chlorophyll. Environmental science & technology, 47(18), 10645-10652.
- Gopinath K, Gowri S, Karthika V, Arumugam A (2014) Green synthesis of gold nanoparticles from fruit extract of *Terminalia arjuna*, for the enhanced seed germination activity of Gloriosa superba. J Nanostruct Chem 4: 1–11.
- Govindjee, R. (2016). The Z-Scheme Diagram of Photosynthesis. Consultado en Agosto 20 de 2016.
- Guergova-Kuras, M., Boudreaux, B., Joliot, A., Joliot, P., & Redding, K. (2001). Evidence for two active branches for electron transfer in photosystem I. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(8), 4437-4442.





- Gutiérrez, R. M; M. P. Reynolds y A. Larqué-Saavedra (2000). Photosynthesis of wheat in a warm, irrigated environment. ii. Traits associated with genetic gains in yield. Field Crop Res. 66: 51-62.
- Gutiérrez, T. y Lavín, A. (2000). Mediciones lineales en la hoja para la estimación no destructiva del área foliar en vides cv. Chardonnay. Agricultura Técnica, 60(1), 69-73.
- Hong, F., Zhou, J., Liu, C., Yang, F., Wu, C., Zheng, L., & Yang, P. (2005). Effect of nano-TiO2 on photochemical reaction of chloroplasts of spinach. Biological trace element research, 105(1-3), 269-279.
- Kaiser, C., Franklin, O., Richter, A. y Dieckmann, U. (2015). Social dynamics within decomposer communities lead to nitrogen retention and organic matter build-up in soils. Nature communications, 6.
- Kaiser, W.M. (1987). Effects of water deficit on photosynthetic capacity. Physiologia Plantarum, 71(1), 142-149.
- Lopez-Bellido, R.J., Shepherd, C.E. y Barraclough, P.B. (2004). Predicting post-anthesis N requirements of bread wheat with a Minolta SPAD meter. European Journal of Agronomy, 20(3), 313-320.
- Mandal, M. & Mukherji, S. (2000). Changes in chlorophyll content, chlorophyllase activity, Hill reaction, photosynthetic CO2 uptake, sugar and starch contents in five dicotyledonous plants exposed to automobile exhaust pollution. Journal of Environmental Biology, 21(1), 37-41.
- Mateus, L. N. (2015). Practica de laboratorio biología celular número 6. FOTOSINTESIS.
- Mendoza, M., González, G. A., Satelices, A. A., Etcheveres, J. D. y Rincón, J. A. (1998). Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. Terra, 16, 135-141.
- Meza, N. y Bautista, D. (19999. Estimación del área foliar en plantas jóvenes de níspero (*Manilkara achras* [Miller] Fosberg) sometidas a dos ambientes de luz. Bioagro 11(1): 24-28.
- Moreno, S. G., Vela, H. P. y Álvarez, M. O. S. (2008). La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. Revista de Educación Bioquímica, 27(4), 119-129.
- Papathanasiou, F., Papadopoulos, I., Tsakiris, I., Tamoutsidis, E. (2012). Vermicompost as a soil supplement to improve growth, yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.). Journal of Food, Agriculture & Environment, 10(2), 677-682.
- Pérez-Urria, C. E. (2011). Fotosíntesis: aspectos básicos. REDUCA (Biología), 2(3).
- Pradhan, S., Patra, P., Das, S., Chandra, S., Mitra, S., Dey, K. K. & Goswami, A. (2013). Photochemical modulation of biosafe manganese nanoparticles on Vigna radiata: a detailed molecular, biochemical, and biophysical study. Environmental Science & Technology, 47(22), 13122-13131.
- Qi M, Liu Y, Li T (2013) Nano-TiO2 improve the photosynthesis of tomato leaves under mild heat stress. Biol Trace Elem Res 156(1–3):323–328.
- Raines, C. A. (2003). The Calvin cycle revisited. Photosynthesis research, 75(1), 1-10.
- Ramesh, H.P., Tharanathan, R.N. (2003). Carbohydrates—the renewable raw materials of high biotechnological value. Critical Reviews in Biotechnology, 23(2), 149-173.





- Rao, S.G., Shekhawat, S. 2014. Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*, J. Environ. Chem. Eng. 2: 105–114.
- Ruiz-Espinoza, F.H. Murillo-Amador, B., García-Hernández, J.L., Troyo-Diéguez, E., Palacios-Espinoza, A., Beltrán-Morales, A., Fenech-Larios, L., Zamora-Salgado, S. Marrero-Labrador, P. 2007. Mediciones lineales en la hoja para la estimación no destructiva del área foliar en albahaca (*Ocimun basilicum* L.). Revista Chapingo Serie Horticultura 13(1): 29-34, 2007.
- Sagi, M. y Fluhr, R. (2001). Superoxide production by plant homologues of the gp91phox NADPH oxidase. Modulation of activity by calcium and by tobacco mosaic virus infection. Plant Physiology, 126(3), 1281-1290.
- Schwender, J., Goffman, F., Ohlrogge, J.B., y Shachar-Hill, Y. (2004). Rubisco without the Calvin cycle improves the carbon efficiency of developing green seeds. Nature, 432(7018), 779-782.
- Shafiqur, R. K., Robín, R. D. y Thomas, E., S. (2000). Effects of shade on morphology, chlorophyll concentration and chlorophyll fluorescence of four Pacific Northwest conifer species. New Forests 19: 171-186. DOI: 10.1023/A:1006645632023.
- Siddiqui, M. H. & Al-Whaibi, M. H. (2014). Role of nano-SiO2 in germination of tomato (*Lycopersicum esculentum* seeds Mill.). Saudi Journal of Biological Sciences, 21(1), 13-17.
- Smith, H. (2000). Phytochromes and light signal perception by plants—an emerging synthesis. Nature, 407(6804), 585-591.
- Soltani, M., Alimardani, R., Mobli, H. & Mohtasebi, S.S. (2015). Modified Atmosphere Packaging: A Progressive Technology for Shelf-Life Extension of Fruits and Vegetables. Journal of Applied Packaging Research, 7(3), 2.
- Tarafdar, J. C., Raliya, R., Mahawar, H., & Rathore, I. (2014). Development of zinc nanofertilizer to enhance crop production in pearl millet (Pennisetum americanum). Agricultural Research, 3(3), 257-262.
- Teixeira, R.R., Bressan, G.C. y de Andrade, M.V. (2013). Synthesis of trifluoromethyl benzamides and their effects on the photosynthetic machinery. Blucher Chemistry Proceedings, 1(2), 206-206.
- Vinit-Dunand, F., Epron, D., Alaoui-Sossé, B. & Badot, P. M. (2002). Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. Plant science, 163(1), 53-58.
- Von Caemmerer, S. & Furbank, R.T. (2016). Strategies for improving C 4 photosynthesis. Current opinion in plant biology, 31, 125-134.
- Yamatani, H., Sato, Y., Masuda, Y., Kato, Y., Morita, R., Fukunaga, K., Kusaba, M. (2013). NYC4, the rice ortholog of Arabidopsis THF1, is involved in the degradation of chlorophyll–protein complexes during leaf senescence. The Plant Journal, 74(4), 652-662.
- Yamori, W., Hikosaka, K. y Way, D.A. (2014). Temperature response of photosynthesis in C3, C4, and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation. Photosynthesis Research, 119(1-2), 101-117.