

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Respuestas de Vigor y Germinación Debido a la Aplicación de Nanopartículas de
Óxido de Zinc en Semillas de Pepino (*Cucumis sativus* L.)

Por:

ALBERTO GARCÍA GONZÁLEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Respuestas de Vigor y Germinación Debido a la Aplicación de Nanopartículas de

Óxido de Zinc en Semillas de Pepino (*Cucumis sativus* L.)

Por:

ALBERTO GARCÍA GONZÁLEZ

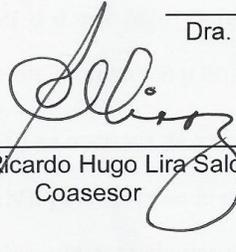
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

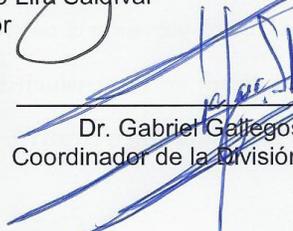
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Asesora 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.

Mayo, 2018

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por darme la vida, salud y fuerzas para seguir luchando por mis objetivos y metas.

A mi madre Antonia González García

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre Alberto García Blancas

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante.

A mi esposa e hijo

A Citlali Valeria Espinosa Nava por darme todo su apoyo y amor así como su paciencia para concluir con una meta más, así como todas las que nos faltan juntos, ¡Gracias! y a mi hijo Oziel Alberto García Espinosa por ser siempre mi inspiración, motivación y orgullo en la vida.

A mi “ALMA TERRA MATER” la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), por abrirme las puertas de sus aulas y brindarme las herramientas necesarias que contribuyeron en mi formación profesional y la dicha de ser un egresado de la Narro. ¡Buitre por siempre!

A la Dra. Norma Angélica Ruiz Torres

Por haberme dado su incondicional apoyo, disponibilidad, atención y orientación para el desarrollo y revisión de este trabajo de tesis, ya que de otra manera no hubiese sido posible llevarlo a cabo.

Al Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar

Por su apoyo en la revisión y asesoría en la elaboración de este trabajo.

Al Maestro Josué Israel García López

Por todo el apoyo brindado en la realización del experimento además de su asesoría y sugerencias en la revisión del escrito.

Al Dr. Antonio Flores Naveda

Por su colaboración en la revisión del escrito y por formar parte del jurado.

DEDICATORIAS

A mis padres

A mis padres, que me dieron la vida, por creer en mí y porque me impulsaron a seguir adelante, por todos los sacrificios que hicieron a lo largo de mi carrera, sé que fueron momentos difíciles pero gracias a su deseo de heredarme una buena educación salieron adelante. Gracias por toda su comprensión y paciencia siempre han estado ahí en todo momento apoyándome, por todo eso les agradezco de todo corazón, esto es un pequeño regalo de todo lo que han hecho por mí.

A mi esposa Citlali Valeria Espinosa Nava

Por el apoyo y ánimo brindo en todo momento, por compartir días de tristeza y alegría, por contar contigo en todo momento, y por el amor que me demuestras cada día, por ser mi amiga, mi cómplice y la madre de mi hijo.

A mi hijo Oziel Alberto García Espinosa

Con mucho cariño y amor te dedico este trabajo, eres mi orgullo y mi gran motivación, eres la razón de mí existir, tu afecto y cariño son los detonantes de mi felicidad, de mi esfuerzo, de mis ganas de buscar lo mejor para ti.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|--|------------|
| AGRADECIMIENTOS | i |
| DEDICATORIAS | iii |
| ÍNDICE DE CUADROS | v |
| RESUMEN | vi |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. HIPÓTESIS | 3 |
| III. OBJETIVO GENERAL | 3 |
| 3.1.OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 3 |
| IV. REVISION DE LITERATURA | 4 |
| 4.1 La nanotecnología | 4 |
| 4.2 Aplicación de la nanotecnología en la agricultura | 5 |
| 4.3 Aplicación de nanopartículas en plantas | 6 |
| 4.4 Importancia del zinc en los cultivos | 7 |
| V. MATERIALES Y MÉTODOS | 9 |
| 5.1 Ubicación del sitio experimental | 9 |
| 5.2 Preparación de suspensiones con nanopartículas de óxido de zinc | 9 |
| 5.3 Imbibición de las semillas | 9 |
| 5.4 Siembra en papel anchor | 10 |
| 5.5 Variables evaluadas | 10 |
| 5.6 Análisis estadístico | 12 |
| VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 13 |
| VII. CONCLUSIONES | 24 |
| VIII.LITERATURA CITADA | 25 |
| IX. ANEXOS | 33 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en la germinación de semillas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.) por efecto de la aplicación de NPsZnO comercial y de síntesis con forma redonda..... | 14 |
| Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.) por efecto de la aplicación de NPsZnO comercial y de síntesis con forma redonda..... | 16 |
| Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.) por efecto de la aplicación de NPsZnO comercial y de síntesis con forma redonda..... | 20 |

RESUMEN

Respuestas de Vigor y Germinación Debido a la Aplicación de Nanopartículas de Óxido de Zinc en Semillas de Pepino (*Cucumis sativus* L.).

Este trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), localizada a 6 km al sur de Saltillo, Coahuila, México. El objetivo fue evaluar la respuesta de semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.) a la aplicación de dos tipos de nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO), 1) de tipo comercial y 2) sintetizadas en el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), las cuales fueron de forma redonda. Se evaluaron 5 diferentes concentraciones (0.0, 0.5, 1, 5, 10 y 50 mg L⁻¹) de NPs y un tratamiento testigo o control.

Los tratamientos consistieron cada uno en la imbibición de 150 semillas de pepino, las cuales se colocaron sobre papel filtro en una caja Petri, y se aplicaron 12 ml de las NPsZnO en suspensión, utilizando para este propósito una micropipeta en las diferentes concentraciones. Posteriormente se colocaron en una cámara de ambiente controlado Thermo Scientific por 24 horas, a una temperatura de 25 °C ± 2 °C con una humedad relativa de 50% y un fotoperiodo de 16/8 h luz/obscuridad.

Una vez concluido el periodo de imbibición, se realizó la siembra, la cual consistió en colocar 25 semillas por repetición sobre papel anchor humedecido con agua destilada, habiendo tenido una hilera con distribución homogénea a lo largo del papel. En seguida se cubrieron las semillas con otra hoja de papel anchor previamente humedecido y se enrolló dándole forma de taco; posteriormente, se

acomodaron dentro de una bolsa de polietileno, que después se introdujo en un contenedor de plástico y nuevamente se colocó en la cámara de germinación con ambiente controlado.

Las variables evaluadas en el bioensayo fueron: porcentaje de vigor de germinación, porcentaje de germinación, plántulas anormales, semillas sin germinar, longitud media de vástago (plúmula), de radícula (hipocótilo) y biomasa seca de plántula.

El trabajo se estableció teniendo un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial (2 x 6), donde el primer factor está constituido por los 2 tipos de NPs y el segundo por los 6 tratamientos. Para determinar si existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos de concentraciones y el tipo de NPs, los datos de las variables evaluadas se sometieron a un análisis de varianza (ANVA); después, se realizó una comparación de medias usando la Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), para determinar el efecto en la fisiología de semillas de los 2 tipos de nanopartículas empleadas y las concentraciones aplicadas. Los datos obtenidos se analizaron con el paquete estadístico SAS Institute (2004).

De manera resumida se puede señalar que los resultados obtenidos indican que las NPsZnO de síntesis, a una concentración de 50 ppm mejoraron el proceso de germinación y crecimiento de plántulas de *C. sativus* variedad Poinsett 76, aplicadas durante el periodo de imbibición de semillas. Esto sugiere que las NPsZnO tienen potencial para ser utilizadas como promotoras de germinación y crecimiento de plántulas de esta cucurbitácea, puesto que mostraron un efecto

positivo al incrementar el porcentaje de vigor de semillas en 19% y mejorar la longitud de radícula en 1.20 cm, en comparación con el tratamiento testigo.

Palabras clave: Agronotecnología, nanopartículas metálicas, cucurbitáceas, fisiología de semillas.

I. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología (NT) es considerada una tecnología con un auge importante para diferentes sectores (Patel *et al.*, 2014), que puede impactar dramáticamente revolucionando el sector salud, textil, materiales, información, las tecnologías de la comunicación y de la energía (Prasad *et al.*, 2014). Está dedicada a la caracterización, elaboración y aplicación de materiales de dimensiones nanométricas, los cuales tienen un tamaño que oscila entre 1-100 nm (Ali *et al.*, 2014). La NT es un área que cobra cada vez más importancia en el mundo por su capacidad para crear materiales y dispositivos con nuevas propiedades y funciones (Jha *et al.*, 2011), representando una de las más novedosas innovaciones científicas, que tienen un gran potencial para la elaboración de nanocompuestos como nanofertilizantes y nanopesticidas para la agricultura (Lira-Saldivar y Méndez-Argüello, 2018).

Cualquier material creado a escala nanométrica presenta nuevas propiedades que son diferentes de los materiales convencionales, debido a su pequeño tamaño y elevada relación superficie volumen, expresada en mayor reactividad química y energía superficial, con alta movilidad en el cuerpo de un organismo incluyendo la entrada celular (Anusuya y Nibiya, 2016).

Las aplicaciones de la NT en los sistemas agrícolas ofrecen el potencial para mejorar significativamente su productividad y eficiencia al reducir costos y cantidades de agroquímicos aplicados (Méndez-Argüello, 2016).

La agronanotecnología como su nombre lo indica, se refiere a la aplicación de partículas con tamaño nano en la agricultura, puesto que estas partículas ofrecen grandes beneficios para los cultivos (Ponce, 2016).

La tendencia actual de la agricultura del siglo XXI es formular productos con nanopartículas (NPs), ingredientes activos de tamaño nanométrico, lo cual los hace más eficientes y de fácil disponibilidad, además de minimizar las pérdidas al aplicar el producto (Ruiz Torres *et al.*, 2016).

Es de vital importancia considerar dentro de los estudios con NPs a las semillas, ya que estas son la base principal para el aseguramiento de un cultivo productivo y el insumo de mayor importancia en la agricultura, siendo así uno de los principales objetos de estudio para conocer el efecto que tiene las NPs aplicadas en semillas sobre los procesos fisiológicos.

Con base a lo antes expuesto, en el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos de la evaluación del proceso germinativo de semillas de pepino (*C. sativus* L.) variedad Poinsett 76, al ser sometidas a diferentes concentraciones de (NPs) de óxido de zinc de tipo comercial y sintetizadas.

II. HIPÓTESIS

La aplicación de nanopartículas de Óxido de Zinc estimulará el proceso de germinación y el crecimiento de plántulas de pepino.

III. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la aplicación de NPsZnO de tipo comercial y de síntesis en el proceso germinativo de semillas de pepino.

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Determinar la respuesta del vigor de semilla y de la germinación a la aplicación de dos tipos de NPsZnO (comercial y de síntesis).
- ❖ Conocer la concentración y tipo de NPsZnO que tenga un efecto positivo en el vigor y/o germinación en semillas de pepino, así como aquella que pueda causar un efecto inhibitorio o fitotóxico.

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1 La nanotecnología

La nanotecnología (NT) se considera una novedosa innovación científica que estudia, diseña, crea, sintetiza, manipula, maneja, opera y aplica materiales, aparatos y sistemas a nano escala (Ruiz Torres *et al.*, 2016); estas estructuras son tan pequeñas que caen dentro del régimen de tamaño de 1-100 nm (Ali *et al.*, 2014), que dependen de equipos especializados capaces de manipular las propiedades físicas y químicas de sustancias a niveles moleculares.

La NT brinda una extensa gama de oportunidades de aplicación, es considerada una tecnología con un auge importante para diferentes sectores (Patel *et al.*, 2014), que puede impactar dramáticamente revolucionando el sector salud, textil, materiales, información las tecnologías de la comunicación y de la energía (Prasad *et al.*, 2014).

La NT tiene además el potencial de proporcionar soluciones para los problemas agrícolas fundamentales causados por el manejo de fertilizantes convencionales, ya que permite generar nanofertilizantes y promotores del crecimiento; su uso promete menos daños colaterales al medio ambiente y salud humana (Pereira *et al.*, 2014).

A pesar de que las posibles aplicaciones de la NT son muy vastas, los usos actuales en el sector alimentario y agrícola son relativamente pocos, debido a que la nanociencia se encuentra en un estado emergente señaló Siddiqui *et al.* (2015).

Por ejemplo, la NT permite detectar la presencia de plagas y enfermedades, contaminación de alimentos y aplicar la cantidad correcta de nutrientes y pesticidas que promuevan la productividad, al mismo tiempo que garanticen la seguridad del medio ambiente y una mayor eficiencia en el uso de insumos agrícolas (Nuruzzaman *et al.*, 2016).

Prasad *et al.* (2017) menciona otros beneficios potenciales de la NT en la agricultura, como el mejoramiento en la calidad y seguridad de los alimentos, reducción de los insumos agrícolas y el enriquecimiento de los nutrientes a nanoescala en el suelo.

4.2 Aplicación de la nanotecnología en la agricultura

La NT aplicada a la agricultura, como se mencionó anteriormente es muy reciente, sin embargo, se considera que es la revolución industrial del siglo XXI, de manera similar como la biotecnología y la electrónica fueron en el siglo XX (Prasad *et al.*, 2014). Las aplicaciones de la NT en los sistemas agrícolas ofrecen el potencial para mejorar significativamente su productividad y eficiencia al reducir costos y cantidades de agroquímicos aplicados (Méndez-Argüello, 2016).

Entre los usos de la NT en la agricultura destacan la elaboración de nanopesticidas encapsulados en nanopartículas (NPs) para su liberación controlada; estabilización de biopesticidas con NPs, liberación lenta de fertilizantes de NPs, producción de biofertilizantes y micronutrientes para uso eficiente, y aplicaciones de agroquímicos (Ghormade *et al.*, 2011).

Las NPs son también importantes por su uso potencial para resolver problemas que con productos a escala normal son muy costosos y no siempre se

logra una solución eficiente (Allhoff y Lin, 2008). Tal es el caso de las aplicaciones convencionales de fertilizantes que no son completamente eficaces, ya que no se satisface la concentración mínima requerida por los cultivos, debido a problemas como la lixiviación de los productos químicos, la degradación por fotólisis, hidrólisis y por degradación microbiana (Lira-Saldívar *et al.*, 2016).

La NT da la oportunidad de que distintos materiales en forma de NPs pueden usarse para liberar pesticidas o fertilizantes en un momento y orientación específicos. Logrando de esta manera aplicar sustancias en áreas muy localizadas que podrían reducir el daño a otros tejidos de la planta y a su vez reducir el efecto negativo al ambiente y a un agroecosistema en particular (Srilatha, 2011).

En el mismo sentido, Liu y Lal (2015) mencionan que las NPs pueden mejorar el crecimiento vegetal en ciertos intervalos de concentraciones y que pueden ser utilizados como nanofertilizantes, mejorando el rendimiento de los cultivos, y al mismo tiempo reducir la contaminación del medio ambiente.

4.3 Aplicación de nanopartículas en plantas

Reportes recientes señalan que diversas NPs metálicas mejoran significativamente el crecimiento de las plantas e incrementan la productividad agrícola Liu y Lal (2015). Las NPs debido a sus características físico-químicas, pueden modular el estado redox y el cambio de la germinación de las semillas, el crecimiento, el rendimiento y la calidad de las plantas (Mukherjee y Mahapatra, 2009).

La aplicación de NPs en dosis bajas estimula la germinación de la mayoría de las especies, sin embargo, esta respuesta depende de la concentración y el genotipo (Hatami *et al.*, 2014).

Estudios actuales señalan el prometedor futuro de la aplicación de nanopartículas como mejoradoras de la germinación y esto podría atribuirse a que, dependiendo de su tamaño pueden entrar en las células de la planta desde el apoplasto, cruzando la membrana plasmática a través de la endocitosis; posteriormente pueden trasladarse de una parte a otra a través del flujo simplástico (Rico *et al.*, 2011).

Recientes investigaciones mencionan que las NPs se absorben fácilmente durante la etapa de imbibición en el proceso de germinación de las semillas, y tienen la capacidad de generar cambios metabólicos que ocurren durante la germinación, factor descrito por Delouche (2002), como el proceso fisiológico mediante el cual emergen y desarrollan, a partir de un embrión, las estructuras esenciales para la formación de una planta normal en condiciones favorables.

Hartmann y Kester (1999) dicen que la germinación es un proceso de la reactivación de la maquinaria metabólica de la semilla y la emergencia de la radícula y de la plúmula, que conducen a la producción de una plántula.

4.4 Importancia del zinc en los cultivos

El zinc (Zn) es uno de los nutrientes esenciales necesarios para el crecimiento y reproducción de las plantas; es clasificado como un micronutriente, ya que la planta lo requiere en pequeñas cantidades, este metal es un constituyente

de numerosas enzimas como anhidrasas, oxidasas y peroxidasas y juega un papel importante en regular el metabolismo del nitrógeno, la multiplicación celular, la fotosíntesis y la síntesis de auxinas (Rout y Das, 2003), además de ser necesario para la formación de clorofila y carbohidratos y para controlar la síntesis del ácido indol acético (Vitosh *et al.*, 1994).

Las funciones metabólicas del Zn se basan en su fuerte tendencia a formar complejos tetraédricos con N-, O-, y especialmente S- ligados, por lo que juega tanto un papel funcional (catalizador) como estructural en las reacciones enzimáticas en procesos vitales para la planta (Navarro y Navarro, 2013).

La deficiencia de Zn es una de las más comunes en las plantas y causa severas reducciones en la producción de cultivos, hay una serie de alteraciones fisiológicas en las células deficientes de Zn que ocasiona una inhibición del crecimiento, la diferenciación y el desarrollo de plantas además de afectar la calidad de productos cosechados, incrementar la susceptibilidad de lesiones por alta intensidad de luz o temperatura y por infección por hongos (Cakmak, 2000).

La deficiencia de Zn no sólo retrasa el crecimiento y rendimiento de las plantas, también tiene efectos sobre los seres humanos, más de 3 mil millones de personas en todo el mundo sufren de deficiencias de Fe y Zn (Hafeez *et al.*, 2013).

En este trabajo se determina el efecto de NPsZnO de dos procedencias, comercial y sintetizada por el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), en la germinación y vigor en semilla y plántula de pepino (*Cucumis sativus* L.).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Ubicación del sitio experimental

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), localizada a 6 km al sur de Saltillo, Coahuila, México.

5.2 Preparación de suspensiones con nanopartículas de óxido de zinc.

La preparación de las suspensiones de nanopartículas comerciales y sintetizadas tipo “redonda”, se realizó en diferentes concentraciones (0.0, 0.5, 1, 5, 10 y 50 mg L⁻¹) en agua destilada, y posteriormente se dispersaron en un vortex Labnet VX100, por un tiempo de 20 minutos.

5.3 Imbibición de las semillas

Para determinar el efecto de la aplicación de las NPs en la germinación de semillas de pepino (*C. sativus* L.) variedad Poinsett 76, se establecieron seis tratamientos con seis repeticiones de 25 semillas para cada tipo de NP (comercial y sintetizada).

Los tratamientos consistieron cada uno en la imbibición de 150 semillas de pepino (6 repeticiones de 25 semillas cada una), las cuales se colocaron sobre papel filtro en una caja Petri, y se aplicó 12 ml de las NPsZnO en suspensión, con una micropipeta en las diferentes concentraciones 0.0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 y 50.0 mg L⁻¹. Posteriormente, las cajas Petri con semillas tratadas se colocaron en una cámara de ambiente controlado Thermo Scientific por 24 horas, a una temperatura de 25 °C ± 2 °C, con una humedad relativa 50% y un fotoperiodo de 16/8 h luz/obscuridad.

5.4 Siembra en papel anchor

Una vez concluido el periodo de imbibición, se realizó la siembra, la cual consistió en colocar 25 semillas por repetición sobre papel anchor humedecido con agua destilada, en una hilera con distribución homogénea a lo largo del papel. En seguida se cubrieron las semillas con otra hoja de papel anchor previamente humedecido y se enrolló, dándole forma de taco; posteriormente, se acomodaron dentro de una bolsa de polietileno, que después se introdujo dentro de un contenedor de plástico y nuevamente se colocó en la cámara de ambiente controlado.

5.5 Variables evaluadas

5.5.1 Porcentaje de vigor de germinación

Para la evaluación de esta variable se realizó un primer conteo a los cuatro días después de la siembra, se determinaron las plántulas normales (plántulas con raíz y tallo desarrollado, y cada estructura por lo menos dos veces el tamaño de la longitud de la semilla), con esta evaluación se determinó el vigor de germinación, el cual se expresó en porciento e indica el potencial biológico de la semilla que favorece el establecimiento rápido y uniforme bajo condiciones de campo.

5.5.2 Porcentaje de germinación

Esta variable se evaluó ocho días después de la siembra como lo indica la ISTA (2004); consistió en un segundo conteo de plántulas normales, el resultado fue expresado en porcentaje.

5.5.3 Plántulas anormales

Se consideró como plántulas anormales a aquellas plántulas con raíz primaria dañada, sin desarrollo y/o emergencia, con poco vigor, con geotropismo negativo; sin raíces secundarias además de hipocótilo, epicótilo y mesocótilo sin desarrollo, ensanchado, torcido o sin emergencia igualmente cotiledones y hojas deformes, necróticas o dañadas por infecciones (García-López *et al.*, 2016).

5.5.4 Semillas sin germinar

Se realizó un conteo de todas aquellas semillas que no lograron germinar por causa de factores intrínsecos, el resultado fue expresado en porcentaje.

5.5.5 Longitud media de plúmula y de radícula

Se midió con ayuda de una regla graduada todas las plántulas normales contabilizadas para determinar la variable porcentaje de germinación, y el resultado se expresó en centímetros; se midió del cuello de la plántula hasta la yema apical de la misma para longitud de plúmula y del cuello de la planta hasta el ápice de la raíz principal para longitud de radícula.

5.5.6 Peso seco de plántula

Se realizó al finalizar la evaluación de las demás variables, y consistió en llevar todas las plántulas normales por repetición dentro de bolsas de papel de estraza a una estufa de secado, (Riossa H-48) por un lapso de 24 horas, a una temperatura de 72°C. Transcurrido el tiempo de las muestras dentro de la estufa de secado se procedió a pesarlas en una balanza analítica AND-HR200, el resultado fue expresado en mg/plántula.

5.6 Análisis estadístico

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial (2x6). El primer factor lo formo el tipo de NPs y el segundo los tratamientos de concentraciones y el modelo utilizado fue $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$. En donde μ = Media general; α = Efecto del i-ésimo nivel del factor A; β = Efecto del j-ésimo nivel del factor B; $\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el factor α_i y β_j ; e_{ijk} = Componente del error aleatorio.

Para determinar diferencias estadísticas entre los tratamientos y las concentraciones, los datos de las variables evaluadas se sometieron a un análisis de varianza; después, se llevó a cabo una comparación de medias con la Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), para determinar la eficiencia de los tratamientos (NPsZnO comercial y de ingeniería de tipo redonda) y concentraciones (0.0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 y 50.0 ppm). Los datos obtenidos se analizaron con el paquete estadístico SAS Institute (2004).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza (Cuadro 1) del bioensayo de germinación de semillas de pepino variedad Poinsett 76, al ser sometidas a aplicaciones de nanopartículas de Óxido de Zinc (comercial y sintetizadas), a diferentes concentraciones, se encontró lo siguiente:

En las fuentes de variación tipo de nanopartícula (comercial o de síntesis), y/o concentración (0.0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 y 50.0 ppm) se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para las variables vigor de germinación, longitud media de plúmula y longitud media de radícula.

Sin embargo, para la interacción tipo de nanopartícula x concentración se encontró diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las variables longitud media de plúmula y longitud media de radícula, mientras que para el resto de las variables estudiadas no se obtuvo valores significativos al ser sometidas a los diferentes tratamientos.

Los resultados significativos encontrados en las distintas variables podrían deberse a la composición, concentración, tamaño, propiedades físicas y químicas de las NPsZnO, así como el genotipo en la cual se realizan las aplicaciones de NPs, además el revestimiento superficial y la reactividad (Ma *et al.*, 2010; Hatami *et al.*, 2014; Khodakovskaya *et al.*, 2012).

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en la germinación de semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.) por efecto de la aplicación de NPsZnO comercial y de síntesis con forma redonda.

| FV | GL | Vigor (%) | Germinación (%) | PA (%) | SSG (%) | PS (mg/Plántula) | LP (cm) | LR (cm) |
|------------------------------|-----------|------------------|------------------------|---------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|
| Tipo de nanopartícula | 1 | 876.75** | 4.35NS | 2.00NS | 5.21NS | 0.09NS | 138.84** | 153.24** |
| Concentración | 5 | 475.25** | 18.16NS | 10.62NS | 9.15NS | 1.16NS | 24.23** | 60.27** |
| Part * Conc | 5 | 211.63NS | 18.48NS | 5.98NS | 9.07NS | 2.42NS | 17.72** | 27.70** |
| Error | 40 | 107.1 | 26.08 | 15.08 | 6.74 | 1.33 | 4.35 | 7.91 |
| C. V. (%) | | 14.4 | 5.39 | 117.40 | 160.79 | 8.67 | 18.25 | 19.42 |

**=Diferencia altamente significativa al 0.01; NS= No significativo; FV= Fuentes de variación; GL= Grados de libertad; Part = tipo de nanopartícula; Conc = Concentración; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántula; LP= Longitud media de plúmula; LR= Longitud media de radícula; CV (%)= Coeficiente de variación.

En el Cuadro 2 de comparación de medias para tratamientos (Prueba de Tukey, $P \leq 0.05$), para las variables evaluadas, se encontró que las semillas tratadas con NPsZnO de síntesis, superaron con un 9 % el índice de vigor de germinación, comparado con la aplicación de NPsZnO comerciales (Anexo 1), lo anterior indica que el uso de NPsZnO tiene un efecto promotor de vigor. En sí, el vigor se relaciona con la velocidad y uniformidad de germinación y crecimiento de plántulas. La ISTA (2004) lo define como la suma total de aquellas propiedades que determinan el nivel de actividad y capacidad de la semilla o lote de semillas de germinación aceptable, en un amplio rango de ambientes. Por otro lado, la AOSA (1983) define al vigor, como la suma total de aquellas propiedades de la semilla que determinan el potencial para una rápida y uniforme emergencia y desarrollo de plántulas normales bajo un amplio rango de condiciones de campo.

El incremento en el porcentaje de vigor podría atribuirse principalmente a la penetración de nanomateriales en la semilla, que permiten aumentar la imbibición de agua y micronutrientes, acelerando la degradación de reservas, y beneficiando a las primeras etapas del proceso germinativo (Ruiz-Torres *et al.*, 2016).

El porcentaje de germinación mostró ser alto con ambos tipos de NPs, con un 95% en las NPsZnO de síntesis y 94% con las NPsZnO comerciales, estos resultados muestran que la semilla presentaba vigor intermedio (67 % comerciales y 76 % de síntesis) (Cuadro 2 y Anexo 1). De la Rosa *et al.* (2013) indican que al aplicar concentraciones de NPsZnO de 400 y 1600 mg L⁻¹ en el proceso de imbibición de semillas de pepino, se incrementó el porcentaje de germinación.

Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.) por efecto de la aplicación de NPsZnO comercial y de síntesis con forma redonda.

| Tipo de nanopartícula | Vigor (%) | Germinación (%) | P.A. (%) | SSG (%) | PS (mg/plántula) | LP (cm) | LR (cm) |
|------------------------------|------------------|------------------------|-----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|
| Comercial | 67 b | 94 a | 4 a | 2 a | 13.34 a | 11.78 a | 14.86 a |
| De síntesis | 76 a | 95 a | 3 a | 2 a | 13.32 a | 11.09 b | 14.10 b |
| Media | 72 | 95 | 3 | 2 | 13 | 11 | 14 |
| Tukey | 5.80 | 2.86 | 2.17 | 1.45 | 0.87 | 0.21 | 0.29 |

Valores con la misma literal en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05%); PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántula; LP= Longitud media de plúmula; LR= Longitud media de radícula.

Para las variables estudiadas por ciento de germinación, plántulas anormales, semillas sin germinar y peso seco de plántula, la aplicación de ambos tipos de nanopartículas no repercutió de manera significativa en su expresión (Anexo 1, 2 y 3).

La aplicación de NPs comerciales mostró un efecto positivo para la variable longitud media de plúmula obteniendo una media de 11.78 cm, superando así con 0.69 cm a las NPs de síntesis que obtuvieron una media de 11.09 cm, de igual manera para la variable longitud media de radícula se obtuvo una media de 14.86 cm, incrementando 0.76 cm con la aplicación de NPs comerciales, comparándolas con las NPs de síntesis que expusieron una media de 14.10 cm (Cuadro 2 y Anexo 4).

Lo anterior señala claramente que la aplicación de NPsZnO de tipo comercial modifican la respuesta fisiológica de las variables de longitud media de plúmula y de radícula, mostrando un efecto positivo, favoreciendo así el desarrollo de las plántulas.

El incremento longitudinal de la plúmula y de la radícula de las plántulas, podría deberse a los efectos benéficos de las NPsZnO, a las que se les atribuye una mayor producción de enzimas responsables de las reacciones metabólicas. Por otra parte, podrían incrementar los niveles de ácido indol acético (AIA), en las raíces o brotes, que a su vez pueden incrementar el vigor de las semillas y por ende el crecimiento de plántulas (Krishna y Natarajan, 2014).

En el mismo sentido Anusuya y Nibiya (2016), trabajaron con otro tipo de NPs y mencionan que la aplicación de NPs de quitosano-plata (Ag-CS) en semillas de garbanzo (*Cicer arietinum*), mostró un efecto promotor sustancial del crecimiento sobre la germinación, longitud de plúmula y de radícula, y mayor acumulación de peso fresco y de peso seco, además de un notable aumento de clorofila. En otros estudios realizados por Prasad *et al.* (2012), revelan que en semillas y plantas de cacahuate (*Arachis hypogaea*), a una concentración de 1000 mg L⁻¹ de NPs de ZnO promovió efectos significativos en la germinación, así como mayor elongación de raíz y tallo.

Las NPsZnO pudieran estar actuando como nanofertilizante al estar relacionado con la actividad que tiene en la síntesis de triptófano, el cual es precursor en la producción de auxinas fitoregulatoras del crecimiento, promoviendo elongación y división celular (Rehman *et al.*, 2012).

En el Cuadro 3 se presenta la comparación de medias de las variables evaluadas por concentración de NPsZnO, las semillas de *Cucumis sativus* L. respondieron de manera variable, mostrando el mayor incremento en el porcentaje de vigor de germinación, al ser sometidas a una concentración de 50 ppm, resultando en un 84%, comparado con la concentración testigo, mostró ser un 19% superior (Anexo 5). Sin embargo, reportando como porcentaje con respecto al testigo ($19/65=0.292*100$) se obtuvo 29.23%.

Para la variable porciento de germinación, aunque en el análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas, en el análisis de comparación de medias por concentración se observó un 97% de germinación al tratar las semillas

con 5 ppm y 50 ppm, sin embargo no es estadísticamente diferente al resto de los tratamientos, ya que todos se encuentran dentro el mismo grupo estadístico. Aun así, se mostró un incremento comparado con el tratamiento control que tuvo un 93% (Anexo 5).

Cuadro 3. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.) por efecto de la aplicación de NPsZnO comercial y de síntesis con forma redonda.

| Concentración (ppm) | Vigor (%) | Germinación (%) | P A (%) | SSG (%) | PS (mg/plántula) | LP (cm) | LR (cm) |
|----------------------------|------------------|------------------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|
| 0 | 65 b | 93 a | 4 a | 3 a | 13.61 a | 11.72 a | 14.02 bc |
| 0.5 | 74 ab | 94 a | 5 a | 1 a | 12.91 a | 10.86 b | 13.93 c |
| 1 | 71 ab | 94 a | 4 a | 2 a | 12.85 a | 11.54 a | 14.71 ab |
| 5 | 65 b | 97 a | 2 a | 1 a | 13.10 a | 11.36 ab | 14.12 bc |
| 10 | 68 b | 94 a | 3 a | 3 a | 13.54 a | 11.53 a | 14.62 abc |
| 50 | 84 a | 97 a | 2 a | 1 a | 13.85 a | 11.70 a | 15.22 a |
| Media | 72 | 95 | 3 | 2 | 13 | 11 | 14 |
| Tukey | 15.07 | 7.44 | 5.65 | 3.78 | 2.29 | 0.56 | 0.75 |

Valores con la misma literal en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05%); ppm= partes por millón PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula.

Para las variables plántulas anormales, semillas sin germinar (Anexo 6) y peso seco de plántula, se encontró que las diferentes concentraciones aplicadas presentaron un efecto similar, posicionándose todas dentro de un mismo grupo estadístico.

El Cuadro 3 indica que para obtener una mayor longitud de radícula, se deberá aplicar la concentración de 50 ppm de las NPsZnO (Anexo 7), de igual manera el porcentaje de vigor se vería afectado positivamente con un 84% como se mencionó anteriormente; la longitud media de radícula es de 15.22 cm, obteniendo un incremento medio de 1.22 cm, en comparación al tratamiento testigo, que fue de 14.02 cm.

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con lo reportado por Mukherjee *et al.* (2014), quienes aplicaron NPsZnO a diferentes concentraciones (0, 125, 250 y 500 mg kg⁻¹), a plantas de *Pisum sativum* L., cultivadas en suelos enriquecidos con materia orgánica, encontrando que en comparación con el control, todas las concentraciones aumentaron significativamente la elongación de la raíz. Zafar *et al.* (2016) evaluó el efecto de NPsZnO aplicadas al medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS), para la siembra de explantes de tallo de *Brassica nigra*, reportando que a concentraciones bajas (1-20 ppm), dio como resultado la producción de raíces blancas y finas.

Igualmente Narendhran *et al.* (2016) al estudiar la toxicidad de las NPsZnO en la germinación de *Sesamum indicum* y su actividad antibacteriana (*Pseudomonas aeruginosa* y *Shigella dysenteriae*), utilizando NPsZnO y nano-ZnO de forma esférica con un tamaño de partícula promedio de 18 ± 2 y 12 ± 3 nm,

respectivamente, en concentraciones de (0.1, 0.25, y 0.5 g L⁻¹), reportando un buen crecimiento de la raíz, además de una inhibición máxima contra patógenos, al aplicar dosis bajas. Por lo tanto, las NPsZnO se pueden usar eficazmente como agentes antibacterianos y nanofertilizantes en el aspecto ambiental del desarrollo agrícola.

Janmohammadi y Sabaghnia (2015) sugieren que la incorporación de NPs como pretratamiento en semillas mejora notablemente el rendimiento en germinación y provoca una revitalización eficaz de las plántulas. Los efectos significativos en el crecimiento y desarrollo de las plántulas se atribuyen a la aplicación del Zn, por ser un elemento esencial para la división celular y por su importancia como componente de varias enzimas (Pandey *et al.*, 2010); aunque también está implicado en la síntesis de proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos (Tarafdar *et al.*, 2014).

Resultados similares fueron reportados por Cruz (2017), quien sometió a imbibición semillas de calabaza (*Cucurbita pepo*) con NPs de Zinc + Fierro, y a una concentración de 10 ppm, obtuvo un efecto positivo en el vigor de germinación y en el incremento de la longitud de plúmula.

También como ejemplo se puede citar el trabajo realizado por García-López *et al.*, (2017), quienes evaluaron el efecto de las NPsZnO en germinación y vigor de semillas de Chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) a diferentes concentraciones (0, 100, 200, 300, 400 y 500 ppm) aplicadas en el proceso de imbibición, reportando un efecto significativo en la germinación y el vigor,

incrementando la longitud de plúmula 14.67% y longitud de radícula 20.12%, a una concentración de 300 ppm, en comparación con el tratamiento control.

Arredondo (2016), estudió el efecto de la aplicación de NPsCu durante el proceso de imbibición a diferentes concentraciones (0.5, 1, 5, 10 y 50 ppm) en semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y chile ancho (*Capsicum annuum*), obteniendo los más altos valores medios con la aplicación de NPsCu a 5 ppm, modificando la germinación y crecimiento de plántulas resultando cambios en vigor, longitud de radícula y longitud de plántula de ambas especies.

En el presente trabajo, al analizar la interacción entre factores, se encontró que la variable longitud media plúmula presentó mayor crecimiento al aplicar NPsZnO de tipo comercial, a una concentración de 1 y 10 ppm, obteniendo medidas de 12.21 y 12.01 cm, respectivamente (Anexo 8). De igual manera, para la variable longitud media de radícula se obtuvo un comportamiento muy similar referente a la variable LMP, debido a que el mayor crecimiento de LMR se dio al aplicar NPsZnO de tipo comercial, a una concentración de 1 y 10 ppm, obteniendo medidas de 15.36 y 15.41 cm, respectivamente (Anexo 9).

En este trabajo se pudo demostrar que las NPsZnO de tipo comercial, aplicadas a 1 ppm durante el proceso de imbibición de semillas de *Cucumis sativus* L. por un periodo de 24 horas, mostraron efectos positivos, incrementando significativamente la longitud de plúmula y de radícula, además de disminuir el porcentaje de plántulas anormales y semillas sin germinar. El nivel de respuesta depende del tipo de nanopartícula, concentración y genotipo.

VII. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos nos permiten concluir que las NPsZnO de síntesis tipo redonda modifican el proceso de germinación y crecimiento de plántulas de pepino *C. sativus* L. variedad Poinsett 76, en especial a una concentración de 50 ppm, aplicadas durante el periodo de imbibición de semillas, demostrando tener potencial para ser utilizadas como promotoras de crecimiento, puesto que tienen efecto positivo al incrementar el índice del porcentaje de vigor en 19% y mejorar la longitud de radícula 1.20 cm, comparado con el tratamiento testigo.

De acuerdo a los resultados de la interacción entre factores, se puede concluir que, para obtener una mayor longitud media de plúmula y radícula, se deberá aplicar la concentración de 1 ppm de las NPsZnO comercial.

Estos resultados sugieren que la aplicación de NPsZnO en las dosis correctas, puede mejorar la calidad y uniformidad de plántulas de pepino para su establecimiento en campo. Por lo tanto, las NPsZnO pudiesen representar una nueva opción como un agroinsumo promotor de la germinación y crecimiento de plántulas de diferentes especies. Debido a que la aplicación de las NPs es en muy pequeñas cantidades, este insumo puede tener un buen potencial para coayubar en la promoción de una agricultura sustentable.

VIII. LITERATURA CITADA

- Ali, M. A., I. Rehman, A. Iqbal, S. Din, A. Q. Rao, A. Latif, T. R. Samilullah, S. Azam, and T. Husnain. 2014. Nanotechnology: A new frontier in agriculture. *Advancements in Life Sciences*. 1(3): 129-138.
- Allhoff, F. and P. Lin. 2008. *Nanotechnology and society: Current and emerging ethical issues*. Springer Science. USA.
- Anusuya, S., and K. Nibiya. 2016. Silver-chitosan nanoparticles induced biochemical variations of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 8: 39-44.
- Arredondo, Q. J. A. 2016. Nanopartículas de cobre como promotores de germinación de semillas y crecimiento de plantas de *Capsicum annuum* y *Lycopersicon esculentum*. Tesis de Licenciatura. Ingeniero Agrícola y Ambiental. p. 69.
- Association of Official Seed Analysts (AOSA). 1983. *Seed vigor testing handbook*. Contribution No. 32. The handbook of official Seed. United States of America. p. 88.
- Cakmak, I. 2000. Role of zinc in protecting plant cells from reactive oxygen species. *New Phytol.* 146:185–205.
- Cruz, R. L. I. 2017. Aplicación de nanopartículas y macropartículas de óxido de zinc y sulfato de fierro, y su efecto en la germinación y el crecimiento de plántulas de calabaza (*Cucurbita pepo*). Tesis de Licenciatura. Ingeniero Agrónomo en

Producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. pp. 54.

De la Rosa, G., M. L. Lopez-Moreno, D. De Haro, C. E. Botez, J. R. Peralta- Videá, and J. L. Gardea-Torresdey. 2013. Effects of ZnO nanoparticles in alfalfa, tomato, and cucumber at the germination stage: root development and x-ray absorption spectroscopy studies. *Pure Appl. Chem.* 85 (12):2162-2173.

Delouche, J. 2002. Germinación, deterioro y vigor de semillas. *Seed News* 6 (6). Mississippi State University, EUA. En: http://www.seednews.inf.br/espanhol/seed66/artigocapa66_esp.shtml. Consulta: Enero 2018.

García-López J. I., N. A. Ruiz-Torres, R. H. Lira-Saldívar, I. Vera-Reyes y B. Méndez-Argüello. 2016. Técnicas para evaluar germinación, vigor y calidad fisiológica de semillas sometidas a dosis de nanopartículas. In R. H. Lira Saldívar, & B. Méndez Argüello, *Agronano tecnología nueva frontera de la revolución verde*. Saltillo, Coah. pp. 129-140.

García-López J., F. Zavala-García, E. Olivares-Sáenz, N. A. Ruiz-Torres, E. Ramos-Cortez, I. Vera-Reyes, B. Méndez-Argüello, D. A. García-Rodríguez y R. H. Lira-Saldívar. 2017. Interacción de las nanopartículas ZnO sobre la germinación y crecimiento temprano de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense*). In R. H. Lira Saldívar, B. Méndez Argüello & I. Vera Reyes, *AgroBio Nanotecnología: Nuevo Paradigma Científico en la Producción de Alimentos*. Saltillo, Coahuila, México. pp. 51-89.

- Ghormade, V., M. V. Deshpande and K. M. Paknikar. 2011. Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnology Advances*, 29: 792-803.
- Hafeez, B., Y. M. Khanif and M. Seleem. 2013. Role of zinc in plant nutrition-a review. *American Journal of Experimental Agriculture*. 3(2): 374-391.
- Harmann H. T. y D. E. Kester. 1999. *Propagación de plantas*. 2 da Edición Editorial CECSA. Mexico. D.F. pp. 138-140.
- Hatami, M., M. Ghorbanpour, and. H. Salehiarjomand. 2014. Nano-anatase TiO₂ modulates the germination behavior and seedling vigourity of some commercially important medicinal and aromatic plants. *J. Biol. Environ, Sci*. 8(22):53-59.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2004. *International rules for seed testing*. Switzerland.
- Janmohammadi, M. and N. Sabaghina. 2015. Effect of pre-sowing seed treatments with silicon nanoparticles on germinability of sunflower (*Helianthus annuus*). *Botanica Lithuanica*. 21(1):13-21.
- Jha, Z., N. Behar, S. N. Sharma, G. Chandel, D. K. Sharma, and M. P. Pandey. 2011. Nanotechnology: Prospects of agricultural advancement. *Nano Vision*. 1(2), 88-100.

- Khodakovskaya M. V, K. De Silva, A. S. Biris, E. Dervishi and H. Villagarcia. 2012
Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. *ACS Nano*
6(3):2128–2135. Doi: 10.1021/nn204643g
- Krishna, K., y N., Natarajan. 2014. Customizing zinc oxide, silver and titanium
dioxide nanoparticles for enhancing groundnut seed quality. *Indian Journal of
Science and Technology* 7(9):1376-1381.
- Lira-Saldivar, R.H., B. Méndez-Argüello. 2018. Nanotechnology: A new scientific
paradigm on agricultural production of the XXI century. *Ecosist. Recur.
Agropec.* 5(13):1-2.
- Lira-Saldivar, R.H., R. Ponce Zambrano, N.A. Ruiz Torres, B. Méndez Argüello, E.
Mendoza Mendoza, L.A. García Cerda, I. Vera Reyes, 2016. Synthesis of zinc
oxide nanoparticles and its influence on seed germination and growth of
Solanum lycopersicum seedlings. *Wulfenia Journal* 23(9): 220-235.
- Liu, R. and R. Lal. 2015. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for
increasing agronomic productions. *Science of the total, environment.* 514 (3):
131-139.
- Ma, X., J. Geiser-Lee, Y. Deng, A. Kolmakov. 2010. Interactions between
engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and
accumulation. *Sci. Total Environ.* 408(16):3053–3061. Doi:
10.1016/j.scitotenv.2010.03.031.

- Méndez-Argüello, B., I. Vera-Reyes, E. Mendoza-Mendoza, L. A. García-Cerda, B. A. Puente-Urbina y R. H. Lira-Saldívar. 2016. Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annuum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Nova Scientia*, 8(2):140-156.
- Mukherjee, A., J. R. Peralta-Videa, S. Bandyopadhyay, C. M. Rico, L. Zhao and J. L. 2014. Physiological effects of nanoparticule ZnO in Green peas (*Pisum sativum* L.) cultivated in soil. *Metallomics*, 6:132-138.
- Mukherjee, M. and A. Mahapatra. 2009. Effect of coinage metal nanoparticles and zwitterionic surfactant on reduction of $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}](\text{NO}_3)_2$ by iron (III). *Colloid Surface*. 350:1-7.
- Narendhran, S., P. Rajiv, and R. Sivaraj. 2016. Toxicity of ZnO nanoparticles on germinating *Sesamum indicum* (Co-1) and their antibacterial activity. *Bulletin Material Science* 39(2):415-421.
- Navarro, G. G. y G. S. Navarro. 2013. *Química Agrícola*. 3ra Edición. Ed. Mundi-Prensa. España
- Nuruzzaman, M., M. M. Rahman, Y. Liu and R. Naidu. 2016. Nanoencapsulation, Nano-Guard for Pesticides: A new window for safe application. *Journal of agricultural and food chemistry*. 64: 1447-1483.
- Pandey, A. C., Sanjay, S. S., and Yadav, R. S. 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. *Journal de Experimental Nanoscience*. 5(6):488-497.

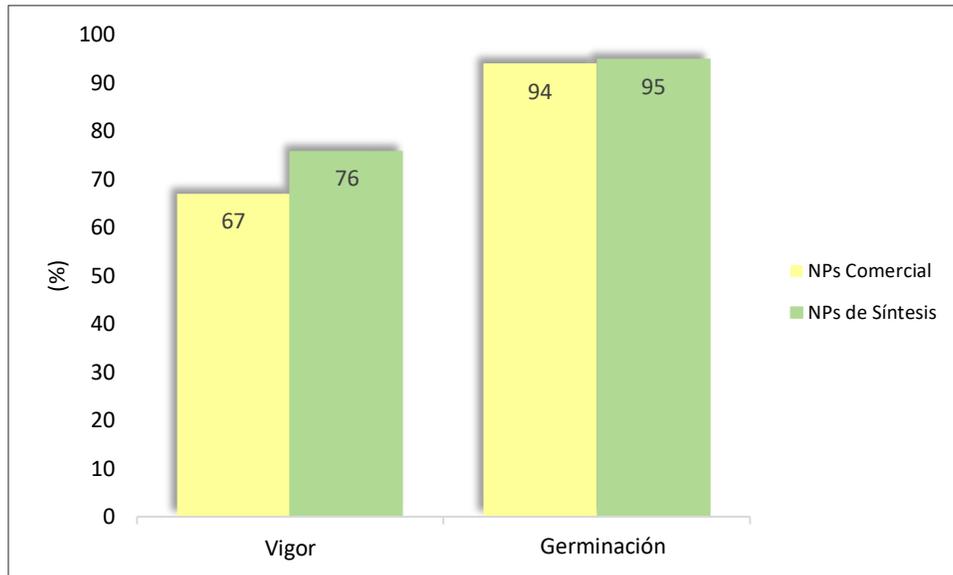
- Patel, N., P. Desai, N. Patel, A. Jha, and H. K. Gautam. 2014. Agronanotechnology for plant fungal disease management: A review. *International Journal Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(10):71-84.
- Pereira, A. E., R. Grillo, N. F. Mello, A. H. Rosa, and L. F. Fraceto. 2014. Application of poly (Epsilon-caprolactone) nanoparticles containing atrazine herbicide as an alternative technique to control weed and reduce damage to the environment. *J. Hazard Mater.* 268:207-215.
- Ponce, Z. R. 2016. Promoción de la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Lycopersicum esculentum* por nanopartículas de óxido de zinc. Tesis de Licenciatura. Ingeniero en Agrobiología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. p. 49
- Prasad, R., A. Bhattacharyya and Q. D. Nguyen. 2017. Nanotechnology in sustainable agriculture: Recent developments, challenges, and perspectives. *Front Microbiol.* 8:1014. Doi: 10.3389/fmicb.2017.01014.
- Prasad, R., V. Kumar, and K. S. Prasad. 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: Present concerns and future aspects. *African Journal of Biotechnology*. 13(6):705-713.
- Prasad, T. N., P. Sudhakar, Y. Sreenivasulu, P. Latha, V. Munaswamy, K. R. Reddy and T. Pradeep. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of plant nutrition*. 35 (6): 905-927.

- Rehman, H. U., T. Aziz, M. Farooq, A. Wakeel and Z. Rengel. 2012. Zinc nutrition in rice production systems: A review. *Plant and Soil*. 361 (1):203-226.
- Rico, C. M., S. Majumdar, M. Duarte-Gardea, J. R. Peralta-Videa, J. L. Gardea-Torresdey. 2011. Interacción de nanopartículas con plantas comestibles y sus posibles implicaciones en la cadena alimentaria. *J. Agric. Comida Chem*. 59 (8): 3485-3498.
- Rout, G. y P. Das. 2003. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: I. Zinc. *Agronomy, EDP Sciences*, 23 (1):3-11.
- Ruiz Torres, N.A., J. I. García López, R. H. Lira Saldívar, I. Vera Reyes, y B. Méndez Argüello. 2016. Efecto de Nanopartículas Metálicas y Derivadas del Carbón en la Fisiología de Semillas. In R. H. Lira Saldívar, & B. Méndez Argüello, *Agronano Tecnología Nueva frontera de la Revolución Verde*. Saltillo, Coah. pp. 75-114.
- SAS Institute. 2004. *SAS/STAT ® 9.1 User's Guide*. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. p.1521.
- Siddiqui, M. H, M. H. Al-Whaibi and F. Mohammad. 2015. *Nanotechnology and Plant Sciences. Nanoparticles and Their Impact on Plants*. Springer International Publishing Switzerland. ISBN 978-3-319-14502-0 (eBook). pp. 305.
- Srilatha, B. 2011. Nanotechnology in Agriculture. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*. 2:123. doi:10.4172/2157-7439.1000123.

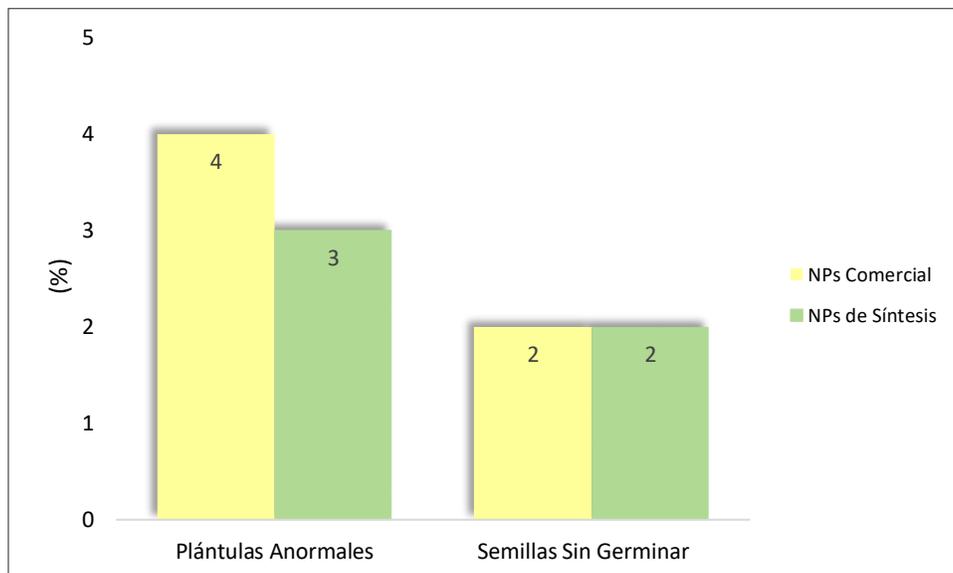
- Tarafdar, J. C., Raliya, R., Mahawar, H., and Rathore, I. 2014. Development of zinc nanofertilizer to enhance crop production in pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research*. 3(3):257-262.
- Vitosh, M. L., D.D. Warncke, and R.E. Lucas. 1994. Secondary and micronutrients for vegetable and field crops. Michigan State University extension. Bulletin E-486.
- Zafar, H., A. Ali, J. S. Ali, I.U. Haq and M. Zia. 2016. Effect of ZnO nanoparticles on *Brassica nigra* seedlings and stem explants: Growth dynamics and antioxidative response. *Frontiers in Plant Science*. 20(7):535. doi: 10.3389/fpls.2016.00535.

IX. ANEXOS

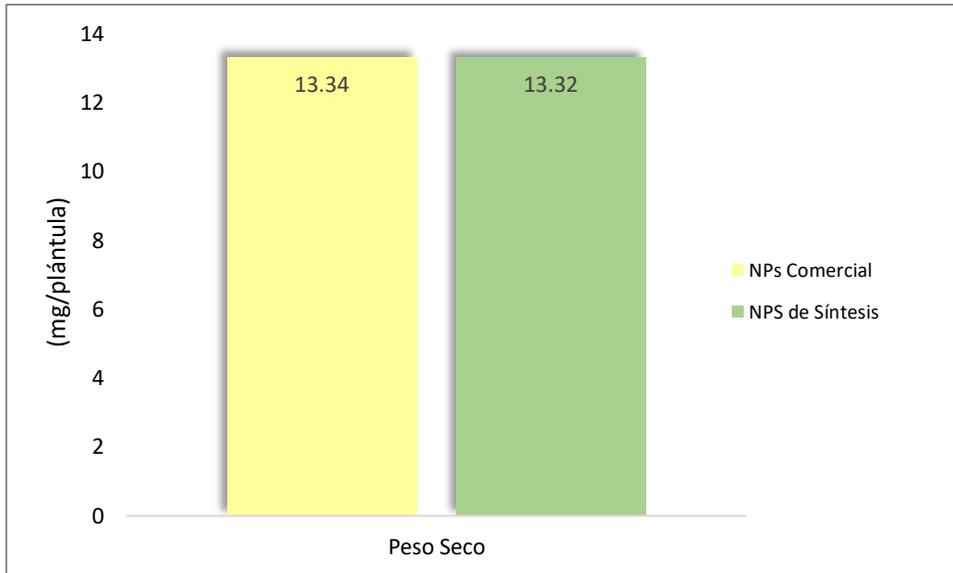
Anexo 1. Vigor y germinación de semillas tratadas con NPsZnO comerciales y de síntesis (redondas), en bioensayo de germinación.



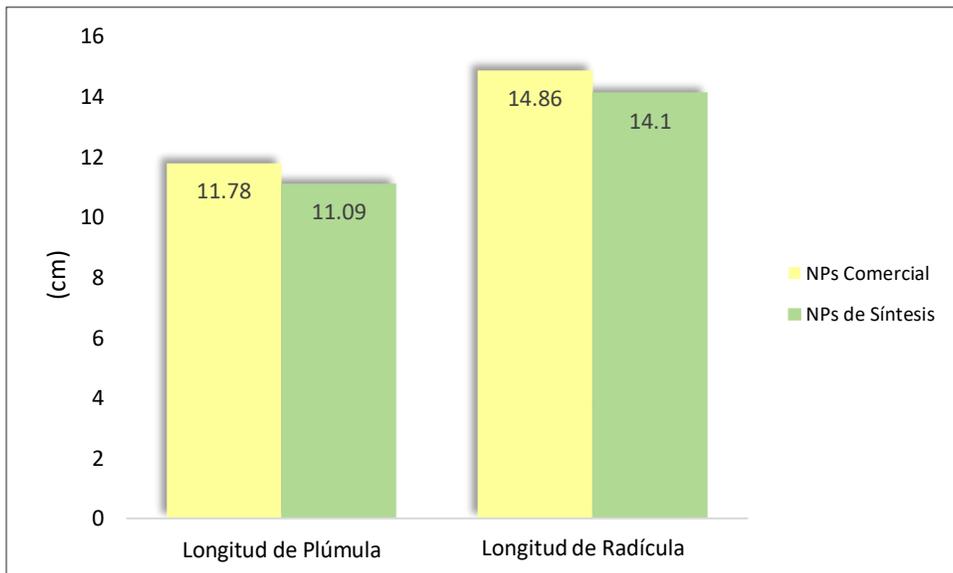
Anexo 2. Plántulas anormales y semillas sin germinar obtenidas de semillas tratadas con NPsZnO tipo comercial y de síntesis (ingeniería), en bioensayo de germinación.



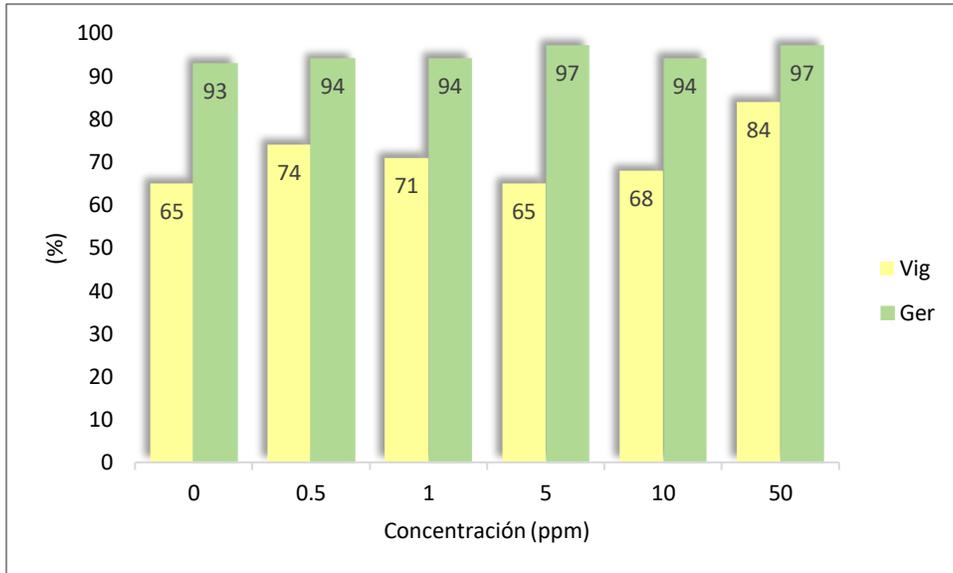
Anexo 3. Peso seco de plántula obtenida de semillas tratadas con NPsZnO comercial y de síntesis (redonda).



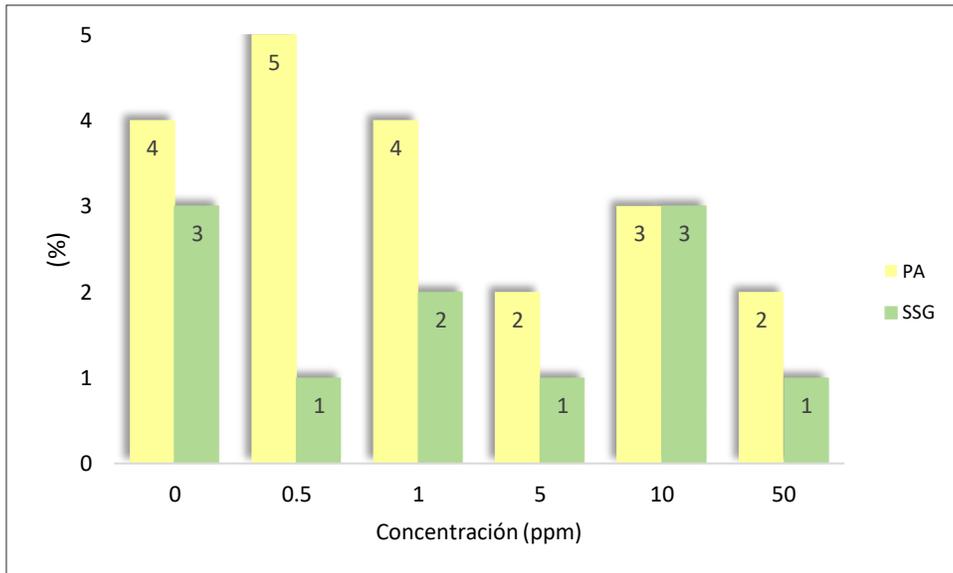
Anexo 4. Longitud media de plúmula y longitud media de radícula de plántulas obtenidas de semillas tratadas con NPsZnO Comercial y de síntesis (ingeniería), en bioensayo de germinación.



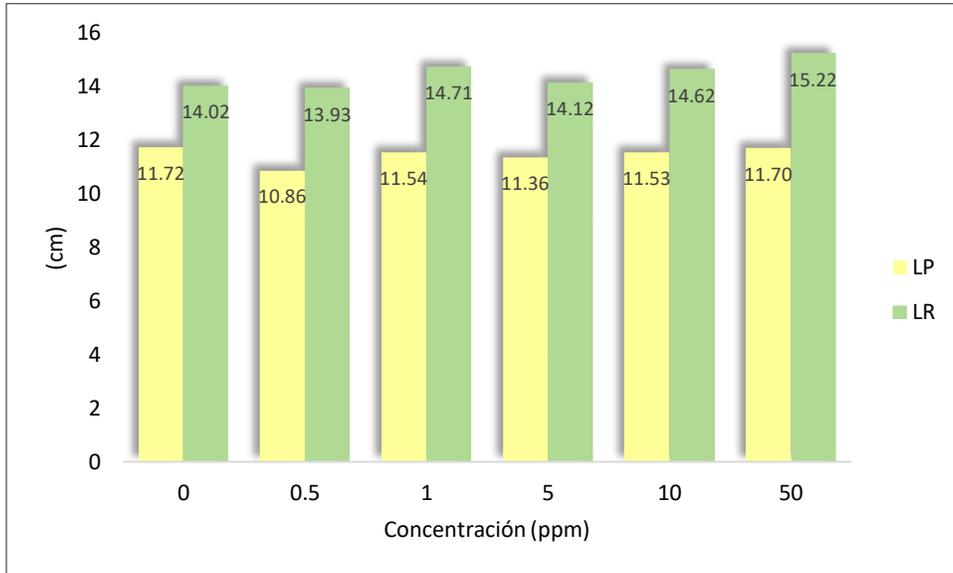
Anexo 5. Porcentaje de vigor y de germinación de semilla de pepino tratada con diferentes concentraciones de NPsZnO tipo comercial y de síntesis, en bioensayo de germinación.



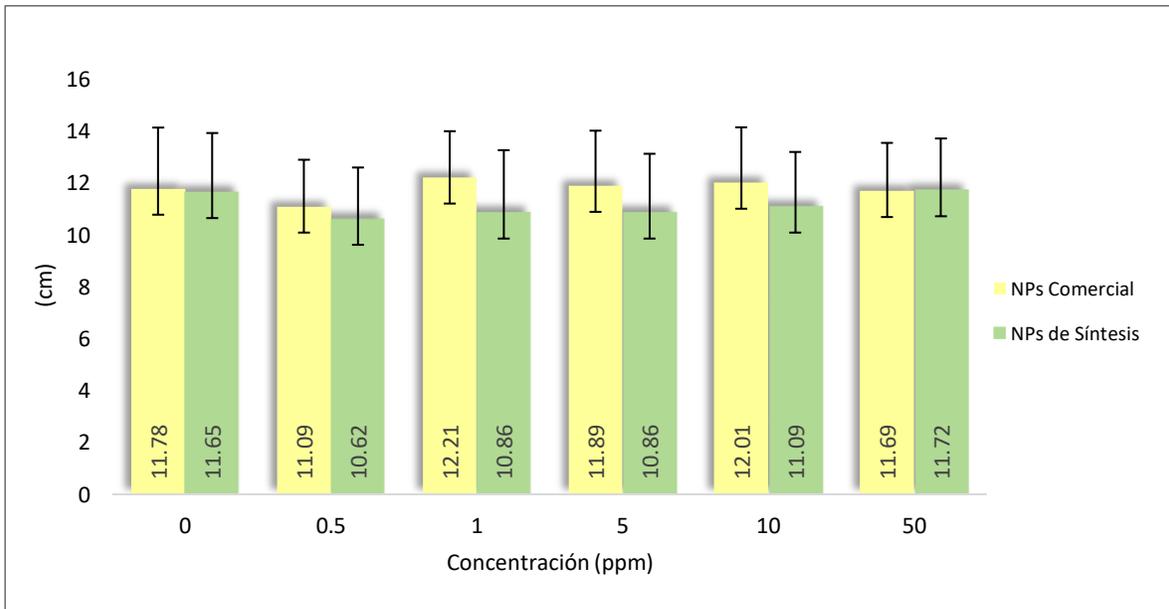
Anexo 6. Porcentaje de plántulas anormales y de semillas sin germinar, obtenidas en bioensayo de germinación de semillas de pepino tratadas con NPsZnO en diferentes concentraciones.



Anexo 7. Longitud media de plúmula y longitud media de radícula de plántulas de pepino obtenidas de semillas tratadas con diferentes concentraciones de NPsZnO tipo comercial y de síntesis, en bioensayo de germinación.



Anexo 8. Longitud media de plúmula de plántulas de pepino de acuerdo a la interacción tipo de nanopartícula (comercial y de síntesis) por las diferentes concentraciones.



Anexo 9. Longitud media de radícula de plántulas de pepino de acuerdo a la interacción tipo de nanopartícula (comercial y de síntesis) por las diferentes concentraciones.

