

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Comparación del Efecto de la Aplicación de Nanopartículas Híbridas y
Micropartículas Elaboradas a Base de Zinc y Fe y su Efecto en la Germinación de
Semillas de Melón (*Cucumis melo*).

Por:

ROBERTO HERNÁNDEZ TAFOYA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Marzo 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Comparación del Efecto de la Aplicación de Nanopartículas Híbridas y
Micropartículas Elaboradas a Base de Zinc y Fe y su Efecto en la Germinación de
Semillas de Melón (*Cucumis melo*).

Por:

ROBERTO HERNÁNDEZ TAFOYA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:

Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Asesor Principal

Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar
Coasesor

Dr. Antonio Flores Naveda
Coasesor

Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2018

DEDICATORIAS

A Dios:

Por permitirme llegar a este momento de mi vida, por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más.

A Mi Familia:

A Mis Padres:

A mi madre **Sra. Lucia Tafoya Flores**, por estar siempre en los momentos importantes de mi vida y por sus consejos que me han sido de gran ayuda.

A mi padre **Sr. Eduardo Hernández Bravo**, gracias por haber confiado en mí y darme la oportunidad de culminar esta etapa de mi vida profesional.

A mis hermanos **Rosalinda Hernández Tafoya, Santiago Eduardo Hernández Tafoya, Juan Ramón Hernández Tafoya, José Luis Hernández Tafoya y Heriberto Hernández Tafoya** por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera universitaria, pero especialmente a **Rosalinda Hernández Tafoya y Santiago Eduardo Hernández Tafoya**.

AGRADECIMIENTOS

A mi **UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**, por haberme dado la oportunidad de formarme como profesionista y todo el apoyo que me brindó durante mi formación académica.

A la **Dra. Norma Angélica Ruiz Torres** por el apoyo que me brindó tanto en clases como fuera de ellas, y por darme la oportunidad de trabajar con mi tesis.

Al **Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar** por el apoyo brindado para llevar a cabo este trabajo de tesis.

Al **Maestro Josué Israel García López** por el apoyo brindado durante el trabajo de laboratorio.

A mis amigos y compañeros de la carrera: **Luis Hernández, Valentín Hernández, Rosa María Chávez, Araceli Alva, Miguel Ángel Tafolla, Jesús Roberto Tafoya, Héctor Alonso Hernández, Citlalli Matus, Rodrigo Grimaldo.**

A mi familia de Saltillo **Rosalinda Cepeda, Isabel Cepeda, Alejandra Quintero, Jesús Zavala Cepeda, Jesús Zavala Betancur, Johana Vargas y Magaly Maldonado** por abrirme las puertas de su casa durante mi estancia en la universidad.

Al **Dr. Humberto de León Castillo** por ser parte de mi formación académica.

Al **Ing. Raúl Gándara Huitrón** por permitirme realizar mi servicio social y por ser un gran ser humano.

Al **Dr. Antonio Flores Naveda** por el apoyo brindado en este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	ii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	iii
RESUMEN.....	4
I. INTRODUCCIÓN	6
HIPÓTESIS	7
OBJETIVO GENERAL.....	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
II. REVISIÓN DE LITERATURA	8
La nanotecnología en la agricultura.....	8
Nanopartículas de plata.....	9
Nanopartículas de silicio.....	9
Nanopartículas de óxido de zinc.....	9
Efecto de las NPs en la germinación	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	12
Ubicación del sitio del experimento.....	12
Preparación de las soluciones con nanopartículas.....	12
Imbibición de semillas de melón (<i>Cucumis melo</i>).....	12
Variables evaluadas en las semillas germinadas.....	13
Vigor de germinación	13
Porcentaje de germinación.....	14
Porcentaje de plántulas anormales.....	14
Porcentaje de semillas sin germinar.....	14
Longitud media de vástago	14
Longitud media de radícula.....	14
Peso seco de plántula.....	15
Análisis del bioensayo.....	15
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
V. CONCLUSIONES.....	25
VII. LITERATURA CITADA	26
VII. ANEXOS.....	31

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Tratamientos con NPs de ZnO, ZnO+Fe y MPs de ZnO y QFe aplicadas en semillas de melón en condiciones de laboratorio. ¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables del bioensayo de germinación en semillas de melón (Cucumis melo), tratadas con micropartículas y nanopartículas de Zn y Fe..... ¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 1 Tratamientos con NPs de ZnO, ZnO+Fe y MPs de ZnO y QFe aplicadas en semillas de melón en condiciones de laboratorio.	13
Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables del bioensayo de germinación en semillas de melón (Cucumis melo), tratadas con micropartículas y nanopartículas de Zn y Fe.....	17
Cuadro 3 Comparación de medias por tipo de partícula para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación en semillas de melón (Cucumis melo), tratadas con MPs y NPs de Zn y Fe.	20
Cuadro 4 Comparación de medias por concentración para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación en semillas de melón (Cucumis melo), tratadas con MPs y NPs de Zn y Fe.	23

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Por ciento de germinación por tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPZnOFe).	31
Anexo 2. Peso seco (mg/plántula) por tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).	31
Anexo 3. Longitud de vástago (cm) por tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).	32
Anexo 4. Longitud de radícula (cm) por tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).	32
Anexo 5. Germinación por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).	33
Anexo 6. Por ciento de plántulas anormales por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).	33
Anexo 7. Semillas sin germinar por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).	34
Anexo 8. Peso seco (mg/plántula) por concentración y tipo de partícula MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe)	34
Anexo 9. Longitud de vástago (cm) por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).	35
Anexo 10. Longitud de radícula (cm) por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).	35

RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnologías de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), con el objetivo de evaluar la efectividad biológica de nanopartículas (NPs) y micropartículas (MPs) de Zn y Fe (NPsZnO, NPsZnO+Fe, MPsQFe, y MPsZnO), como una opción para promover el vigor y germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de *Cucumis melo* Var. *TOP MARK*. Se utilizó semilla con un grado de deterioro avanzado (56 % de germinación), con el objetivo de conocer si los tratamientos mejoraban el comportamiento del vigor de germinación y otras variables relacionadas con el proceso germinativo.

Se estableció un bioensayo de germinación que constó de tratamientos con NPs y MPs a diferentes concentraciones (0, 5 y 10 ppm), cada tratamiento se conformó de 75 semillas divididas en tres repeticiones de 25 semillas cada una.

Las semillas se colocaron en cajas Petri sobre una capa de papel filtro para ser suspendidas en las concentración correspondiente de NPs y de MPs, añadiendo 20 ml de cada una con ayuda de una pipeta graduada, posterior a la aplicación las semillas se dejaron imbibir por un período de 24 horas.

Después del tratamiento con las NPs y las MPs las semillas fueron sembradas entre dos capas de papel Anchor con agua destilada, enrollándolas en forma de taco, los cuales fueron colocados en bolsas de polietileno transparente acomodados por tratamiento y situados en contenedores de plástico para ser introducidos en una cámara bioclimática a una temperatura de 25°C y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad.

Al cuarto día se realizó el primer conteo del número de plántulas normales para estimar el porcentaje de vigor de germinación.

Posteriormente, al séptimo día se estimaron los porcentos de germinación, de plántulas anormales y de semillas sin germinar, también se midió la longitud de

vástago y de radícula en las plántulas normales de cada tratamiento y se estimó el peso seco de plántula expresado en mg/plántula.

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4 x 3. Se llevó a cabo un análisis de varianza con los datos de las variables evaluadas, para determinar las diferencias estadísticas entre tipos de partícula (NPs y MPs) y entre concentraciones, posteriormente se realizó una comparación de medias utilizando la prueba estadística de Tukey ($P \leq 0.05$), para establecer el orden de eficiencia de los tratamientos utilizando el programa SAS Institute (2004).

Los resultados obtenidos indicaron que las NPsZnO+Fe mejoraron la respuesta de la variable longitud de vástago a una concentración de 5 ppm. Esto hace referencia a que la aplicación de NPs metálicas a bajas dosis ejercen una influencia positiva en la expresión de variables asociadas primordialmente con los procesos de imbibición y de germinación, actuando como elementos promotores del crecimiento y el desarrollo de plántulas en las primeras etapas fisiológicas del cultivo.

Palabras clave: Germinación, Nanopartículas, Micropartículas, Fierro, Zinc.

I. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología (NT) es una tecnología que posee hoy en día un gran interés para el desarrollo de productos agrícolas, para reducir el uso de productos agroquímicos para la mejora de los rendimientos en los cultivos (Ruiz Torres et al., 2016). De acuerdo con Carrillo González et al. (2009), la agricultura es la segunda área de aplicación de la NT, después del área energética. Posee un gran potencial para revolucionar los sistemas de producción agrícola (Razzaq *et al.*, 2016).

La NT se considera una herramienta tecnológica viable para mejorar la producción en la agricultura de precisión, y hacer un uso más eficiente del agua. Además, Srilatha (2011), hace referencia a que la agricultura es un área donde la NT dará beneficios propicios para la mejora de la productividad de los cultivos.

Hoy en día existe un gran número de productos derivados de la NT, entre ellos destacan nanopartículas (NPs). Existen cuantiosas investigaciones en curso para el estudio fundamental de las propiedades y aplicaciones de este tipo de nanomateriales, a el fin de obtener innovaciones en productos farmacéuticos, de cuidado personal, plásticos, alimentos, electrónica, mecánica etc., además de poseer potencial para su aplicación en la agricultura (Tsuzuki, 2009).

Actualmente el Centro de Investigación en Química Aplicada y el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo, Coahuila, México, están realizando investigación en conjunto, para estudiar la respuesta derivada de la aplicación de nanopartículas durante los procesos de imbibición y de germinación de semillas, y han encontrado resultados satisfactorios, en cuanto a promoción del vigor.

En relación a lo anterior el motivo de este estudio fue la evaluación del efecto de la aplicación de nanopartículas y micropartículas de Zn y Fe (MPsQFe, MPsZnO, NPZnO y NPZnOFe) en semillas deterioradas de melón (*Cucumis melo*) Var. TOP MARK, para determinar si existe promoción de un incremento en la germinación y el vigor de plántulas.

HIPÓTESIS

1. Al menos uno de los tratamientos aplicados durante la imbibición de semillas con nanopartículas y micropartículas de Zn y Fe (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO y NPsZnOFe), estimulará el vigor de germinación y el crecimiento de plántulas de *Cucumis melo*, en comparación con el testigo.

2. El empleo de nanopartículas de Zn y Fe (NPsZnO y NPsZnOFe) generará un efecto superior en la promoción del crecimiento y desarrollo de plántulas en comparación con plántulas tratadas con micropartículas (MPsQFe y MPsZnO).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad biológica de la aplicación de suspensiones con nanopartículas y micropartículas de Zn y Fe (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO y NPsZnOFe), en semillas de melón, durante la imbibición, y sus efectos en el crecimiento y desarrollo de plántulas de *Cucumis melo*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el tipo de partícula (NPs y MPs) que genera una mejor respuesta en variables asociadas con los procesos de imbibición y de germinación en semillas de *Cucumis melo*.
- Determinar a qué concentración la aplicación de NPs y MPs genera una mejor respuesta en el crecimiento y el desarrollo de plántulas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

La nanotecnología en la agricultura

La nanotecnología (NT) se refiere al uso y aplicación de estructuras de tamaño de 1-100 nm (Farokhzad y Langer, 2009), con gran relevancia para aplicaciones a futuro en áreas como la agricultura, la acuicultura, la producción, envasado, y alimentación (Sandhya *et al.*, 2017). Esta tecnología aumenta las esperanzas de mejorar la productividad agrícola; recientemente se ha comenzado a utilizar para mejorar la eficiencia de los fertilizantes en la agricultura de precisión, aplicando solamente la cantidad necesaria en el momento adecuado (Cinnamuthu y Murugesu, 2009).

El uso de las nanopartículas (NPs) puede tener soluciones concretas contra problemas como lo es el control de plagas de insectos, ya que los sistemas tradicionales tienen efectos negativos. Además, la transferencia de genes mediadas por NPs sería útil para el desarrollo de variedades mejoradas resistentes a plagas de insectos (Azeredo *et al.*, 2009).

Otras aplicaciones de la NT dentro de la agricultura incluyen el manejo de plagas a través de formulaciones de plaguicidas basados en nanomateriales, el empleo de NPs bioconjugadas (encapsuladas) para la liberación lenta de nutrientes, así como el uso de nanomateriales para la fabricación de diferentes tipos de nanosensores (Raí *et al.*, 2012). Los nanosensores se han desarrollado para tener un control de las condiciones ambientales, así como la interacción de los agentes patógenos y plantas (Ghormade *et al.*, 2011).

El óxido de zinc se ha utilizado como bloqueador de la luz UV en cosméticos, así como por sus propiedades antibacteriales en industrias alimenticias y en telas de algodón (Padmavathy, 2008).

Nanopartículas de plata

Estas NPs poseen un gran potencial en aplicaciones biomédicas como agentes bactericidas, funguicidas, antivirales o cicatrizantes. (Mange, 2009).

También se ha observado que las NPs_{Ag} incrementan la tasa de germinación en semillas de calabacita y sandía, además de aumentar la el desarrollo de plántula (Almutairi y Alharbi, 2015).

Nanopartículas de silicio

Adhikari *et al.* (2013) realizaron un estudio en el que se evaluaron NPs de óxido de silicio (SiO₂, 10-20 nm) y su efecto potencial en la germinación de semilla de arroz, observando un incremento.

Nanopartículas de óxido de zinc

Las nanopartículas de óxido de zinc (NPs_{ZnO}) han sido estudiadas por sus propiedades antimicrobianas en áreas como la industria textil, alimentación animal, aplicaciones con potencial médico y tratamientos de aguas (Alvarado *et al.*, 2014).

De acuerdo con Lira *et al.* (2014), las NPs de óxido de zinc actúan como un agente antifúngico, y puede ser una alternativa para reducir el uso de fungicidas sistémicos, los cuales tienen efecto residual en agroecosistemas debido al impacto negativo que ocasionan.

Efecto de las NPs en la germinación

Chinnamuthu y Boopathi (2009) mencionan que las NPs pueden ser usadas en el manejo semillas, una de las aplicaciones es la nanencapsulación con cepas específicas de bacterias, a las cuales se les denominadas "semillas inteligentes", que asegura su establecimiento en campo, mejorando también el rendimiento de los cultivos. Asimismo, indican que la aplicación NPs mejora la germinación de las semillas y los parámetros fisiológicos relacionados con dicho proceso.

Janmohammadi y Sabaghnia (2015) sugieren que la utilización de NPs como un pretratamiento en semillas mejora el porcentaje de germinación. La aplicación de NPs estimula la germinación de la mayoría de las especies, pero su respuesta está en función de la concentración y el genotipo.

De acuerdo a Mahmoodzadeh *et al.* (2013), el efecto de las NPs comienza a manifestarse desde la germinación de las semillas, reflejándose en una mayor emergencia y uniformidad en la germinación final; esto se debe principalmente a la penetración de los nanomateriales en las semillas, que permiten la imbibición de agua y micronutrientes, acelerando la degradación de reservas, beneficiando las primeras etapas del proceso germinativo.

Abbasi *et al.* (2016) indica que las NPs de plata y sílice tienen un efecto positivo en la germinación de semillas y en variables del crecimiento de plántulas, pudiendo tener un impacto significativo para aplicaciones agrícolas a fin de mejorar el crecimiento y rendimiento de los cultivos.

Saeid y Hojjat (2016) mencionan que la aplicación de NPs de plata no influyó sobre la germinación de semillas de lentejas, aunque la interacción de la semilla con las NPs disparó el crecimiento de longitud de la raíz y acumulación de materia seca, por lo que el efecto de las NPs en semillas y plantas puede ser positivo o negativo, dependiendo de la genética de la especie.

Las NPs de óxido de hierro (FeO) en plantas demostraron un efecto positivo sobre el crecimiento de cereales en diversas etapas de su desarrollo (Barrera, 2015). Las NPs de magnetita incrementa los niveles de concentración de clorofila, que es el principal pigmento de la fotosíntesis y de los ácidos nucleicos, además de generar un efecto positivo en el incremento de la enzima catalasa, la cual está implicada en la descomposición de peróxido de hidrógeno, por lo que las NPsFeO son una fuente de suministro de hierro que exhibe un comportamiento superparamagnético, que podría tener una influencia magnética sobre la estructura enzimática de las diferentes reacciones de la fotosíntesis.

El reciente trabajo de Méndez-Arguello (2016), señala que diversas partículas metálicas como el Zn, Cu y Fe, actúan como promotores del crecimiento de plantas de pimiento. Debido a eso, los nanofertilizantes son uno de los productos potenciales que podrían ser una innovación importante para la agricultura, ya que las NPs son muy pequeñas, permiten la interacción mejorada y la absorción eficiente de los nutrientes por hojas y raíces para la fertilización del cultivo.

En las plantas, el Zn influye sobre los procesos fotosintéticos, siendo un componente esencial de varios sistemas de enzimas para la producción de energía, la regulación y síntesis de proteínas, el mantenimiento de la integridad de la membrana de la raíz; así mismo, interviene en el crecimiento y la fisiología de la planta. Se dice que este elemento tiene un papel en la resistencia/ tolerancia a organismos patógenos (Webb, 1994). El hierro es un elemento asociado con el desarrollo de los cloroplastos, la síntesis de ferredoxina y la de clorofila (Guzmán Palomino y López Gálvez, 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del sitio del experimento

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

Preparación de las soluciones con nanopartículas

Las soluciones con NPsZnO, NPsZnO+Fe, MPsZnO y MPsQFe (Quelato de hierro) se prepararon a concentraciones de 0, 5 y 10 ppm en agua destilada. Cada suspensión se sometió a un proceso de agitación durante diez minutos, para asegurar la dispersión de las NPs, para lo cual se utilizó un Vortex (Labnet).

Imbibición de semillas de melón (*Cucumis melo*)

Para determinar el efecto de las NPs y de las MPs en la germinación de semillas de melón (*Cucumis melo*) de la variedad TOP MARK, se estableció un bioensayo, que consistió de cuatro tipos de partículas (NPsZnO, NPsZnO+Fe, MPsZnO, y MPsQFe) a tres concentraciones diferentes (0, 5 y 10 ppm) cada uno. Cada tratamiento constó de 75 semillas, divididas en tres repeticiones de 25, las cuales se trataron con la suspensión respectiva de NPs o de MPs y se sometieron a un proceso de imbibición por 24 horas.

Posterior al tratamiento y con la ayuda de unas pinzas de disección, las semillas se sembraron entre dos capas de papel Anchor humedecidas con agua destilada, enrollándolas en forma de taco, los cuales se colocaron en bolsas de plástico transparente ordenados por tratamiento y se situaron en una cámara bioclimática (Thermo Scientific) a una temperatura de 25 °C humedad relativa de 75% y fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad. El bioensayo se

estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4 x 3, cuatro tipos de partícula a tres concentraciones diferentes.

Cuadro 1 Tratamientos con NPs de ZnO, ZnO+Fe y MPs de ZnO y QFe aplicadas en semillas de melón en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Concentración
NPs/MPs	ppm
NPsZnO	0
	5
	10
NPsZnO+Fe	0
	5
	10
MPsZnO	0
	5
	10
MPsQFe	0
	5
	10

ppm = partes por millón; NPs = nanopartículas; MPs = micropartículas.

Variables evaluadas en las semillas germinadas

Vigor de germinación

Al cuarto día después de la siembra, se realizó el primer conteo para determinar el número de plántulas normales, expresado en porciento, a fin de conocer el vigor de germinación de la semilla, parámetro que representa la velocidad y uniformidad de la germinación, considerando como plántulas normales a aquellas que poseen todas sus partes (radícula y vástago) sin ninguna anomalía visible.

Porciento de germinación

Al doceavo día después de la siembra se realizó la evaluación final del bioensayo, realizando el segundo conteo para determinar el número total de plántulas normales expresado en porciento.

Porciento de plántulas anormales

Se consideraron todas aquellas plántulas que presentaron un desarrollo irregular en alguna de sus estructuras morfológicas, o que carecen de las mismas.

Porciento de semillas sin germinar

En esta categoría se incluyeron todas aquellas semillas duras o muertas que no tuvieron la capacidad de germinar, el resultado se expresó en porcentaje.

Longitud media de vástago

Se midieron todas las plántulas normales de cada tratamiento y repetición, utilizando una tabla con hoja milimétrica y se expresó en porciento.

Longitud media de radícula

En las plántulas normales obtenidas de cada tratamiento se midió la longitud de radícula y se expresó en cm, con ayuda de una tabla con hoja milimétrica.

Peso seco de plántula

Una vez realizada la evaluación del bioensayo, se tomaron las plántulas normales de cada repetición por tratamiento y se colocaron en bolsas de papel de estraza, previamente identificadas, las cuales se pusieron en una estufa de secado (Riossa modelo H-48), a una temperatura de 72 °C por un período de 24 horas. Posteriormente, se sacaron las muestras de la estufa y se pusieron en un desecador, a fin de evitar que tomaran humedad del ambiente, mientras se enfriaban durante 10 minutos. Enseguida se pesó cada muestra en una balanza analítica (Precisa modelo BJ610C), para determinar el peso de materia seca expresado en mg/plántula.

Análisis del bioensayo

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza, para detectar la existencia de diferencias estadísticas entre tipos de NPs y MPs, y entre concentraciones, también se realizó una comparación de medias utilizando la Prueba estadística de Tukey ($P \leq 0.05$), para establecer el orden de eficiencia de los tratamientos. Todos los análisis estadísticos fueron efectuados utilizando el software SAS versión 9.1 (SAS Institute, 2004).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Acorde con los resultados obtenidos del análisis de varianza del bioensayo de germinación de semillas *C. melo* (Cuadro 1) sometidas a diferentes concentraciones de NPs y MPs de Zn y Fe, se obtuvo para la fuente de variación tipo de partícula (NPMP), que existen diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para la variable longitud de vástago, mientras que la variable porcentaje de semillas sin germinar presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Es importante mencionar que la semilla no presentó vigor de germinación (0 %), por lo que no se incluyó en el análisis de varianza.

Para la fuente de variación concentración de NPs y de MPs, se mostraron diferencias ($P \leq 0.01$) para las variables porcentaje de germinación, porcentaje de semillas sin germinar, longitud de vástago y longitud de radícula, mientras que el porcentaje de plántulas anormales presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Sin embargo, para la variable peso seco de plántula no se encontraron diferencias significativas (Cuadro 1).

Por otro lado, en lo que respecta a la interacción tipo de partícula por concentración, todas las variables evaluadas (porcentaje de germinación, porcentaje de plántulas anormales, porcentaje de semillas sin germinar, peso seco de plántula, longitud de vástago y longitud de radícula) mostraron diferencias altamente significativas.

Estos resultados hacen referencia a que la aplicación de NPs y de MPs metálicas influyen en la expresión de algunas de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación, principalmente en las relacionadas con el vigor de la plántula.

En este estudio, las semillas se sometieron a diferentes tratamientos con suspensiones conteniendo NPs y MPs, sin embargo, las semillas presentaron nulo vigor de germinación al cuarto día después de la siembra. Por lo anterior, no se presentan resultados de esta variable en los Cuadros 1, 2 y 3.

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables del bioensayo de germinación en semillas de melón (*Cucumis melo*), tratadas con micropartículas y nanopartículas de Zn y Fe.

F.V.	GL	GERM (%)	PA (%)	SSG (%)	PS mg/pt	GL	LP (cm)	LR (cm)
NPMP	3	76.29NS	72.74NS	101.33*	0.67NS	3	26.31**	31.77NS
CONC	2	1029.33**	189.77*	349.77**	0.12NS	2	39.16**	60.39**
NPMP*CONC	6	966.51**	231.85**	268.00**	1.94**	6	55.06**	77.13**
ERROR	24	66.22	51.11	15.77	11.23	583	4.88	5.6
CV %		12.26	39.96	34.58	6.23		25.42	20.69

*, ** Niveles de significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente; GL= Grados de libertad; NPMP=Tipo de partícula; GERM= Plántulas normales al segundo conteo; PA= plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántula; LP= Longitud de vástago; LR= Longitud de radícula; pt= Plántula.

Al realizar la comparación de medias por tipo de partícula (Cuadro 3) los resultados indican que existen diferencias estadísticas para el porcentaje de semillas sin germinar y longitud de vástago.

Al aplicar NPs ZnO+Fe en la variable longitud de vástago se obtuvieron los mejores resultados, sin embargo, con la aplicación de MPsQFe, NPsZnO y MPsZnO fueron estadísticamente iguales.

En el caso de las variables porcentaje de germinación (Anexo 1), porcentaje de plántulas anormales, peso seco de plántula (Anexo 2), y longitud de radícula (Anexo 4) los resultados indican que la aplicación de NPs y MPs no generó efecto alguno en la expresión de estas variables.

La aplicación de NPsZnO + Fe genera una respuesta positiva en la expresión de la variable longitud de vástago (Anexo 3), sin embargo, al aplicar MPsQFe la tendencia es estadísticamente igual, lo anterior permite señalar que la aplicación de este tipo de NPs mejora los procesos de elongación celular y por lo tanto el crecimiento y desarrollo del tallo. La longitud de radícula mostró responder estadísticamente igual a todos los tratamientos, sin embargo, numéricamente la aplicación de MPsQFe mejoró la expresión de esta variable (Anexo 4).

Los resultados coinciden con lo mencionado por Sedghi *et al.* (2013), autores que indican que en semillas de soja *Glycine max*, al aplicar una dosis de 1 g L^{-1} de NPsZnO, se promovieron efectos significativos en la germinación y el crecimiento de plántulas tratadas con NPs,

Quispe Challco (2010) indica que las NPsZnO son utilizadas por la función que tienen en las plantas, ya que pueden corregir las deficiencias de zinc, promoviendo el crecimiento y desarrollo de las mismas, lo cual coincide con los resultados observados en este estudio, donde se presentó mayor longitud de vástago.

Por otra parte, el hierro es activador enzimático, cofactor de sistemas como el citocromo oxidasa (transporte de electrones en respiración), y enzimas involucradas en la síntesis de clorofila. Participa también en la asimilación del

nitrógeno y es requerido para la síntesis de proteínas (Marschner, 1995). Considerando lo anterior, es posible que la mayor longitud de vástago se deba principalmente al hierro presente en el nanohíbrido (NPsZnO + Fe).

Cuadro 3 Comparación de medias por tipo de partícula para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación en semillas de melón (*Cucumis melo*), tratadas con MPs y NPs de Zn y Fe.

Partícula	GERM (%)	PA (%)	SSG (%)	PS mg/pt	LV (cm)	LR (cm)
NPsZnO	65 a	15 a	20a	11.60a	8.60ab	11.28a
MPsZnO	69 a	16 a	15ab	11.11a	8.20 b	11.52a
NPsZnO+Fe	63 a	21a	16ab	10.96a	9.02a	11.12a
MPsQFe	68 a	20 a	12 b	11.27a	8.95a	11.78a
	66	18	16	11.23	8.68	11.43
Tukey (0.05)	10.58	9.29	7.09	0.91	0.66	0.7

Medias con la misma literal son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$); GERM= Plántulas normales al segundo conteo; PA= plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántula; LP= Longitud de vástago; LR= Longitud de radícula.

Se observó que la aplicación de 5 ppm generó los mejores resultados para la expresión de las variables porcentaje de germinación, longitud de vástago y longitud de radícula, sin embargo, al aplicar 10 ppm se presenta una tendencia similar. Con la aplicación de 5 ppm se obtuvo un incremento de 28.57 % en el porcentaje de germinación (72 %), esto con respecto al testigo que presentó 56 %. Asimismo, se presentó una reducción significativa de plántulas anormales y semillas sin germinar (Cuadro 3). El porcentaje de semillas sin germinar en el testigo (0 ppm) mostró el valor más alto (22 %) respecto a los valores obtenidos para las concentraciones de 5 (13%) y 10 ppm (12 %), esto hace referencia a que la aplicación de NPs y MPs disminuyen notoriamente el número de semillas de este tipo, propiciando una mejora en el proceso de germinación de las semillas, sin embargo, no estimula ni promueve la expresión del vigor de germinación, cuya expresión no se manifestó en este estudio.

La aplicación de NPs y MPs en 5 y 10 ppm también promovieron el crecimiento del vástago y de la radícula, sin embargo, para la variable (LR) las concentraciones fueron estadísticamente iguales, mientras que para (LV) el mejor resultado se obtuvo con 10 ppm. Por ejemplo, con 10 ppm se obtuvo una longitud de vástago de 9.01 cm y con 5 ppm de 8.69 cm, mientras que para radícula se presentó una longitud de radícula 11.67 (10 ppm) y con 5 ppm 11.59 cm.

El vigor según Ferguson (1995), se basa en el comportamiento físico o fisiológico de un lote de semillas, e incluye: 1) los cambios en los procesos bioquímicos, 2) la tasa y uniformidad de la germinación y el crecimiento de las plántulas, y 3) la germinación o capacidad de emergencia de las semillas al ser expuestas a condiciones de estrés.

Los resultados antes descritos hacen referencia a que la aplicación de NPs y MPs metálicas poseen una influencia positiva en variables relacionadas principalmente con los procesos de imbibición y de germinación, actuando como elementos promotores del crecimiento y el desarrollo de plántulas.

Ramesh *et al.* (2014) señalan que las NPsZnO en concentraciones altas promueven incrementos significativos de clorofila y proteínas en plántulas de trigo, mientras que en semillas de cebolla la aplicación de concentraciones bajas mejoró la germinación.

En una investigación llevada a cabo por Savitharamma *et al.* (2012), encontraron que la aplicación de NPs de plata sobre semillas de *Boswellia ovalifoliolata*, un árbol medicinal endémico y amenazado de la india, mejoró la germinación de estas semillas. El experimento consistió en un ensayo de germinación de semillas en medio Murashige y Skoog sin reguladores de crecimiento, a cuatro concentraciones diferentes 0, 10, 20 y 30 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ de NPs de Ag. Los resultados obtenidos indicaron que el tratamiento con NPs de plata obtuvo una germinación de 95%, mientras que el testigo solo obtuvo el 70%.

Krishna y Natajaran (2014) mencionan que las NPs de zinc, plata y dióxido de titanio mejoran la velocidad de germinación en semillas de cacahuete. El beneficio puede atribuirse a una mayor producción de enzimas responsables de las reacciones metabólicas, por lo que al incrementar los niveles de ácido indol acético, en las raíces y brotes es posible aumentar el vigor de las semillas.

Cuadro 4 Comparación de medias por concentración para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación en semillas de melón (*Cucumis melo*), tratadas con MPs y NPs de Zn y Fe.

Concentración (ppm)	GERM (%)	PA (%)	SSG (%)	PS mg/plántula	LV (cm)	LR (cm)
0	56 b	22a	22a	11.34a	8.26 b	10.92 b
5	72a	15 b	13 b	11.13a	8.69ab	11.59a
10	71a	17ab	12 b	11.24a	9.01a	11.67a
\bar{x}	66	18	16	11.23	8.68	11.43
Tukey (0.05)	8.29	7.28	5.56	0.71	0.52	0.56

Medias con la misma literal son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$); GERM= Plántulas normales al segundo conteo; PA= plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántulas; LV= Longitud de vástago; LR= Longitud de radícula.

Por otro lado, Almutairi y Alharbi (2015) estudiaron los efectos de NPsAg en el porcentaje de germinación, longitud de raíz, peso fresco y peso seco en plántulas de sandía, maíz y calabaza, utilizando concentraciones de 0.05, 0.1, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.0 mg/ml en semillas durante el proceso de germinación. Las especies respondieron de manera diferente, ya que sólo en semillas de sandía y calabacita tratadas el porcentaje de germinación se incrementó en comparación con semillas no tratadas. Las NPs Ag mostraron un efecto tóxico e inhibición del crecimiento de radícula de maíz, por lo que este estudio demostró que puede presentarse efectos negativos y positivos en la germinación dependiendo de la respuesta del cultivo.

En este trabajo de investigación, también se evaluó la interacción entre los dos factores en estudio, encontrando que al conjuntar el tipo de NPs o MPs y las diferentes concentraciones, sobresale la respuesta a la aplicación NPsZnO, ya que se obtiene mayor porcentaje de germinación (Anexo 5), menor porcentaje de plántulas anormales (Anexo 6) y de semillas sin germinar (Anexo 7), peso seco de plántula equiparable a los otros tratamientos (Anexo 8), y algo muy importante mayor longitud de vástago y de radícula (Anexos 9 y 10).

Lo anterior coincide con Moghadam *et al.* (2015), quienes indican que la aplicación de NPs metálicas en plantas genera un mayor porcentaje de germinación, tasa de crecimiento, biomasa de raíz y brotes, propiciando un aumento en parámetros fisiológicos y en las actividades fotosintéticas y metabólicas de los cultivos.

V. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos de este estudio se concluye que la aplicación de nanopartículas y micropartículas metálicas elaboradas a base de Zn y Fe (NPsZnO + Fe y MPsQFe) mejoran la expresión y la respuesta de variables asociadas con el proceso de germinación de semillas de melón (*Cucumis melo*).

La variable longitud de vástago y longitud de radícula mostró mayor elongación, posiblemente como resultado del incremento en la división celular respecto al testigo, al aplicar NPsZnO + Fe o MPsQFe a 5 y 10 ppm. Sin embargo, el peso seco no se vio afectado ni por el tipo de partícula, ni por la concentración.

Tratar las semillas con suspensión a 5 y 10 ppm de NPsZnO + Fe o MPsQFe durante la imbibición tiene resultados estadísticamente iguales y superiores al testigo.

Por otro lado, el vigor de germinación permaneció sin efecto alguno durante la ejecución del bioensayo y no se manifestó en este estudio, ya que la semilla utilizada presentaba un alto nivel de deterioro y ningún tipo de partícula (NPs y MPs) ejerció efecto alguno, ni como inductor, ni como promotor de la manifestación de este parámetro de calidad fisiológica.

Lo anterior nos conduce a la conclusión de que la aplicación de bajas concentraciones de NPsZnO + Fe o de MPsQFe, mejora la expresión de variables fisiológicas asociadas principalmente con el proceso de germinación de las semillas, y se proponen como una opción para la mejora de la productividad de los cultivos durante las primeras etapas de crecimiento y desarrollo de las especies agrícolas siempre y cuando se utilicen en las dosis adecuadas para cada especie en particular.

VII. LITERATURA CITADA

- Abbasi, M., A. Ghorbani, and M. Moameri. 2016. Effect of silica and silver nanoparticles on seed germination traits of thymus kotschyanus in laboratory conditions. *Journal of Rangeland Science* 6(3): 222-231.
- Adhikari, T., S. Kundu and A. Subba Rao. 2013. Impact of SiO₂ and Mo nanoparticles on seed germination of rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*. 4(8): pp. 809-816.
- Almutairi, Z. M., and A. Alharbi. 2015. Effect of silver nanoparticles on seed germination of crop plants. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* Vol: 9, No:6, 2015
- Alvarado R., F. Solera, J. Vega. 2014. Síntesis son químicas de nanopartículas de óxido de zinc y de plata estabilizadas con quitosano. Evaluación de su actividad antimicrobiana. *Revista iberoamericana de polímeros*. pp. 134-148.
- Azedero, H., L.H.C Mattoso, D. Wood. T.G. Williams., R.J. Avena-Bustillos and T.H. McHugh. 2009. Nanocomposite edible films from mango pure reinforced with cellulose nanofibers. *Journal of Food Science*. 74(5): pp. 31-35.
- Barrera Soto, M. D. 2015. Evaluación del efecto de nanopartículas de óxido de fierro y un elicitador sobre el crecimiento en plantas de *Solanum lycopersicum* L. pp. 5- 23.
- Carrillo González, R. y M. del C. A. González Chávez. 2009. La nanotecnología en la agricultura y rehabilitación de suelos contaminados. pp. 14

- Chinnamuthu C.R. y M. Boopathi. 2009. Nanotechnology and agroecosystem. Tamil Madras Agric. J. pp. 17-31.
- Farokhzad, O. C. y R. Langer. 2009. Impact of nanotechnology on drug delivery. ACS Nano 3: pp.16-20.
- Ferguson, J. 1995. An introduction to seed vigor testing. In: Seed vigor testing seminar. Zurich: International Seed Testing Association. pp. 1-9.
- Ghormade, V., M.V. Despande and K.M. Poknikar. 2011. Perspectives for nanobiotechnology enabled protection and nutrition of plants. Biotechnology Advances. 29(6) pp. 792-803.
- Guzmán Palomino, J.M. y J. López Gálvez. 2004. Ferti-riego, tecnologías y programación en agroplasticultura. Confederación Iberoamericana. Almería, España. p. 31
- Janmohammadi, M., N. Pornour, A. Javanmard, y N. Sabaghnia. 2016. Effects of bio-organic, conventional and nanofertilizers on growth, yield and quality of potato in cold steppe. Botanica Lithuanica. 22(2): pp.133-134.
- Krishna, K. and N. Natarajan. 2014. Customizing zinc oxide, silver and titanium dioxide nanoparticles for enhancing groundnut seed quality. Indian Journal of science and Technology 7(9): pp.1376-1381.
- Lira-Saldivar, R.H., C. F. Jorge., H. S. Marcela., B. G. Rebeca., G. C. L. Alfonso., P. U. Bertha. 2014. Actividad antifúngica de nanopartículas de cobre y óxido de zinc-plata contra *Botrytis cinérea*. Departamento de materiales Avanzados del Centro de Investigación en Química Aplicada. p. 7.

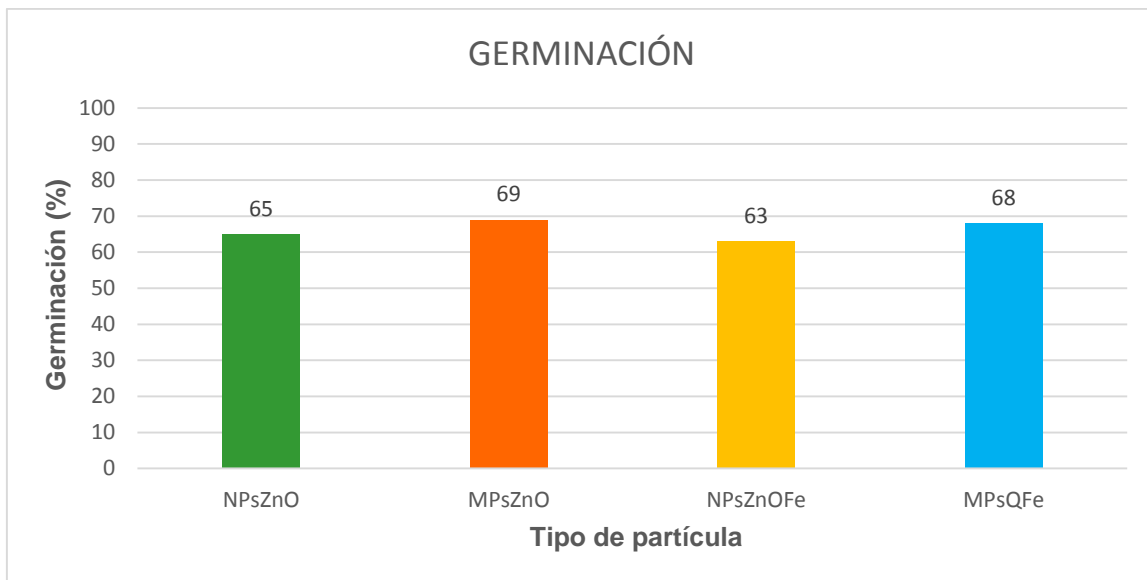
- Mahmoodzadeh, H., M. Nabavi, and H. Kashef. 2013. Effect of nanoscale titanium dioxide particles on the germination and growth of canola (*Brassica napus*). *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*. 3 (1): pp. 30.
- Mange, M. 2009. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Real Sociedad Española de Química*. *Ann. Quim.* 105 (1), pp. 33-41.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Germany. Academic Press. 672 p.
- Méndez Argüello, B., I. Vera Reyes, E. Mendoza -Mendoza, L.A. García-Cerda, B.A. Puente-Urbina y R.H. Lira-Saldívar. 2016. Growth promotion of *Capsicum annum* plants by zinc oxide nanoparticles. Departamento de plásticos en la agricultura, centro de investigación en Química Aplicada, Saltillo, Coahuila. *Nova Scientia*. 8(17) pp.18.
- Moghadam, M. M., and Motalled, G. 2015. Nanoparticles and plant Biotechnology. *Research in Biotechnology*. 6(5) pp1-15.
- Padmavathy, N., and R. Vijayaraghavan. 2008. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles- an antimicrobial study. *Science and technology of advanced materials*, 9(035004), pp.1-7.
- Quispe Challo, C. R. 2010. Nanotecnología en la agricultura. *Revista de Información, Tecnología y Sociedad*. pp. 72-73.
- Rai, M. y A. Ingle. 2012. Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect pests. *Applied Microbiology and Biotechnology* 94 (2). pp. 287- 293.

- Ramesh, M., K. Palanisamy, K. Babu and N. Kumar Sharma. 2014. Effects of bulk and nano-titanium dioxide and zinc on physio-morphological changes in (*Triticum aestivum* Linn). Journal of global Biosciences. 3 (2): pp. 415-422.
- Razzaq A., R. Ammara, H. M. Jhanzab, T. Mahmood, A. Hafeez, S. Hussain. 2016. A Novel Nanomaterial to enhance growth and yield of Wheat. Journal of Nanoscience and Technology. pp. 55-58.
- Ruiz Torres, N. A., J. L. I. García-López, R. H. Lira Saldívar, I. Vera-Reyes, y B. Méndez Arguello. 2016. Efecto de nanopartículas metálicas y derivadas del carbón en la fisiología de semillas. In R. H. Lira Saldívar, y B. Méndez Arguello, Agronano Tecnología Nueva frontera de la Revolución Verde. Saltillo, Coah. UAAAN. pp. 42-60.
- Saeid Hojjat, S., and H. Hojjat. 2016. Effects of silver nanoparticles exposure on germination of Lentil (*Lens culinaris* Medik.). International Journal of Farming and Allied Sciences 5(3): pp. 248-252.
- Sandhya, M., C. Kaswani, P.C. Abhilash, L. F. Fraceto, H. Bahadur Singh. 2017. Integrated Approach of Agri-nanotechnology: Challenges and Future Trends. Front. Plant Sci. 8:471 doi:[10.3389/fpls.2017.00471](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00471).
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT ® 9.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 1521 p.
- Savitharamma, N., S. Ankanna and G. Bhumi. 2012. Effect of nanoparticles on seed germination and seedling growth of *Boswellia ovalifoliolata* – an endemic and endangered medicinal tree taxon. Department of botany Tirupati, Andhara Pradesh, India. pp. 63-64.

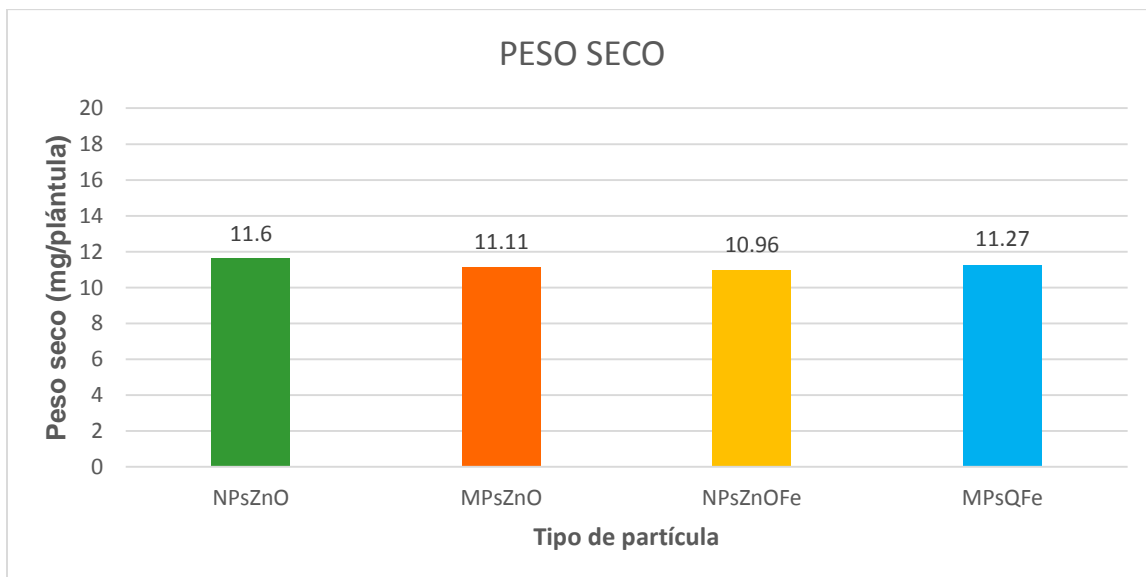
- Sedghi, M., M. Hadi, S. G. Toluie. 2013. Effect of nano zinc oxide on the germination parameters of soybean seeds under drought stress. *Annals. West Univ. Timisoara Ser. Biol.* 16 (2): pp. 73-78.
- Srilatha, B. 2011. Nanotechnology in agriculture. *Journal Nanomedic Nanotechnology.* Vol. 2. pp.123-128.
- Tsuzuki, T. 2009. Commercial scale production of inorganic nanoparticles. *International Journal of Nanotechnology.* pp. 568-578.
- Webb, J.M. 1994. Biochemistry of metal micronutrients in the rhizosphere. *In: A.J. Manthey, E.D. Crowley y G.D. Luster (eds.). Recent aspects of Mn and Zn absorption and translocation in cereals.* CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 183-199.

VII. ANEXOS

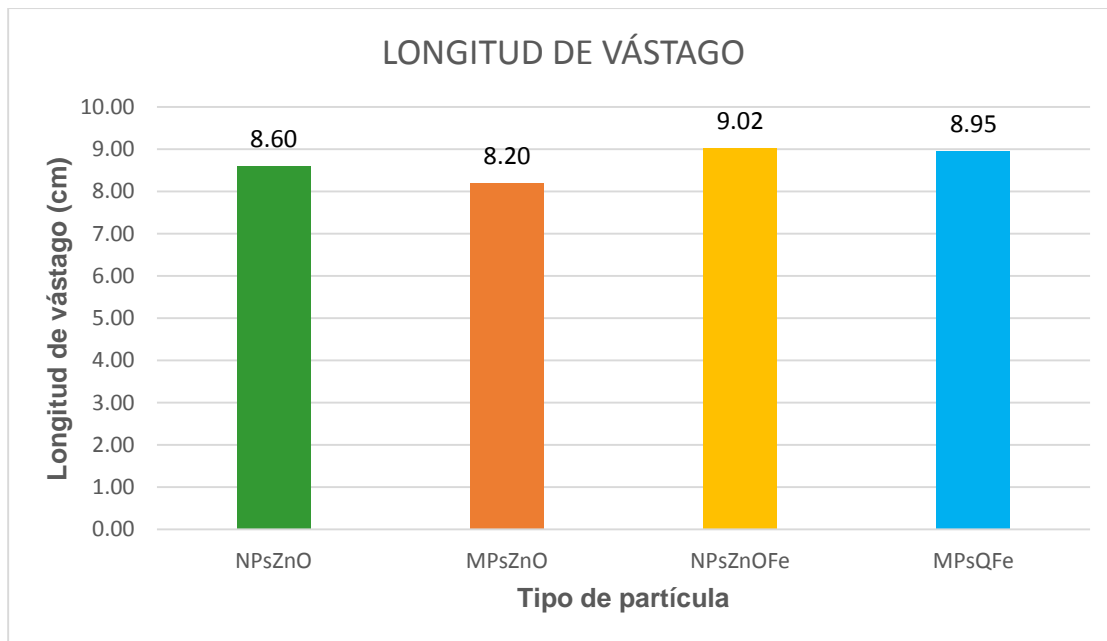
Anexo 1. Porcentaje de germinación por tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).



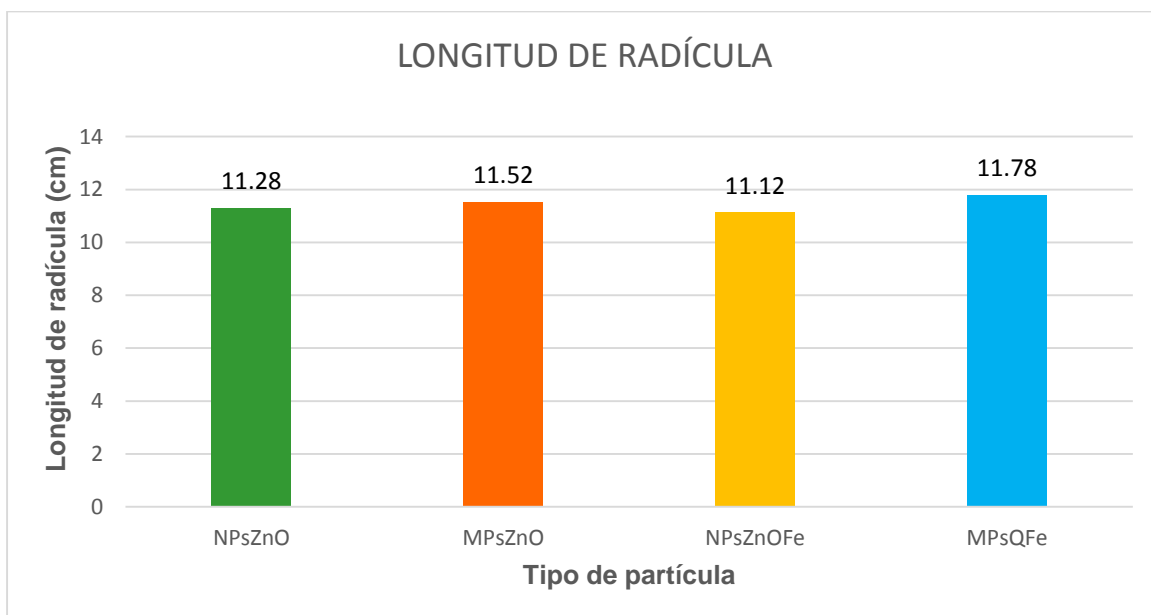
Anexo 2. Peso seco (mg/plántula) por tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).



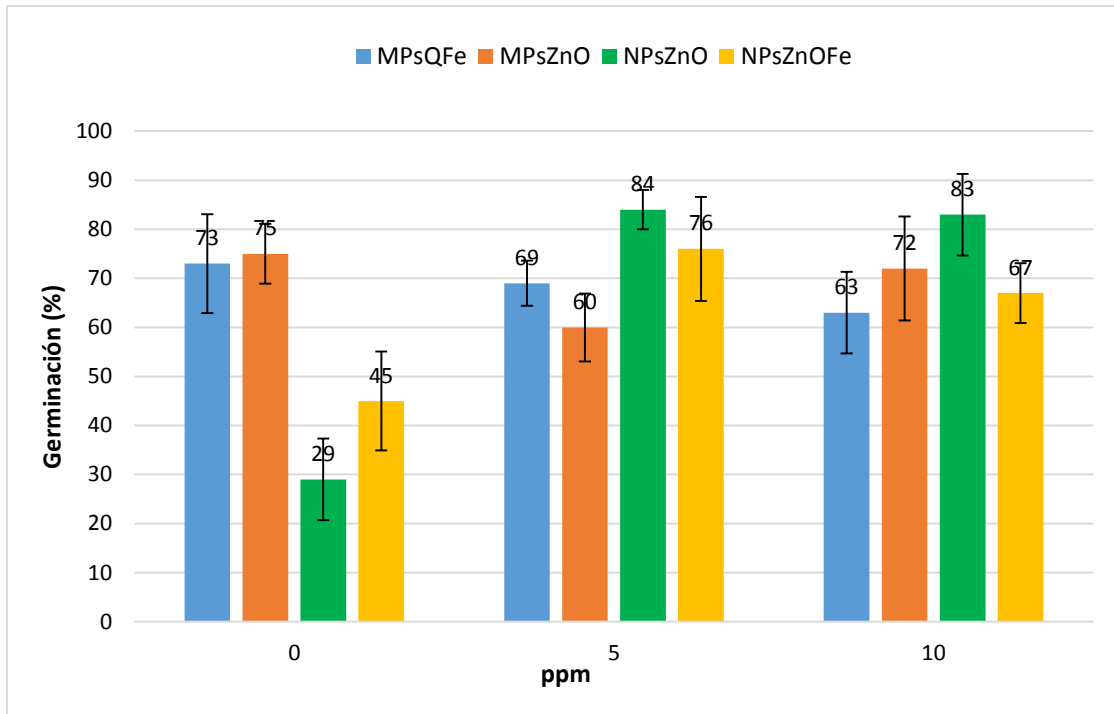
Anexo 3. Longitud de vástago (cm) por tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).



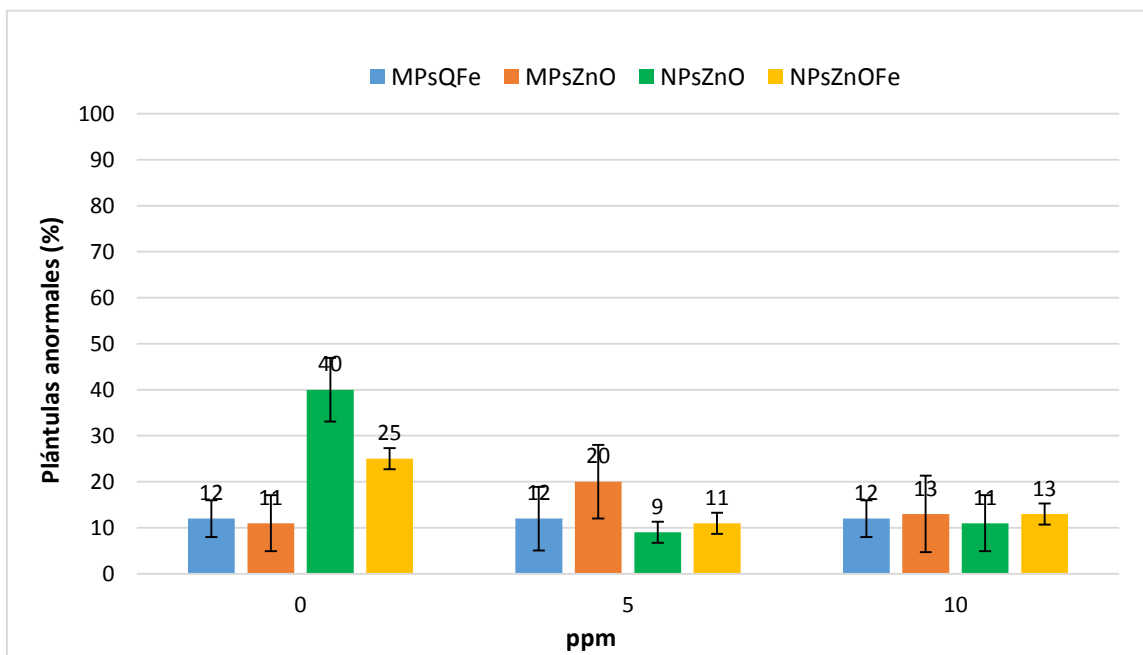
Anexo 4. Longitud de radícula (cm) por tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).



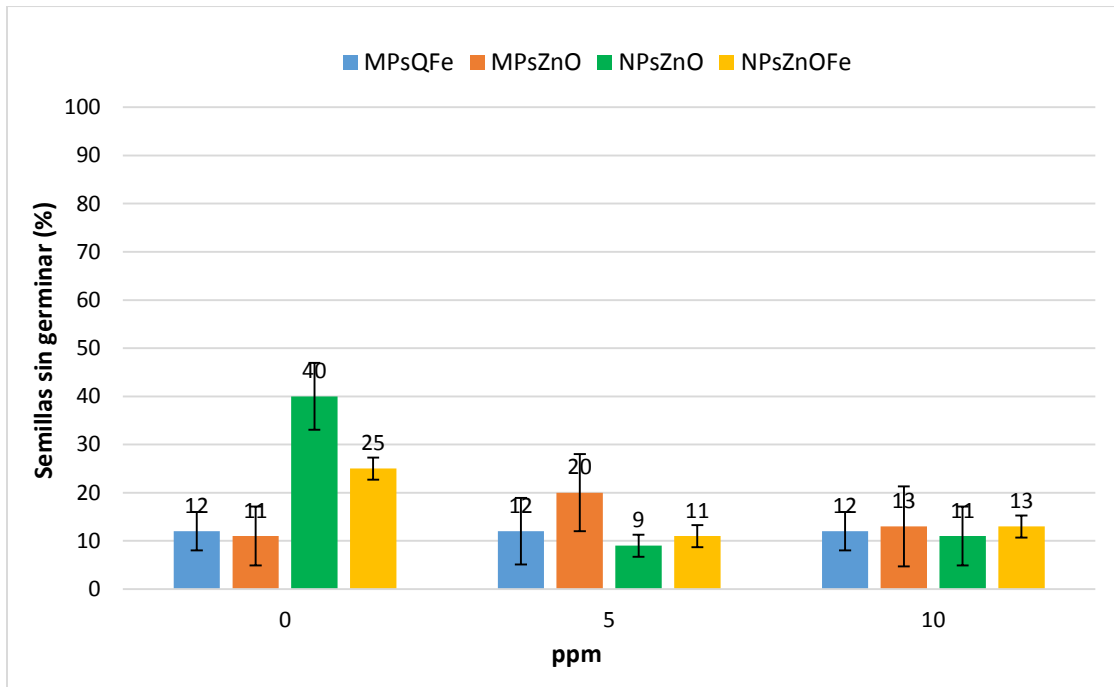
Anexo 5. Porcentaje de germinación por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).



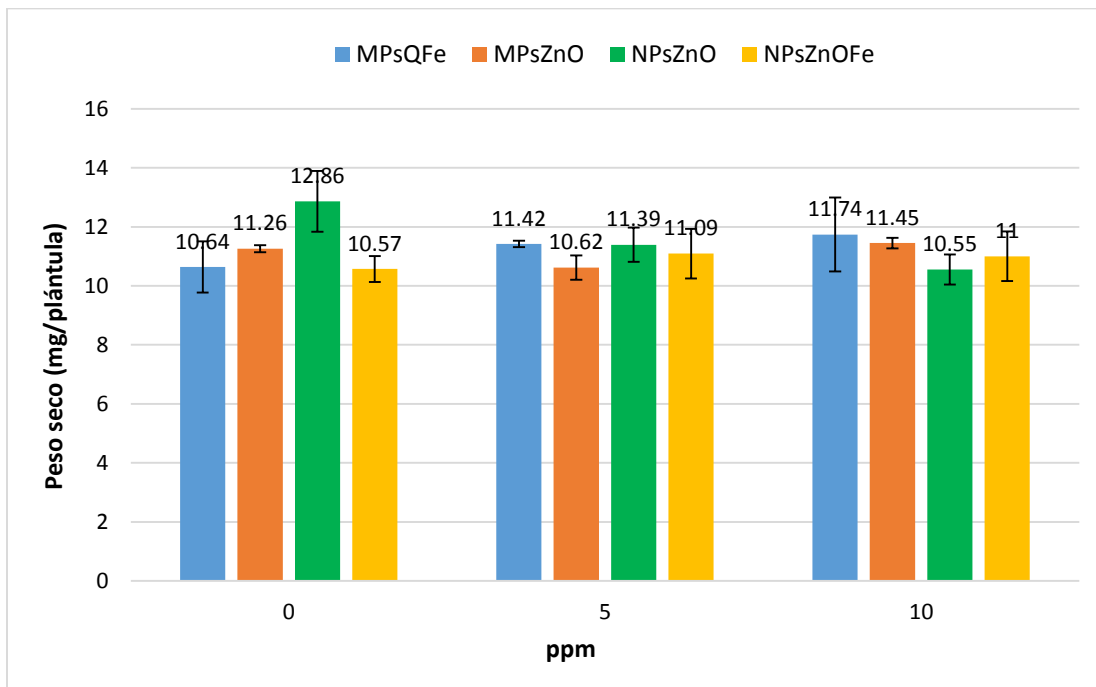
Anexo 6. Porcentaje de plántulas anormales por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).



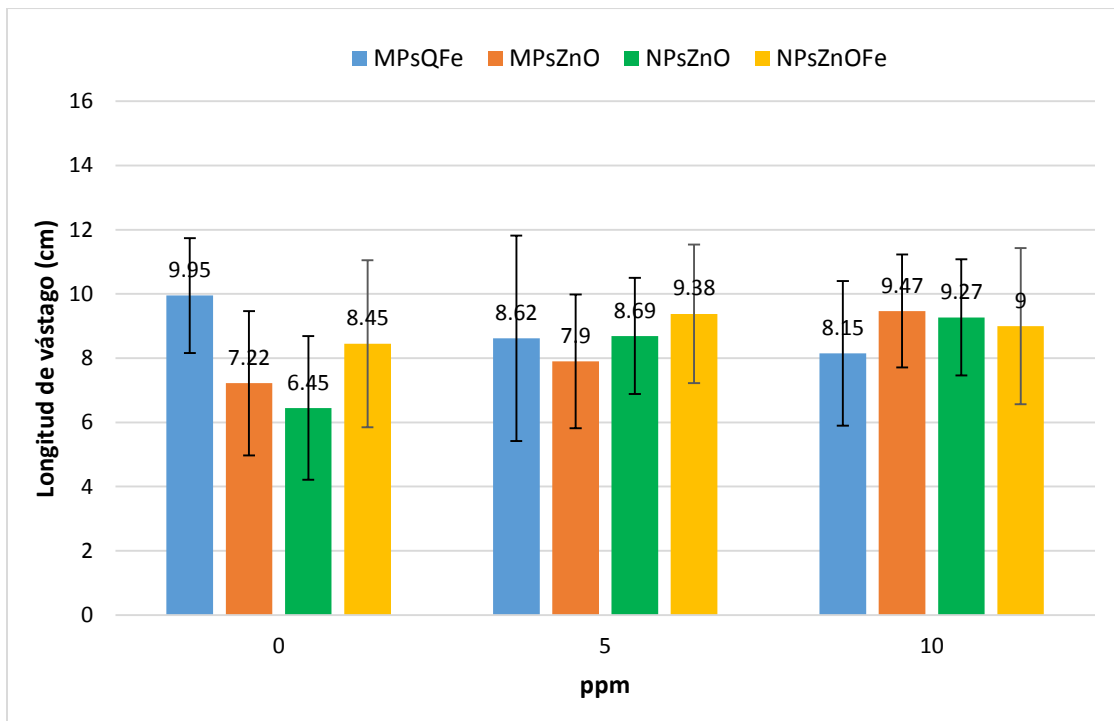
Anexo 7. Semillas sin germinar por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).



Anexo 8. Peso seco (mg/plántula) por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe)



Anexo 9. Longitud de vástago (cm) por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).



Anexo 10. Longitud de radícula (cm) por concentración y tipo de partícula (MPsQFe, MPsZnO, NPsZnO, NPsZnO+Fe).

