

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Respuesta Fisiológica de la Germinación de Semillas de Tomate (*Solanum lycopersicum*) Variedad Río Grande a Tratamientos con Nanopartículas de Óxido de Zinc y Óxido de Manganeso

Por:

ÁNGEL EDUARDO JUÁREZ GARCÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre del 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Respuesta Fisiológica de la Germinación de Semillas de Tomate (*Solanum lycopersicum*) Variedad Río Grande a Tratamientos con Nanopartículas de Óxido de Zinc y Óxido de Manganeso

Por:

ÁNGEL EDUARDO JUÁREZ GARCÍA

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. Arturo Mancera Rico
Coasesor



Dr. Antonio Flores Naveda
Coasesor


Dr. Gabriel Callegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre del 2018

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Emigdia García Gutiérrez

A ti que me dijiste muchas palabras de aliento y que me apoyaste durante toda mi formación, así mismo, por la paciencia que me has tenido y que estuviste ahí cuando necesitaba de ti. La distancia ha dado frutos mamá.

Pablo Juárez Alvarado

A ti papá, que me has apoyado toda la vida en las decisiones que he tomado, por todas las enseñanzas que me diste, las cuales nunca dejaré de aprender de ti, por siempre exigirme más de lo que he podido dar y porque has logrado hacer de mi la persona que hoy soy. También por darme las mejores herencias una formación profesional y el saber trabajar.

Obtengan la satisfacción de este y todos mis logros. Dios me los bendiga siempre y me los mantenga conmigo mucho tiempo más.

A MIS HERMANOS

A Erandi y Fernando que me dieron apoyo moral aun cuando he sido muy duro con ustedes. Hermano que este trabajo sea una inspiración más para ti.

A EL SR. PRIMO GONZALEZ

Porque desde mi primer día en la universidad me apoyaste incondicionalmente, me brindaste tu tiempo para escucharme y apoyarme en momentos difíciles. Dios te bendiga Primo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida que hoy tengo, por brindarme salud para llegar a este día, por cuidarme siempre donde he andado y guiarme por un camino lleno de enseñanzas.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro que fue un refugio para mí, un lugar de tranquilidad y al mismo tiempo fue un lugar lleno de pruebas diarias. Por permitirme formarme como profesionista. Pondré en alto tu nombre.

A mis padres que me apoyaron durante mi formación profesional. Este un logro de ustedes también. GRACIAS POR TODO.

A la Dra. Norma Angélica Ruíz Torres por los conocimientos que compartió conmigo. Por el apoyo, la confianza, el tiempo que me brindó en la realización de este trabajo de investigación y que siempre será un ejemplo para mí.

A el Dr. Arturo Mancera Rico y al Dr. Antonio Flores Naveda por el apoyo y tiempo que me brindaron al revisar este trabajo.

Al Dr. Juan José Galván Luna por los conocimientos que compartió conmigo, por el apoyo brindado, por darme una gran oportunidad de realizar mi primer trabajo de investigación siendo un estudiante aún. Gracias.

A Itzmally Eridany Ochoa muchas gracias, al siempre alentarme a ser mejor, a tener paciencia. me diste tu apoyo y me enseñaste el profundo significado de la palabra amor. Dios te bendiga y te colme de salud

A todos los compañeros y amigos que encontré en la universidad que de una u otra forma me apoyaron cuando tenía dificultades y en especial a Martín Peña por su amistad.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	OBJETIVO GENERAL.....	3
2.1.	Objetivos específicos	3
III.	HIPÓTESIS	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1.	Almacenamiento, vigor germinativo y deterioro de la semilla.....	5
4.2.	La nanotecnología	7
4.3.	La nanotecnología (NT) en la agricultura	8
4.4.	Función fisiológica y metabólica del Zinc (Zn) y del Manganeso (Mn) en plantas.....	10
4.4.1.	Zinc (Zn).....	10
4.4.2.	Manganeso (Mn).....	11
4.5.	Nanopartículas de Zinc (Zn) y Manganeso (Mn)	13
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
5.1.	Localización	18
5.2.	Material Genético	18
5.3.	Suspensión con Nanopartículas (NPs).....	18
5.4.	Aplicación de NPs a las semillas de <i>S. lycopersicum</i> Var. Río Grande	19
5.5.	Realización de bioensayos de germinación.....	19
5.6.	Evaluación de variables.....	20
5.7.	Diseño experimental	21
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
VII.	CONCLUSIONES.....	36
VIII.	LITERATURA CITADA	38

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables evaluadas en bioensayo con semilla de *Solanum lycopersicum* variedad Río grande, en respuesta a la aplicación de NPsZnO, Mn₂O₃ y Mn₂O₃ + NPsZnO.....23

Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en bioensayo de germinación de semilla de *Solanum lycopersicum* variedad Río grande, imbibida en suspensiones de NPsZnO, NPsMn₂O₃ y NPsMn₂O₃ + NPsZnO.....24

Cuadro 3. Comparación de medias de las variables evaluadas en bioensayo de germinación de semilla de *Solanum lycopersicum* variedad Río grande, imbibida en suspensiones de NPsZnO, NPsMn₂O₃ y NPsMn₂O₃ + NPsZnO en diferentes concentraciones.....27

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Interacción entre tratamientos y concentraciones de las NPs evaluadas en la variable vigor de germinación (%), sobre semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río grande.....28
- Figura 2. Interacción entre tratamientos y concentraciones de las NPs para la variable peso seco (mg/plántula) de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río grande30
- Figura 3. Efecto de la interacción entre tratamientos y concentraciones de NPs, para la variable longitud de vástago (cm) de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río grande.....31
- Figura 4. Interacción entre tratamientos y concentraciones de las NPs de Mn_2O_3 , ZnO y Mn_2O_3 -ZnO; en la variable Longitud de Radícula (cm) de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río grande.....32

RESUMEN

Respuesta Fisiológica de la Germinación de Semillas de Tomate (*Solanum lycopersicum*) Variedad Río Grande a Tratamientos con Nanopartículas de Óxido de Zinc y Óxido de Manganeso

En los últimos años se ha puesto en marcha investigación en nanotecnología (NT), de la cual se han obtenido logros importantes en diversas áreas de investigación y con diferentes utilidades. Una de ellas es la agricultura, que está siendo beneficiada al inducir el uso de nanopesticidas y nanofertilizantes. La NT, por comprender materiales de un tamaño nanométrico es favorable para el aprovechamiento de las plantas y un uso eficiente de los recursos, con el objetivo de disminuir el impacto ambiental que la agricultura provoca. Este trabajo se justifica en apoyar a la investigación sobre el uso de nanopartículas de óxido de zinc y óxido de manganeso, como promotor del vigor en el proceso de germinación y desarrollo de plántulas de tomate.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con el objetivo de conocer la respuesta a la aplicación de suspensiones de nanopartículas de óxido de zinc, óxido de manganeso y un manejo combinado de ambas, durante el proceso de imbibición (48 horas) de semillas de tomate rojo (*Solanum lycopersicum*) variedad Río Grande, a diferentes concentraciones (0,10, 20, 30, 40, 50,100 y 200 ppm). Posteriormente, se realizaron pruebas de germinación entre papel Anchor humedecido con agua destilada, colocando así 25 semillas en cada “taco”, enseguida se colocaron 4 repeticiones en una bolsa plástica y se ubicaron dentro de un contenedor de plástico en una cámara bioclimática a 25°C, con 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.

Cinco días posteriores a la imbibición, se evaluó la variable vigor de germinación y transcurridos 14 días de la siembra, se evaluaron las variables porcentaje de plántulas normales, plántulas anormales, semillas sin germinar, además del peso seco de plántula, longitud del vástago y longitud de la radícula. El experimento se analizó en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x8. También se hizo una comparación de medias con la Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), para determinar diferencias significativas entre tratamientos y entre concentraciones. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SAS Institute 9.1 (2004).

Los resultados indican que tratando semillas de tomate rojo var. Río Grande con NPsZnO a 50 ppm, causó un incremento en el vigor de germinación. Por otra parte, con 200 ppm se incrementó el peso seco de las plántulas, con referencia al testigo. Por su parte a las NPsMn₂O₃ a 200 ppm, aumentaron el porcentaje de vigor de germinación, y estimularon el crecimiento de la radícula. Por otro lado, en el manejo combinado de NPsZnO y NPsMn₂O₃, se obtuvieron incrementos en las variables vigor de germinación y longitud de radícula, a una concentración de 40 ppm. Por último, cabe señalar que se encontraron signos de toxicidad a concentraciones altas (>50 ppm) al combinar NPsZnO y NPsMn₂O₃.

Palabras clave: *Nanopartícula, Zinc, Manganeso, Vigor de germinación*

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la nanotecnología (NT) se ha convertido en uno de los campos de vanguardia más importantes e inquietantes en la física, la química, la ingeniería y la biología, con diversas innovaciones que están cambiando la dirección de los avances tecnológicos en agricultura (Poole y Owens, 2003).

Es importante saber que las nanopartículas (NPs) son una nueva clase de materiales que prometen una mejora significativa de nuestra vida y el medio ambiente en muchas formas. Existen numerosas líneas de investigación que se encuentran en curso en todo el mundo para el estudio fundamental de sus propiedades y aplicaciones llevadas a la práctica con el fin de obtener innovaciones para el bienestar de la humanidad y para la protección del ambiente, productos farmacéuticos, cuidado personal, revestimiento de superficies, plástico, textiles, alimentos, materiales de construcción, electrónica, etc. (Tsuzuki, 2009).

La NT, como mencionan Yadollahi *et al.* (2009), se considera una tecnología emergente, así mismo describe que se maneja un rango de 1 a 100 nanómetros (nm). Y es así como en los últimos años se ha dedicado mucho estudio a desarrollar la nanotecnología con fines sobre agricultura, como lo describe Quispe (2010), tiene un gran potencial y pudiera ser muy importante porque promete mantener cultivos sanos y mejor nutridos, y puede ayudar a incrementar de manera sustentable los rendimientos.

Se han realizado investigaciones sobre la implementación de NPs para estimular y/o promover la germinación y el crecimiento de plántulas en diferentes cultivos, Tal es el caso de las NPs de óxido de Zinc (ZnO) (Siddiqui *et al.*, 2015), que promueven la germinación y el crecimiento de plántulas. Así también Panwar *et al.* (2012), señalan un mayor crecimiento y producción de biomasa seca en plántulas de tomate cuando aplicaron 20 mg L^{-1} al follaje y que además encontraron altas

concentraciones en Zn en las hojas, confirmando así que ocurrió la penetración en las estomas y su translocación basipétala vía floema.

Sin embargo, el uso de NPs de óxido de Manganeseo (Mn_2O_3) con fines de estimulación en la germinación, vigor de semillas y otras respuestas fisiológicas no es un campo muy estudiado aún. Por lo anterior, uno de los objetivos de este trabajo de investigación, fue determinar las respuestas a la aplicación de nanopartículas de óxido de manganeso y de óxido de zinc en semillas y en el desarrollo de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Río Grande).

II. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la respuesta fisiológica de semillas deterioradas (de bajo vigor) de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río Grande, a la aplicación de nanopartículas de óxido de manganeso (NPsMn₂O₃), óxido de zinc (NPsZnO) y la combinación de ambas, durante la etapa de imbibición.

2.1. Objetivos específicos

1.- Estudiar los efectos que tienen las NPsMn₂O₃ en diferentes concentraciones (0, 10, 20, 30, 40, 50, 100 y 200 ppm), en el proceso germinativo de semilla de tomate var. Río Grande, aplicadas en la fase de imbibición en forma de suspensión.

2.- Estudiar los efectos que tienen las NPsZnO en concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 100 y 200 ppm, en el proceso germinativo de semilla de tomate var. Río Grande, aplicadas en la fase de imbibición en forma de suspensión.

3.- Estudiar los efectos que se presentan al combinar tratamientos con NPsMn₂O₃ y NPsZnO en diferentes concentraciones (0, 10, 20, 30, 40, 50, 100 y 200 ppm), en el proceso germinativo de semilla de tomate var. Río Grande, aplicadas en la fase de imbibición en forma de suspensión.

III. HIPÓTESIS

La aplicación de NPsZnO y de Mn_2O_3 a semillas de tomate var. Río Grande, durante la fase de imbibición, mejora el porcentaje de germinación y el vigor de las plántulas, por ser iones que participan en el metabolismo celular.

La aplicación de NPsZnO y de Mn_2O_3 a semillas de tomate var. Río Grande, durante la fase de imbibición, inhibe la germinación y el vigor de las plántulas.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Almacenamiento, vigor germinativo y deterioro de la semilla

Durante el almacenamiento de las semillas, mecanismos de deterioro disminuyen el porcentaje de germinación, así como la velocidad de crecimiento de las plántulas y la tolerancia a condiciones adversas; así mismo la generación de radicales libres (productos tóxicos) y la peroxidación de lípidos daña la integridad física de las membranas que, a su vez, causan pérdida de compartimentación celular y la expulsión de solutos (Bradford, 2004).

Incluso síntomas de la semilla deteriorada incluyen: crecimiento anormal, daños en estructuras principales de las plántulas, pérdida de compuestos solubles debido a excesiva permeabilidad de la membrana, reducción de la actividad enzimática, daño oxidativo al ADN y de las proteínas y producción de sustancias tóxicas como ácidos grasos libres (Basavarajappa *et al.*, 1991).

Según Copeland y McDonald (2001), una causa de la pérdida de germinación en lotes almacenados durante varios años es el consumo de reservas de la semilla. Por ejemplo, durante el envejecimiento natural de la semilla de maíz se reduce el contenido total de reservas, como carbohidratos y proteínas (Basavarajappa *et al.*, 1991), que es una causa importante de los efectos en el crecimiento y desarrollo de la nueva plántula, al avanzar el deterioro de la semilla. Sin embargo, hay ocasiones donde no ocurren reducciones de reservas, como lo comentan Cruz-Pérez *et al.* (2003), que detectaron semillas de maíz sin cambios significativos en el peso seco del endospermo, concluyendo que el tiempo no redujo la viabilidad de la semilla.

La semilla de cualquier especie presenta su más alto nivel de vigor y potencial germinativo en la madurez fisiológica, desde la cual se inicia un proceso continuo e irreversible de deterioro hasta perder su capacidad germinativa (Delouche, 2002). Así, el deterioro de una semilla se podría entender como una serie de cambios en

el tiempo, que afecta funciones vitales y su desempeño, hasta causar su muerte (Bradford, 2004).

En la investigación de Pérez *et al.* (2008), probaron que las variables relacionadas con el vigor y la germinación en semilla de tomate de cáscara disminuyeron linealmente durante los años de almacenamiento. Lo cual no sería la excepción de cualquier tipo de semilla.

El vigor de germinación es considerado como la habilidad para la emergencia en condiciones ambientales desfavorables y el desempeño de las semillas posterior al almacenamiento, particularmente en la retención de la capacidad germinativa (Hampton y Tekrony, 1995). Así mismo Gonzales *et al.* (2008), comentaron que es un potencial biológico que favorecerá a la semilla a su establecimiento rápido y uniforme, bajo condiciones favorables, desfavorables e incluso de campo.

Sin embargo, el deterioro es un padecimiento que sufre la semilla almacenada de soya (*Glycine max* L.), en donde se reduce la tasa respiratoria y la velocidad de emergencia de la radícula, las cuales son respuestas asociadas a la pérdida de vigor de la semilla (Ferguson *et al.*, 1990).

Es importante mencionar que la respiración de la semilla es un proceso bioquímico, el cual también definirá la viabilidad y la calidad de la semilla, ya que provee energía requerida para la germinación (De Viseer *et al.*, 1990); a lo que Morohashi *et al.* (1981) indican que el grado de intensidad respiratoria dependerá de la funcionalidad de las mitocondrias. Por lo tanto, las semillas vigorosas requieren mayor aporte energético que las no vigorosas (Ram & Wiesner, 1988).

Janmohammadi y Sabaghnia (2015) sugieren que la incorporación de nanopartículas como pretratamiento en semillas mejora notablemente el rendimiento en germinación y provoca una revitalización eficaz de las plántulas.

4.2. La nanotecnología

En los últimos años la nanotecnología (NT) se ha convertido en unos de los campos de vanguardia más importantes e inquietantes de la física, la química, la ingeniería y la biología, con diversas innovaciones que están cambiando la dirección de los avances tecnológicos en agricultura (Poole y Owens, 2003).

La NT es considerada como una tecnología emergente, se orienta a la caracterización, elaboración y aplicación de materiales de dimensiones muy pequeñas, en el rango de 1 a 100 nanómetros (nm), o sea de 1 a 100 billonésimas de metro (Yadollahi *et al.*, 2009).

Así mismo, la NT puede impactar dramáticamente en todos los sectores de la industria de los agronegocios en los próximos 10 años (Sabourin y Ayande, 2015); incluso Prasad *et al.* (2014) y Tsuzuki (2009), resaltan el crecimiento que tendrá la NT en todos los campos de trabajo.

Las NPs son una nueva clase de materiales que prometen una mejora significativa de nuestra vida y el medio ambiente en muchas formas. Existen numerosas líneas de investigación que se encuentran en curso en todo el mundo para el estudio fundamental de sus propiedades y aplicaciones llevadas a la práctica con el fin de obtener innovaciones para bienestar de la humanidad y para la protección del ambiente, productos farmacéuticos, cuidado personal, revestimientos de superficies, plásticos, textiles, alimentos, materiales de construcción, electrónica, etc. (Tsuzuki, 2009).

Prasad *et al.* (2014) comentan que la NT es un área de la investigación interdisciplinaria por el simple hecho que abre una amplia gama de oportunidades en diversos campos como la medicina, la industria farmacéutica, la electrónica y la agricultura.

Es innegable que la NT presenta beneficios y aplicaciones en la industria alimentaria según Cushen *et al.* (2012), ya que estará presente en el futuro como área estratégica. Hasta ahora algunas de las aplicaciones más desarrolladas incluyen: suplementos mejorados, nuevos alimentos envasados y pesticidas específicos de los cultivos. Pero la falta de inversión en países pobres podría significar que los beneficios de esta tecnología puedan limitarse a los países en desarrollo (Naderi y Danesh, 2013). Esto no significa que estos países tengan que esperar a que esta disciplina se consolide como un mercado, sino que deberían formar capacidades tecnológicas y humanas que permitan colocarse en el mercado mundial (Yáñez, 2010).

La NT puede hacer que la industria sea considerable más verde y competitiva (Sabourin y Ayane, 2015).

4.3. La nanotecnología (NT) en la agricultura

En la agricultura diversas áreas están siendo beneficiadas en un área importante donde se están aplicando las nuevas tecnologías para mejorar el rendimiento de los cultivos. Una de ellas es la nanotecnología (NT), que implica el empleo de nanopartículas (NPs) en la agricultura, donde estas impactarían con algunos efectos positivos para las plantas. La aparición de la NT y el desarrollo de nuevos materiales y dispositivos a nivel nano abren nuevos potenciales para aplicaciones en la agricultura y la biotecnología. Las NPs en compuestos de agroquímicos u otras sustancias, podrían reducir el daño a tejidos de las plantas y la cantidad de productos químicos liberados en el medio ambiente (Srilatha, 2011).

La NT en la agricultura pudiera ser muy importante ya que promete mantener cultivos sanos, mejor nutridos y puede ayudar a incrementar de manera sustentable los rendimientos considerando generar nanoplaguicidas, nanofertilizantes y nanoherbicidas (Quispe, 2010).

Los usos actuales de esta tecnología en el sector alimentario y agrícola son escasos, aun así, la aplicación de la NT a la agricultura y a la industria alimentaria está recibiendo la atención debido a sus beneficios potenciales, que van desde la mejor calidad, mantener la inocuidad de los alimentos y la reducción de insumos de la agricultura (Prasad *et al.*, 2014). En años recientes muchos esfuerzos se han venido realizando en centros de investigación e instituciones de educación superior de todo el mundo, esto con el fin de impulsar la investigación sobre la NT, con la finalidad de encontrar novedosas aplicaciones de esta emergente ciencia en la producción sustentable de alimentos y cultivos (Ditta *et al.*, 2015 y Kashyap *et al.*, 2015).

La aplicación de la NT en la agricultura comenzó con la idea de que las tecnologías agrícolas convencionales no podían ser capaces de lograr una productividad más elevada, ni restaurar los ecosistemas dañados por las tecnologías existentes. Esto debido a que los efectos a largo plazo de la agricultura con semillas mejoradas genéticamente, en conjunto con riego, fertilizante y pesticida se han cuestionado (Muckhopadhyay, 2014).

Juárez *et al.* (2016) indican que el uso de NPs en la agricultura puede ser favorable, mejorando el crecimiento de plántulas, asegurando de alguna manera el rendimiento y calidad del fruto.

Otro uso de la NT en postcosecha sería ayudar en la conservación y envasado de alimentos, en el fortalecimiento de fibras naturales, en la eliminación de los contaminantes del suelo y del agua, en el tiempo de conservación de vegetales y flores, en la recuperación de suelos afectados por la salinidad, y en la estabilización de superficies propensas a erosión (Muckhopadhyay, 2014).

Otro punto por el cual el uso de la NT en la agricultura es importante, es el impacto ambiental, ya que el uso de NT ofrece menos daños colaterales al medio ambiente

y a la salud humana. Lo cual aún está en pruebas y en espera de ser objeto de un uso más de la NT (Pereira *et al.*, 2014).

No obstante, se prevé un gran futuro a través de la exploración y explotación de los materiales biológicos de origen agrícola y natural, en beneficio de una sociedad sustentable, con el estudio de los diversos nanomateriales y/o NPs (Faunce *et al.*, 2013).

4.4. Función fisiológica y metabólica del Zinc (Zn) y del Manganeso (Mn) en plantas

4.4.1. Zinc (Zn)

El zinc es uno de los nutrientes esenciales y un componente muy importante de varias enzimas responsables de muchas reacciones metabólicas (Shyla y Natarajam, 2014). También desempeña una importante función en la síntesis de clorofila, germinación de semillas, producción de polen y de biomasa (Pandey *et al.*, 2010).

El zinc es un micronutriente esencial para el crecimiento y la mejora de plantas, desempeña la posición más importante en varias rutas metabólicas y es esencial para activar varias enzimas, como el superóxido dismutasa, triptófano sintetasa y las deshidrogenasas (Narendhran *et al.*, 2016).

El zinc que no sufre procesos redox en el vegetal, está involucrado en la síntesis de las auxinas (IAA), a través de la síntesis del triptófano, precursor de estas hormonas, mediante la actividad de la enzima triptófano sintetasa, que une la serina y el anillo indólico. Por consiguiente, la deficiencia de zinc se revela mediante un descenso drástico de los niveles de auxinas en el vegetal, además, las plantas deficientes exhiben una mayor actividad que degrada el IAA existente. Otra de sus cualidades es que este es un componente esencial de la ARN-polimerasa, es un

constituyente de los ribosomas, imprescindible para su integridad y, además es un retardador de la degradación del ARN (Gil, 1995).

Gil (1995) comenta que el Zn es absorbido como catión divalente (Zn^{2+}) y su disponibilidad en relación al pH es parecida a la del hierro (pH ácido), precipitando también con los fosfatos y siendo más disponible a pH medios (5 a 7). Así mismo menciona que su transporte es realizado en las plantas por medio del xilema y que se da como un ion libre o unido a ácidos orgánicos.

4.4.2. Manganeso (Mn)

El manganeso es esencial en la respiración y en el metabolismo nitrogenado, actuando en ambos casos como activador enzimático, ya que regula un gran número de decarboxilasas y deshidrogenasas (Amberger, 1973).

Gil (1995) hace mención sobre algunas de las funciones metabólicas del Mn, es un activador de las malato deshidrogenasas del ciclo del citrato, activador del isocitrato decarboxilasa, y está involucrado en la degradación oxidativa del ácido indolacético. Así mismo, es el ion predominante en la regulación del ciclo de Krebs. En ocasiones, en reacciones de respiración puede ser reemplazado por otros cationes divalentes como Mg^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} y Fe^{2+} ; siendo el magnesio el sustituto más universal.

Se ha demostrado que, en el desprendimiento fotosintético de oxígeno, en plantas superiores y algas, también se halla involucrando este micronutriente en la mangano-proteína que cataliza la transferencia de electrones desde el agua al fotosistema II, que requiere un mínimo de cuatro átomos de Mn por cada centro de reacción, siendo esta la función más notable del Mn en los vegetales autótrofos (Gil, 1995). Incluso Schulte y Kelling (1999), indican que el manganeso funciona con una enzima activadora en la fotosíntesis.

En la planta, el manganeso desempeña un papel importante en los procesos de oxidación y reducción, como es el transporte de electrones en la fotosíntesis. Además, el Mn actúa como un activador de muchas enzimas (más de 35). Es importante mencionar que tiene un papel relevante en la activación de varias enzimas que implican reacciones de oxidación, carboxilación, metabolismo de carbohidratos, reacciones de fósforo y ciclo de ácido cítrico. De las enzimas más importantes, la proteína de Mn en el fotosistema II y la superóxido dismutasa se pueden apuntar. Hay más del 90% de la superóxido dismutasa en los cloroplastos, y alrededor de 4 al 5 % se encuentra en las mitocondrias (Millaleo *et al.*, 2010; Mukhopadhyay y Sharma, 1991; Jackson *et al.*, 1978; Uehara *et al.*, 1974).

El Mn participa en la producción de clorofila y su presencia es esencial en el Fotosistema II, también está involucrado en la división celular y en el crecimiento de las plantas. La ARN polimerasa se activa con Mn, además tiene un papel efectivo en el metabolismo de los lípidos, y debido a la participación del Mn en las enzimas de reducción de nitratos, el nitrato se acumula en las hojas que se enfrentan con la deficiencia de este ion. Además, la cantidad de lignina en la planta disminuye debido a la deficiencia de Mn, sin embargo, esta reducción es más severa en las raíces, efecto importante para la resistencia a los hongos que la infectan (Anderson y Pylotis, 1996; Marschner, 1995; Ness & Woolhouse, 1980).

Además, dentro de las funciones del Mn, tales como la intervención en la síntesis de proteínas, ya que participa en la asimilación del amonio (NH_4^+); regula el metabolismo de los ácidos grasos, fomenta la formación de raíces laterales, activa el crecimiento, influyendo en el crecimiento alargador de las células, es un activador de enzimas esencial en la respiración celular y en el metabolismo del nitrógeno (Marschner, 1995).

La recomendación de aplicación de Mn es cuando se tiene 10 ppm o menor, en forma de un catión divalente (Mn^{2+}) y el pH tiene que ser superior a 7 (Schulte y Kelling, 1999).

En cuanto a su toxicidad, Marschner (1995) menciona que el Mn provoca en hojas viejas y en el peciolo pequeñas manchas puntiformes, debido a la acumulación de MnO_2 . Estas manchas son rodeadas más tarde por un borde clorótico. También llega a competir por sitios de unión con magnesio en las raíces y también bloquea los sitios de ligamiento. La toxicidad por manganeso puede ser contrarrestada con un fuerte suplemento de magnesio.

4.5. Nanopartículas de Zinc (Zn) y Manganeso (Mn)

Khot *et al.* (2012) y Kardos *et al.* (2014) hacen referencia a que las NPs son una opción muy prometedora debido a su tamaño, volumen de superficie y sus propiedades fisicoquímicas.

El efecto promotor o inhibidor del crecimiento de las NPs en las plantas está relacionado con su concentración, tamaño, las propiedades inherentes del elemento involucrado, así como la función fisiológica y bioquímica que desempeña en la planta; y su papel como micronutriente tratándose de cobre, zinc u alguno otro (Wang *et al.*, 2015).

La interacción de las células vegetales con NPs metálicas y NPs de óxidos metálicos han causado en algunos casos genotoxicidad en las plantas, incluyendo no solo el ADN, sino también a los componentes celulares relacionados con la funcionalidad de los cromosomas, debido a la modificación de la expresión genética en las plantas (Atha *et al.*, 2012 y Vannini *et al.*, 2013).

El tamaño nanométrico de las NPs les da mayor facilidad de penetración a través de las membranas biológicas, en comparación con los materiales con escala micrométrica, lo cual les da una mayor facilidad de penetrar la membrana y pared celular, causando cambios morfo-fisiológicos (Eichert *et al.*, 2008 y Sabir *et al.*, 2014). Es por ello que mencionan que las NPsZnO desempeña un papel vital en

los procesos bioquímicos, fisiológicos y anatómicos, relacionados con el crecimiento de plantas (Zafar *et al.*, 2016).

Existe la posibilidad de aplicar una amplia gama de NPs para mejorar las características fisiológicas y morfológicas en la germinación y crecimiento de plántula (Mingyu *et al.*, 2007).

Los diversos tipos de NPs metálicas como las de Ag, Fe, Cu, Zn, Mn, etc., pueden ser utilizadas con un enfoque dual, ya sea como nanofertilizantes al promover el crecimiento de las plantas (Jeyasubramanian *et al.*, 2016) o como nanofungicidas.

Las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO), en el sector agrícola son estudiadas por su actividad anti-microbial (Fang *et al.*, 2013 y Sabir *et al.*, 2014) y por su potencial como nanofertilizantes, corrigiendo las deficiencias de zinc en las plantas y promoviendo crecimiento y desarrollo (Naderi y Shahraki, 2013; Raskar y Laware, 2014; Dimkpa *et al.*, 2015).

Existen reportes indicando que las NPsZnO incrementan el nivel de AIA en raíces y en los brotes apicales, promoviendo de esta forma la velocidad de crecimiento en las plantas (Shyla y Natarajan, 2014). Así mismo el efecto de las NPsZnO en el crecimiento de las plantas, podría relacionarse a la actividad que tiene el zinc como precursor en la producción de auxinas reguladoras del crecimiento, las cuales también promueven la elongación y división celular (Rehman *et al.*, 2012).

En los trabajos de Siddiqui *et al.* (2015), desarrollados con la aplicación de NPs en varias especies agrícolas, indican que las NPsZnO promueven la germinación y el crecimiento de plántula; y Burman *et al.* (2013) señalan que la aplicación de NPs ZnO incrementa la germinación y el vigor de las semillas.

Vasanth *et al.* (2016) indican que el potencial de las NPs mejora el vigor de las semillas y la velocidad de germinación, atribuido a una mejora en el potencial

hídrico de las semillas y mayor degradación de reservas, esto último refiriéndose a la hora de iniciar el proceso de germinación.

El efecto positivo de las NPsZnO en las plantas incluye un mayor porcentaje de germinación, incremento en la longitud de plúmula y radícula, mayor acumulación de biomasa, debido a una mayor actividad fotosintética (Jayarambabu y Siva, 2015; Durairaj *et al.*, 2015; Razzaq *et al.*, 2015).

Trabajos efectuados en diversas especies de plantas confirman que las NPsZnO promueven la germinación y crecimiento de plántulas (Siddiqui *et al.*, 2015). En el reporte de Panwar *et al.* (2012), se señala un mayor crecimiento y producción de biomasa seca en plántulas de tomate cuando aplicaron 20 mg L⁻¹ al follaje; además, encontraron altas concentraciones de Zn en las hojas, confirmando con ello que ocurrió la penetración en los estomas y su traslocación basipétala vía floema. Otro estudio realizado por Prasad *et al.* (2012), indica que en semillas de cacahuate una concentración de 1000 mg L⁻¹ de NPsZnO promueven la germinación, así como la elongación de raíz y tallo.

Así también, plantas de pepino cultivadas en maceta obtuvieron incrementos significativos en longitud y biomasa seca de la raíz, con la incorporación al suelo de 400 y 800 mg/kg⁻¹ de NPsZnO, estos investigadores consignan que concentraciones elevadas no afectaron negativamente a las plantas (Zhao *et al.*, 2014).

Sin embargo, Lin y Xing (2007) comentan que si la concentración de NPs aplicada es alta, puede repercutir en daños múltiples que causan disminución de la germinación de semillas y del tamaño de plántulas, además de la calidad y del rendimiento, lo cual resulta en alteraciones del metabolismo; promoción o reducción de longitud del tallo y raíces, área foliar, biomasa, acumulación de nutrientes en los tejidos, incremento en la concentración de NPs en granos, tallos y raíces; así como en diversas alteraciones bioquímicas.

Otro ejemplo son los estudios de (Kyung Seok y Kong, 2014; Zhang *et al.*, 2015) señalan que concentraciones elevadas (1000 mg L^{-1}) causan fitotoxicidad e inhibición de la germinación. En contraste Prasad *et al.* (2012), mencionan que dosis bajas ($< 50 \text{ mg L}^{-1}$) han demostrado efectos significativos en el crecimiento y desarrollo, reflejándose en una mayor biomasa seca y área foliar. Este último efecto promotor ha sido atribuido al zinc, por ser este uno de los micronutrientes esenciales demandados para la división celular y por su importancia como componente de varias enzimas como lo indican (Pandey *et al.*, 2010).

En otras pruebas llevadas a cabo durante la germinación, las NPsZnO con dosis de 250 a 2000 mg L^{-1} , promovieron incrementos significativos de clorofila y proteína en plántulas de trigo (Raliya y Tarafdar, 2013); mientras que, en concentraciones bajas (10 y 20 mg L^{-1}) de estas mismas NPs, mejoraron la germinación de semillas de cebolla (Ramesh *et al.*, 2014).

En plantas de soya la dosis de 1.0 g L^{-1} de NPsZnO promovió efectos significativos en la germinación y crecimiento (Sedghi *et al.*, 2013).

Es como así muchos estudios indican que los efectos beneficiosos de las NPsZnO podrían atribuirse a una mayor producción de enzimas responsables de las reacciones metabólicas (Krishna y Natarajan, 2014), lo cual se ve reflejado en el vigor y la germinación de la semilla.

Es de importancia citar y tomar en cuenta a Elizabeth *et al.* (2017), donde reportaron que el efecto de las NPsZnO depende de las concentraciones, y varía de planta a planta.

La aplicación de NPsMn en 0.05 mg L^{-1} en leguminosas aumentó el crecimiento de plantas, esto respecto al tratamiento testigo. Así mismo incremento la longitud de

raíz en un 52%, longitud del tallo un 38%, número de raíces un 71%, biomasa seca 100% y biomasa fresca 38% (Pradhan *et al.*, 2013).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), ubicado en el interior de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

5.2. Material Genético

Se utilizó semillas de tomate rojo (*Solanum lycopersicum*) variedad Río Grande, conservadas en contenedor de vidrio y a 4 °C; con 80% de germinación y 43 % de vigor de germinación (previamente calculado en bioensayos), esto con la finalidad de obtener respuestas ante la aplicación de NPs.

5.3. Suspensión con Nanopartículas (NPs)

Los tratamientos se prepararon en concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50, 100 y 200 ppm, con NPsZnO de una pureza de 99.8% y un tamaño de 200 nm, así también, NPsMn₂O₃ de una pureza de 98% y de un tamaño que oscila entre 40 a 60 nm. La preparación de suspensiones consistió en pesar las nanopartículas de acuerdo con la concentración requerida, esto con ayuda de una espátula y balanza analítica (marca AND; modelo: HR-200). Se continuó a depositar las nanopartículas ya pesadas a tubos para centrifuga cónicos de tipo Falcón con tapa de rosca, aforando a 50 ml, con agua destilada; posteriormente se colocó en un agitador Vortex (marca: LABNET; modelo: VX100) por 15 minutos para cada concentración, con la finalidad de lograr una dispersión homogénea de las NPs.

En el tratamiento donde se combinaron los dos tipos de NPs (Mn₂O₃ y ZnO), las suspensiones se prepararon con el mismo método.

5.4. Aplicación de NPs a las semillas de *S. lycopersicum* Var. Río Grande

Una vez preparadas las suspensiones de NPs, se procedió a colocar 25 semillas de tomate en cada caja Petri sobre papel filtro, enseguida se agregó la suspensión de cada NPs a una razón de 20 ml por caja Petri, y en el testigo se aplicó 20 ml de agua destilada. Esto se repitió en cada concentración (0,10, 20, 30, 40, 50, 100 y 200 ppm) y en los tratamientos de NPsMn₂O₃, NPsZnO y NPsMn₂O₃ + NPsZnO. Una vez aplicada la suspensión de NPs correspondiente a cada tratamiento, se dejaron en proceso de imbibición durante 48 horas en una cámara bioclimática Thermo Scientific de precisión a 25 °C con 16 horas luz y 8 horas oscuridad.

En cuanto al tratamiento con NPsMn₂O₃ + NPsZnO, se sometió la semilla primero a la imbibición con NPsMn₂O₃ por 24 horas, al término, se retiraron las semillas y en otras cajas Petri (previamente marcadas) se les agregó 20 ml de suspensión de NPsZnO, cumpliendo un proceso de imbibición de 48 horas, igualmente en la cámara bioclimática a 25°C con 16 horas luz y 8 horas oscuridad.

5.5. Realización de bioensayos de germinación

Una vez pasado el tiempo de imbibición, se procedió a realizar un ensayo de germinación estándar, para lo cual las semillas tratadas con NPs se sembraron en una hilera uniforme entre dos pliegos de papel Anchor, los cuales se humedecieron previamente con agua destilada.

Enseguida se prosiguió a enrollar el papel conteniendo las semillas en forma de “taco”, al finalizar fueron marcados con la repetición correspondiente y el tratamiento. Después se colocaron dentro de una bolsa de polietileno, que fue situada dentro de una bandeja plástica profunda de forma vertical y mantenida en una cámara bioclimática Thermo Scientific de precisión a 25 °C con 16 horas luz y 8 horas oscuridad, por 14 días.

5.6. Evaluación de variables

- **Vigor de germinación (Primer conteo):** esta evaluación se realizó 5 días después de imbibir las semillas en las suspensiones con NPs, se contaron únicamente las plántulas normales, estas son las que desarrollaron tanto radícula como plúmula, con al menos un tamaño 2 veces al de la semilla.
- **Plántulas normales:** a los 15 días se cuantificaron todas las plántulas que desarrollaron sus estructuras de forma uniforme, las cuales tienen un sistema radicular desarrollado, un vástago completo y los cotiledones desarrollados.
- **Plántulas anormales:** todas aquellas que tenían su raíz primaria dañada, sin desarrollo y/o emergencia, con poco vigor, con geotropismo negativo, sin raíces secundarias; el brote (hipocótilo, epicótilo, mesocótilo) sin desarrollo, ensanchado, torcido o sin emergencia; que los cotiledones y hojas hayan estado deformes, necróticos o dañados por infecciones.
- **Semillas sin germinar (SSG):** todas aquellas semillas en las que no brotó ninguna estructura (radícula o vástago).
- **Longitud de vástago (LV) y longitud de radícula (LR):** se midió la longitud, tanto de vástago como de radícula, de cada plántula normal, que no presentaron rasgos de anormalidad. Este dato se determinó en centímetros (cm) con ayuda de una regla graduada.
- **Peso seco (PS):** una vez terminadas las evaluaciones anteriores, se prosiguió a colocar las plántulas en bolsas perforadas de papel estraza, las cuales se identificaron y se sometieron a un secado de 24 horas a 72°C, en una estufa de secado modelo H-48; una vez que transcurrió el tiempo, se colocaron en un desecador por 15 minutos, posteriormente se tomó el peso

seco de las plántulas con la ayuda de una balanza analítica y el dato se reportó en miligramos (mg) por plántula.

5.7. Diseño experimental

El trabajo se estableció en un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 3 x 8 (tres tratamientos con NPs y ocho concentraciones 0, 10, 20, 30, 40, 50, 100 y 200 ppm); cada tratamiento con 4 repeticiones. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias usando la Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), para lo cual se utilizó el paquete estadístico de SAS Institute 9.1 (2004).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza de las variables evaluadas en el estudio de germinación de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río Grande, tratadas con NPsZnO, NPsMn₂O₃ y NPsZnO+NPsMn₂O₃ en diferentes concentraciones (Cuadro 1), reveló diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre tratamientos en las variables porcentaje de vigor de germinación, peso seco de plántula, longitud del vástago y longitud de radícula. Asimismo, en la fuente de variación concentración y en la interacción tratamientos por concentración, se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0.01$) en las variables vigor de germinación, longitud del vástago y longitud de radícula. Además, se obtuvieron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en la variable peso seco de plántula.

En cuanto a la comparación de medias (Cuadro 2), en las variables evaluadas se encontró que las NPsZnO incrementaron significativamente el vigor de germinación a 67% con respecto a los otros dos tratamientos que presentaron 39 % (NPsMn₂O₃) y 43 % (NPsZnO+NPsMn₂O₃). Esto coincide con Burman *et al.* (2003), quienes señalan que la aplicación de esta nanopartícula incrementó el vigor de las semillas, y con Vasanth *et al.* (2016) que atribuyen a que las NPsZnO mejoran el potencial hídrico de las semillas y la mayor degradación de reservas, al momento de iniciar el proceso de germinación. Por otra parte, las NPsMn₂O₃ y la combinación de NPsZnO+NPsMn₂O₃ obtuvieron valores por debajo del valor medio para el vigor de germinación. Sin embargo, al tratar las semillas con NPsMn₂O₃ durante el proceso de imbibición, mejoró el peso seco de plántula, la longitud del vástago y de radícula, variables relacionadas con el vigor de plántula.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables evaluadas en bioensayo con semilla de *Solanum lycopersicum* variedad Río grande, en respuesta a la aplicación de NPsZnO, Mn₂O₃ y Mn₂O₃ + NPsZnO.

F. V.	G.L.	VIGOR (%)	GERMINACIÓN (%)	PA (%)	SSG (%)	PS (mg/plántula)	G.L.	LV (cm)	LR (cm)
TRAT	2	5246.88**	0.01 ^{NS}	46.22 ^{NS}	52.66 ^{NS}	0.33**	2	41.17**	156.61**
CONC	7	460.66**	5.30 ^{NS}	7.33 ^{NS}	6.82 ^{NS}	0.04*	7	16.93**	37.92**
TRAT*CONC	14	277.23**	58.92 ^{NS}	54.85 ^{NS}	44.53 ^{NS}	0.03*	14	15.09**	38.89**
ERROR	48	71.11	62.00	38.00	43.11	0.01	1871	2.38	8.06
CV%		16.99	9.74	68.91	64.58	9.18		27.15	44.29

F. V= Fuentes de variación; TRAT= Tratamiento; CONC= Concentración; G.L.= Grados de libertad; CV%= Coeficiente de variación en porcentaje; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS=Peso seco de plántula; LV=Longitud del vástago; LR= Longitud de radícula; NS= No significativo; *, ** = Significativos al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en bioensayo de germinación de semilla de *Solanum lycopersicum* variedad Río grande, imbibida en suspensiones de NPsZnO, NPsMn₂O₃ y NPsMn₂O₃ + NPsZnO.

TRATAMIENTO	VIGOR (%)	GERMINACIÓN (%)	PA (%)	SSG (%)	PS (mg/plántula)	LV (cm)	LR (cm)
NPsZnO	67 a	81 a	11 a	8 a	1.45 b	5.39 b	6.35 b
NPsMn ₂ O ₃	39 b	81 a	9 a	10 a	1.56 a	5.76 a	6.92 a
NPsZnO + NPsMn ₂ O ₃	43 b	81 a	8 a	11 a	1.33 c	5.90 a	5.93 c
\bar{X}	50	81	9	10	1.44	5.68	6.41
Tukey (P>0.05)	5.88	5.49	4.30	4.58	0.09	0.20	0.37

Valores con la misma literal dentro de cada columna son estadísticamente iguales; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántula; LV=Longitud del vástago; LR= Longitud de radícula.

La aplicación de NPsZnO+NPsmn₂O₃ durante la imbibición, reveló un incremento significativo en la variable longitud del vástago con respecto a tratar las semillas únicamente con NPsZnO, y contrariamente causó una deficiente longitud de radícula, lo cual puede ser indicativo de fitotoxicidad (Cuadro 2).

Monreal *et al.* (2015) indica que las NPs de Zn y Mn, entre otras; pueden tener el potencial para aumentar el crecimiento de las plantas, esto debido a un crecimiento en la eficiencia en el uso de micronutrientes por los cultivos, ya sea que se apliquen a los suelos o follaje. A lo que agregaríamos que las NPs aplicadas en el proceso de imbibición, en este trabajo, influyen en el crecimiento de plántulas.

El análisis de comparación de medias por concentración de nanopartículas (Cuadro 3), arrojó que una concentración de 200 ppm mejora el vigor de germinación. Sin embargo, estadísticamente es igual que tratar las semillas con 20 ppm de NPs. Este último tratamiento manifestó efectos positivos en las variables longitud del vástago y longitud de radícula. Cabe señalar que incluso una concentración de 50 ppm de NPs aumenta la longitud de radícula, pero no la del vástago.

Las variables porcentaje de germinación y peso seco de plántula, mostraron un comportamiento estadísticamente igual al testigo (Cuadro 3). En contraste, Siddiqui *et al.* (2015), mencionan que las NPsZnO promueven la germinación, así como también Prasad *et al.* (2012) indican que en semillas de cacahuate a una alta concentración (1000 ppm), incrementó la germinación. Otro ejemplo claro es el estudio de Ramesh *et al.* (2014), en el cual en concentraciones de 10 y 20 ppm de NPsZnO, mejoraron la germinación en semillas de cebolla. Por su parte, Kyung Seok y Kong (2014) y Zhang *et al.* (2015) señalan que concentraciones elevadas (1000 mg L⁻¹) causan fitotoxicidad e inhibición de la germinación.

En contraste, Mukherjee *et al.* (2013) trabajaron con *Pisum sativum*, demostrando que la toxicidad de las plantas por la aplicación de NPsZnO se debe a la concentración aplicada, de igual manera mencionan que las NPs pueden actuar de modo distinto y esto depende de la forma de aplicación, la tasa de absorción, lo cual se relaciona con el tamaño y las propiedades de la superficie de las

nanopartículas. Por lo anterior, los resultados obtenidos (Cuadro 3) no presentaron signos de fitotoxicidad con las concentraciones de nanopartículas evaluadas, ya que hubo respuesta favorable para germinación, longitud de vástago y de radícula, en al menos una concentración (20 ppm).

Para reforzar lo antes mencionado, podemos citar a Castiglione y Cremonini (2009), quienes indican una preocupación por la aplicación de NPs en la germinación de semillas y la fitotoxicidad que se presenta a altas concentraciones, de igual forma que se puede presentar con cualquier producto químico que se utilice en exceso en las practicas agronómicas.

Cuadro 3: Comparación de medias de las variables evaluadas en bioensayo de germinación de semilla de *Solanum lycopersicum* variedad Río grande, imbibida en suspensiones de NPsZnO, NPsMn2O3 y NPsMn2O3 + NPsZnO en diferentes concentraciones.

CONC (ppm)	VIGOR (%)	GERMINACIÓN (%)	PA (%)	SSG (%)	PS (mg/plántula)	LV (cm)	LR (cm)
0	44 bcd	80 a	11 a	9 a	1.502 a	5.913 ab	6.065 b
10	39 d	82 a	8 a	9 a	1.445 a	5.675 abcd	5.984 b
20	50 abcd	80 a	8 a	12 a	1.497 a	6.027 a	6.695 ab
30	44 cd	81 a	8 a	10 a	1.440 a	5.936 ab	6.418 ab
40	57 ab	80 a	10 a	10 a	1.516 a	5.711 abc	6.737 ab
50	53 abc	81 a	8 a	10 a	1.493 a	5.527 a cd	7.103 a
100	50 abcd	81 a	9 a	10 a	1.344 a	5.256 d	6.324 ab
200	60 a	80 a	8 a	11 a	1.356 a	5.394 cd	5.985 b
\bar{X}	50	81	9	10	1.44	5.68	6.41
Tukey (P>0.05)	12.60	11.80	9.20	9.80	1.198	0.431	0.792

CONC= Concentración; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco; LV=Longitud del vástago; LR= Longitud de radícula.

Con respecto a una eficiente utilización de material se puede comentar que, con la utilización de 20 ppm se mejora la longitud del vástago y de radícula; esto, sin afectar el porcentaje de germinación, manteniendo el peso seco por plántula.

Por otra parte, en la interacción tratamientos x concentraciones en la variable de vigor de germinación (Figura 1), se muestra como las NP_sZnO presentaron mejor respuesta a concentraciones de 40 y 50 ppm. Sin embargo, las NP_sMn₂O₃ exhibieron un bajo vigor a bajas concentraciones (<200 ppm). Considerando que posiblemente se requiera incrementar la concentración por arriba de 200 ppm. Al aplicar ambas NPs durante la imbibición, el mejor resultado se observó con 40 ppm, ya que, al incrementar la dosis, se redujo el vigor de germinación paulatinamente.

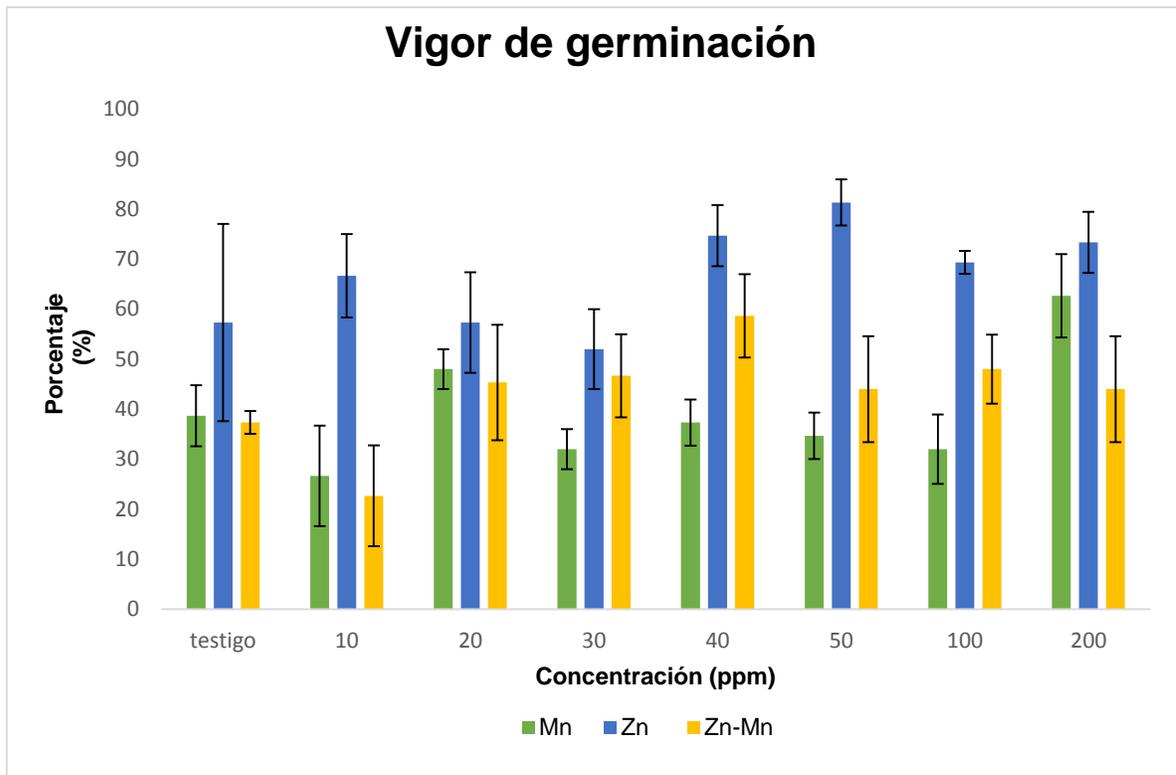


Figura 1. Interacción entre tratamientos y concentraciones de las NPs, evaluadas en la variable vigor de germinación (%), sobre semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río grande.

Zhao *et al.* (2014) reportó que en su trabajo con *Salvinia natans* aplicando NPsZnO en dosis de 50 mgL⁻¹, obtuvo un resultado de estrés oxidativo, sin embargo, el crecimiento de la planta no se vio afectado de manera significativa.

En la Figura 2, se observa como las NPsMn₂O₃ incrementaron el peso seco (mg/plántula) a concentraciones bajas (40 y 50 ppm), esto en comparación con lo que reportan Pradhan *et al.* (2013), que a una concentración muy baja (0.05 mg L⁻¹) de NPsMn₂O₃ se incrementó el peso seco en leguminosas. Sin embargo, en este estudio las concentraciones altas (100 y 200 ppm) provocaron una disminución del peso seco de las plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) var. Río Grande, considerando un posible daño por toxicidad.

En la misma evaluación, la aplicación de NPsZnO a la semilla, mostró en la variable peso seco de plántula, ser igual al testigo. A lo que Prasad *et al.* (2012) reportan que dosis bajas de Zn (<50 mg L⁻¹) han demostrado efectos significativos en el crecimiento y desarrollo, reflejándose en un mayor peso seco.

A su vez, los tratamientos con NPsZnO+NPsMn₂O₃ en las diferentes concentraciones, no manifestaron cambios sobresalientes en el peso seco de plántulas, considerando que no provoca toxicidad (Figura 2), ni mejora la acumulación de materia seca (con respecto al testigo).

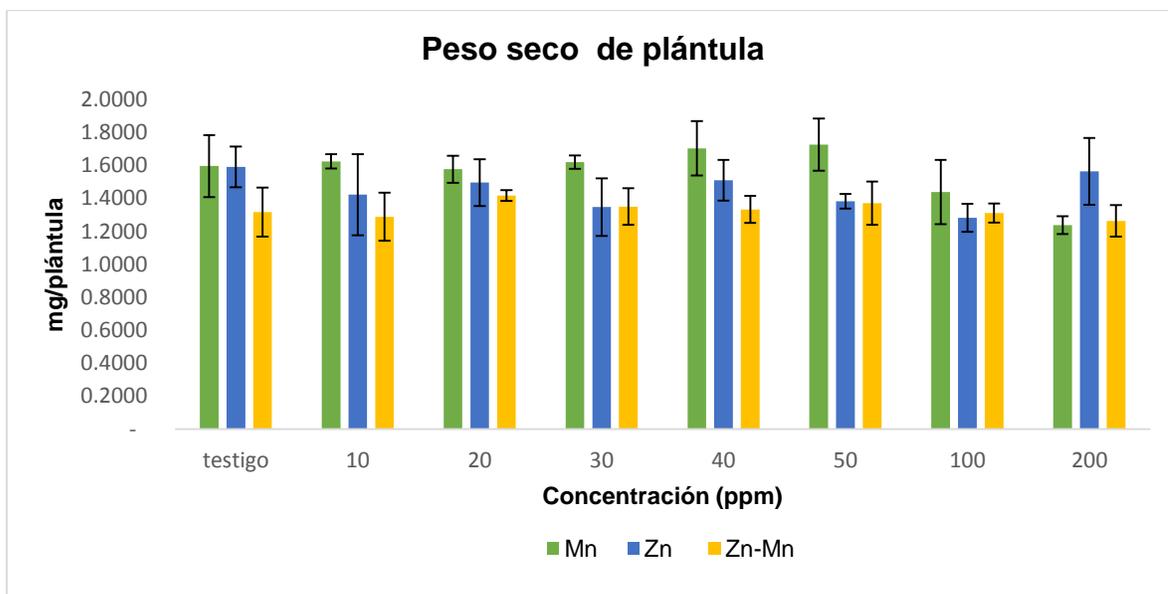


Figura 2. Interacción entre tratamientos y concentraciones de las NPs para la variable peso seco (mg/plántula) de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río grande.

Con respecto a la evaluación sobre el crecimiento, la longitud del vástago (cm) aumentó significativamente en la concentración de 30 ppm utilizando las NPs ZnO-Mn₂O₃ (Figura 3) aunque no podemos decir lo mismo en cuanto a la longitud de radícula (Figura 4), donde no mejoró en comparación con el testigo. Las concentraciones mayores a 30 ppm muestran una disminución de crecimiento de vástago con relación a el testigo, indicando una probable fitotoxicidad de esta combinación, y que de acuerdo con Cakmak y Marshner (1993), en su trabajo con *Phaseolus vulgaris*, donde mencionan que la toxicidad de Zn está indicada por la reducción en el crecimiento y desarrollo. Otro punto de vista fue el de Raskar y Laware (2014), en el cual mencionan que, al germinar semillas de cebolla, las plántulas se desarrollan a bajas concentraciones.

En el presente estudio, en el crecimiento de la radícula (Figura 4) sobresalió la concentración de 40 ppm, con el tratamiento NPs ZnO-Mn₂O₃, causando de igual manera una toxicidad en altas concentraciones (50, 100 y 200 ppm).

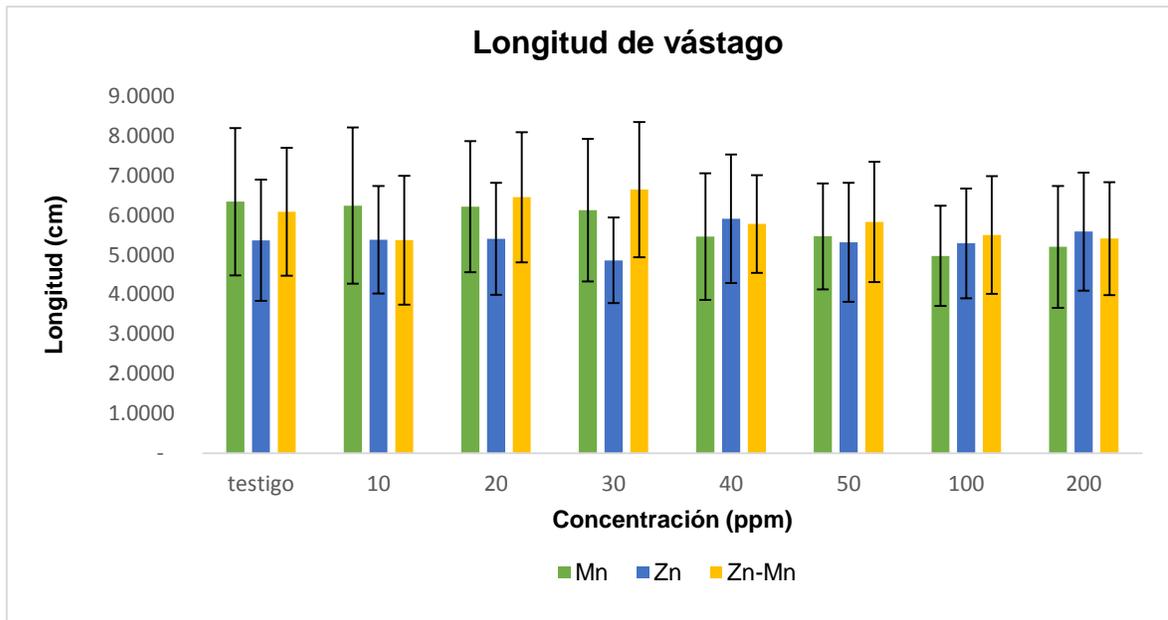


Figura 3. Efecto de la interacción entre tratamientos y concentraciones de NPs, para la variable longitud de vástago (cm) de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río grande.

Por otra parte, para la variable longitud de vástago, las NPs Mn_2O_3 obtuvieron resultados similares al testigo en concentraciones bajas (20 y 30 ppm), ya que en altas (>30 ppm) se redujo la longitud del vástago (Figura 3), a pesar de que en el crecimiento de radícula expresó un crecimiento en concentraciones de 50 y 100 ppm (Figura 4). Esto indica que debe haber un equilibrio de Manganeseo y, como bien mencionan Foy *et al.* (1978), que el exceso de Mn generalmente afecta a las plantas más severamente en las raíces, aun cuando la toxicidad de este elemento varía entre especies de plantas. Otros datos importantes de comparar con estos resultados son el de (Pradhan *et al.*, 2013), donde reportan que una concentración de 0.05 mg L^{-1} de NPs Mn en leguminosas aumentó el crecimiento de raíz en un 71% y el de vástago un 38%.

En base a lo anterior, los resultados obtenidos en este trabajo no coinciden con Cruz *et al.* (2017), que al trabajar con NPs $Zn + Fe$ hallaron que se modificó

favorablemente la expresión de las variables vigor de germinación y longitud media del vástago, a una concentración de 10 ppm, aplicadas durante el proceso de imbibición en semillas de *Cucurbita pepo* var. Grey Zucchini y que a 5 ppm de concentración aumenta la longitud de radícula.

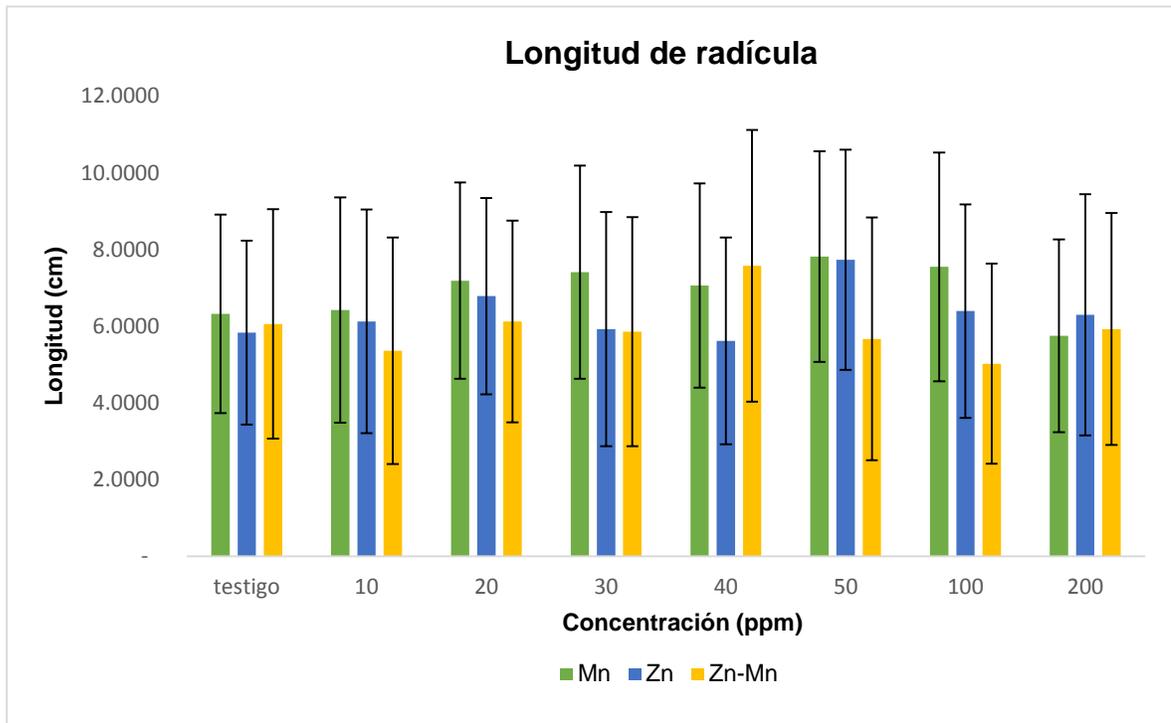


Figura 4. Interacción entre tratamientos y concentraciones de las NPs de Mn_2O_3 , ZnO y Mn_2O_3-ZnO ; en la variable Longitud de Radícula (cm) de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río grande.

En lo que corresponde a las NPs ZnO , no arrojaron incrementos significativos con respecto al crecimiento del vástago (cm). Sin embargo, sobresalió en las concentraciones de 40 ppm con referencia al testigo (Figura 3). Por otro lado, en el crecimiento de la radícula (cm) mostró que, a 50 ppm, causó un aumento (Figura 4). Estos resultados obtenidos dan mucho a pensar en lo que reportan (Rehman *et al.*, 2012), donde hacen énfasis que el efecto de las NPs ZnO y que este es un

precursor en la producción de auxinas reguladoras del crecimiento, y que a su vez promueven la elongación y división celular.

Se debe agregar lo que Choi *et al.* (1996), Ebbs y Kochian (1997) y Fontes y Cox (1998) mencionan y que coinciden al indicar que los altos niveles de Zn en suelo inhiben muchas funciones metabólicas de la planta que dan como resultado la limitación del crecimiento de raíz y del vástago. A lo que en contraste con Zhao *et al.* (2014), reportan en su trabajo con elevadas concentraciones (400 y 800 mg L⁻¹) en plantas de pepino cultivadas en maceta y que tuvieron incrementos significativos en longitud de planta y biomasa seca de raíz.

Méndez *et al.* (2016) reportan que al aplicar NPsZnO + Ag al 1.25% incrementó significativamente la altura (16.8%), área foliar (28.31%), biomasa seca (52.8%) y longitud de raíz (23.7%), en relación con el tratamiento control. Aun cuando su aplicación fue foliar presentó resultados favorables el uso de un manejo dual de NPs. Nuestros resultados fueron similares, ya que en nuestra aplicación de forma dual de NPsMn₂O₃-ZnO, se observaron incrementos en la longitud del vástago (30 ppm) y en longitud de radícula (40 ppm).

Recordando lo antes citado por Foy *et al.* (1978), sobre altas dosis de Manganeseo y de Zinc reiterando en lo que concluyen (Choi *et al.*, 1996; Ebbs y Kochian, 1997; y Fontes y Cox, 1998) sobre los niveles altos de este último, y su actividad de inhibir muchas funciones metabólicas que causan limitaciones de crecimiento y por lo tanto plantas de una calidad menor.

Por consiguiente, nuestros resultados concuerdan también con lo que Jeyasubramanian *et al.* (2016) mencionan que el uso de NPsZnO y NPsMn₂O₃ con un enfoque dual pueden ser utilizadas como un nanofertilizante y a su vez promover el crecimiento de plantas.

En general, se observó que el vigor de germinación se promueve al incrementar la concentración de las NPs (Cuadro 3). Por otra parte, la longitud del vástago manifestó un comportamiento diferente, ya que al superar 50 ppm se redujo el crecimiento. Sin embargo, para la longitud de radícula los tratamientos de 30, 40, 50 y 100 resultaron ser estadísticamente iguales y con la mayor longitud.

VII. CONCLUSIONES

Se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre tratamientos en las variables vigor de germinación, peso seco de plántula, longitud del vástago y longitud de radícula. Así mismo, en la fuente de variación concentración y en la interacción tratamiento x concentración para las variables porcentaje de vigor de germinación, longitud del vástago y longitud de radícula. Además, en la variable peso seco de plántula se encontró diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en la fuente de variación concentración.

En cuanto a la comparación de medias por tipo de nanopartícula (tratamientos), las NPsZnO incrementaron el vigor de germinación con respecto a los otros dos tipos de NPs. Por otra parte, las NPsMn₂O₃ incrementaron el peso seco de plántula, la longitud del vástago y de radícula. Mientras que el uso combinado de NPsZnO-NPsMn₂O₃ durante la imbibición, incrementó la longitud del vástago.

La comparación de medias por concentración presentó aumento en el vigor de germinación a 200 ppm. Sin embargo, a 20 ppm se mejoró la longitud del vástago y de radícula, sin afectar el vigor de germinación.

En la interacción tratamiento x concentración, la variable vigor de germinación obtuvo un incremento a 50 ppm de NPsZnO. Sin embargo, el efecto positivo de imbibir semillas con NPsMn₂O₃ solo se observó a 200 ppm. Por último, la combinación de estas NPs no mejoró substancialmente el vigor de germinación, excepto a 40 ppm.

La interacción concentración x tipo de nanopartícula para la variable peso seco de plántula presentó mejor respuesta con la aplicación de 40 y 50 ppm de NPsMn₂O₃.

Por otra parte, la interacción concentración x tipo de nanopartícula, en la variable longitud del vástago, obtuvo mejor respuesta al combinar NPsZnO y NPsMn₂O₃ a una concentración de 30 ppm.

En la interacción concentración x tipo de nanopartícula, para la variable longitud de radícula, las NPsZnO y las NPsMn₂O₃, mostraron un efecto similar, incrementando la longitud cuando se imbibió la semilla con 50 ppm.

En este trabajo, los tratamientos evaluados no incrementaron el porcentaje de germinación. Por lo que se debe tener presente para futuras investigaciones.

En general, se observó que al aplicar durante la imbibición de NPsZnO o NPsMn₂O₃ a 50 ppm, se promueve el crecimiento de plántula. Sin embargo, para incrementar el vigor de germinación se requiere tratar las semillas con NPsZnO a 50 ppm.

Por último, se recomienda seguir investigando las respuestas a la aplicación de las nanopartículas aquí estudiadas, tanto en pruebas de laboratorio como en trabajos en invernadero y campo.

VIII. LITERATURA CITADA

- Amberger, A. 1973. The absorption of manganese (III) in oat plants. *Plant and soil*. Vol. 47, 69-83.
- Anderson, J. M., and N. A. Pylotis. 1996. Studies with manganese deficient chloroplasts. *Biochemistry and Biophysics Acta*, 189: 280-293.
- Atha, D. H., H. Wang, E. J. Petersen, D. Cleveland, R. D. Holbrook, P. Jaruga. 2012. Copper oxide nanoparticle mediated DNA damage in terrestrial plant models. *Environ Science Technology*. 46(1):1819–1827.
- Basavarajappa, B. S., H. S. Shetty, and H. S. Prakash. 1991. Membrane deterioration and other biochemical changes associated with accelerated ageing of maize seeds. *Seed Science Technology*. 19: 279-286.
- Bradford, K. J. 2004. Seed production and quality. 1st edition. Department of Vegetable Crop and Weed Science. University of California. Davis, CA. USA. 134 p.
- Burman, U., M. Saini., and P. Kumar. 2013. Effect of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedlings. *Toxicological and Environmental Chemistry* 95: 605-612.
- Cakmak, I. and H. Marshner. 1993. Effect of zinc nutritional status on superoxide radical and hydrogen peroxide scavenging enzymes in bean leaves. In: Barrow NJ (ed) *Plant nutrition-from genetic engineering field practice*. Kluwer, The Netherlands, pp. 133–137.
- Castiglione M. R., and R. Cremonini. 2009. Nanoparticles and higher plants, *Caryologia*, 62:2, 161-165,
- Choi, J. M., C. H. Pak, and C. W. Lee. 1996. Micronutrient toxicity in *French marigold*. *J Plant Nutri* 19:901–916.
- Copeland, O. L., and M. B. McDonald. 2001. Principles of seed science and technology. 4th edition. Kluwer Press, New York. USA. 488 p.

- Cruz, A. B., V. A. González, M. A. Mendoza, y M. L. Ortega. 2003. Marcadores fisiológicos de la tolerancia al envejecimiento de semilla en maíz. *Agrociencia* 37: 371-381.
- Cruz R., L. I., N. A. Ruiz, R. H. Lira, y G. M. Gallegos. 2017. Aplicación de Nanopartículas y Micropartículas de Óxido de Zinc y Sulfato de Fierro, y su Efecto en la germinación y el Crecimiento de Plántulas de Calabaza (*Cucurbita pepo*). UAAAN.
- Cushen, M., J. Kerry, M. Moris, M. Cruz, and E. Cummins. 2012. Nanotechnologies in the food industry Recent developments, risks and regulation. *Trends in food Science and Technology*. 24(1):30-46.
- De Visser, R., H. M. Dekhuijzen, and D. R. Verkerke. 1990. Control of seed respiration and growth in *Vicia faba* by oxygen and temperature: No evidence for an oxygen diffusion barrier. *Plant Physiol*. 93: 668-672.
- Delouche, J. C. 2002. Germinación, deterioro y vigor de semillas. *Seed News* 6: 6.
- Dimkpa, C. O., J. E. McLean, W. David, D. W. Britt, and A. J. Anderson. 2015. Nano CuO and interaction with nano-ZnO or soil bacterium provide evidence for the interference of nanoparticles in metal nutrition of plants. *Ecotoxicology*. 24: 119-129.
- Ditta, A., M. Arshad, and M. Ibrahim. 2015. Nanoparticles in sustainable agricultural crop production: Applications and Perspectives. *In Nanotechnology and Plant Sciences*. Springer International Publishing. 55-75pp.
- Ebbs, S. D. and L. V. Kochian. 1997. Toxicity of zinc and copper to *Brassica* species: implications for phytoremediation. *J Environ Qual* 26:776–781
- Eichert, T., A. Kurtz, U. Steiner, and H. E. Goldbach. 2008. Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water suspended nanoparticles. *Physiologia Plantarum*. 134(1):151-160.
- Elizabeth, A., V. Bahadur, P. Mistra, and V. M. Prasad. 2017. Effect of different concentrations of iron oxide and zinc oxide nanoparticles on growth and yield of carrot (*Daucus carota* L.). *Journal of pharmacognosy and histochemistry* 6(4):1266-1269.

- Fang, T., J. L. Watson, J. Goodman, C. O. Dimkpa, N. Martineau, S. J. McLean, D. W. Britt, and A. J. Anderson. 2013. Does doping with aluminum alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil *Pseudomonads*. *Microbiological Research*. 168: 91-98.
- Ferguson, J. M., D. M. Tekrony, and D. B. Egli. 1990. Changes during early soybean seed and axes deterioration: I. Seed quality and mitochondrial respiration. *Crop Sci*. 30: 175-179.
- Fontes R., L. S., and F. R. Cox. 1998. Zinc toxicity in soybean grown at high iron concentration in nutrient solution. *J Plant Nutri* 21:1723–1730
- Foy C., D., R. L. Chaney, and M. C. White. 1978. The physiology of metal toxicity in plants. By U.S. department of Agriculture. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 29: 511.566
- Gil F., M. 1995. Elementos de fisiología vegetal: Relaciones hídricas, nutrición mineral, transporte, metabolismo. Ed. Mundi-Prensa. pp.1047.
- González, G., F. M. Mendoza, J. Covarrubias, N. Morán, y J. A. Acosta. 2008. Rendimiento y calidad de semilla de frijol en dos épocas de siembra en la región del bajío. *Agricultura Técnica en México*. 34(4):421-430.
- Hampton, J. G. and D. M. Tekrony. 1995. Handbook of vigour test methods. 3rd Edition. International Seed Testing Assoc. Zürich, Switzerland. pp.117.
- Jackson, C., J. Dench, A. L. Moore, B. Halliwell, C. H. Foyer, and D.O. Hall. 1978. Sub celular location and identification of superoxide dismutase in the leaves of higher plants. *European Journal of biochemistry*, 91: 339-344.
- Janmohammadi, M., and N. Sabaghnia. 2015. Effect of pre-sowing seed treatments with silicon nanoparticles on germinability of sunflower (*Helianthus annuus*). *Botanica Lithuanica* 21(1):13-21.
- Jayarambabu, N., and B. S. Kumari. 2015. Seed germination and growth parameters response of mung bean influence by biogenic Fe₃O₄ nanoparticles. *International Journal of Multidisciplinary Advanced Research Trends* 1(3):34-40.
- Jeyasubramanian, K., U. G. Thoppey, G. S. Hikku, N. Selvakumar, A. Subramania, and K. Krishnamoorthy. 2016. Enhancement in growth rate and productivity of

- spinach grown in hydroponics with iron oxide nanoparticles. RSC Advances 6: 15451-15459.
- Juárez, A., H. Ortega, F. Ortiz P., G. Labrada, P. Cadenas, and A. Benavides. 2016. Cu Nanoparticles absorbed on chitosan hydrogels positively alter 21 morphological, production, and quality characteristics of tomato. Journal of Applied Botany and Food Quality 89:183-189.
- Kardos, J., K. Jemnitz, I. Jablonkai, A. Bóta, Z. Varga, J. Visy, and L. Héja. 2014. The Janus facet of nanomaterials. BioMed Research International. Article ID317184.
- Kashyap, P.L., X. Xiang, and P. Heiden. 2015. Chitosan nanoparticle-based delivery systems for sustainable agriculture. International journal of biological macromolecules. 77: 36-51.
- Khot, L.R., S. Sankaran, J.M. Maja, R. Ehsani, and E.W. Schuster. 2012. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. Crop Protection. 35(1):64-70.
- 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):1376-1381.
- Kyung S, K. S., and I. C. Kong. 2014. Toxic effects of nanoparticles on bioluminescence activity, seed germination, and gene mutation. Applied microbiology and biotechnology. 98: 3295-3303.
- Lin, D., and B. Xing. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution 150(2):243-250.
- Marschner, H. 1995. Functions of mineral nutrients: mineral nutrition of high plant. 2nd edition. Academic Press. pp. 330-355.
- Méndez-Argüello, B., I. Vera-Reyes, E. Mendoza-Mendoza, L. A. García-Cerda, B. A. Puente-Urbina, & R. H. Lira-Saldívar. 2016. Growth promotion of *Capsicum annuum* plants by zinc oxide nanoparticles. Nova scientia, 8(17), 140-156.
- Millaleo, R., D. M. Reyes, A. G. Ivanov, M. L. Mora, and M. A. Iberdi. 2010. Manganese as essential and toxic element for plants transport, accumulation

- and resistance mechanisms. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(4): 470-481.
- Mingyu, S., W. Xiao, L. Chunxiang, Q. Xiaoqing, L. Liang, C. Hao, and H. Fashui. 2007. Promotion of energy transfer and oxygen evolution in spinach photosystem II by nano-anatase TiO₂. *Biol Trace Elem Res* 119:183–192.
- Monreal, C. M., M. DeRosa, S. C. Mallubhotla, P. S. Brindraban, y C. Dimkpa. 2015. Nanotechnologies for increasing the crop use efficiency of fertilizer-micronutrients. *Biology and Fertility of Soils*. 1: 1-15.
- Morohashi, Y., J. D. Bewley, and E. C. Yeung. 1981. Biogenesis of mitochondria in imbibed peanut cotyledons: Influence of the axis. *J. Exp. Bot.* 32: 605-613.
- Muckhopadhyay, S. 2014. Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. *J. Nanotechnology, Science and Applications*. 7(1):63-71.
- Mukherjee, A., V. J. Peralta, S. Bandyopadhyay, M. C. Rico, L. Zhao, y G. J. Torresdey. 2013. Physiological effects of nanoparticulate of ZnO in green peas (*Pisum sativum* L.) cultivated in soil. *The royal Society of Chemistry*. 6:132-138.
- Mukhopadhyay, M. J., and A. Sharma. 1991. Manganese in cell metabolism of higher plants. *Botanical Review*, 57: 117-149.
- Naderi, M. R., and A. Shahraki D. 2013. Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. Sci. 5:2229-2232.
- Narendhran, S., P. Rajiv., and R. Sivaraj. 2016. Toxicity of ZnO nanoparticles on germinating *Sesamum indicum* (Co-1) and their antibacterial activity. *Bulletin of Materials Science* 39(2):415-421.
- Ness, P. J., and H. W. Woolhouse. 1980. RNA synthesis in *Phaseolus* chloroplasts. II. ribonucleic acid synthesis in chloroplasts from developing and senescing leaves. *Journal of Experimental Botany*, 21: 223-233.
- Pandey, A. C., S. Sanjay S., and S. Yadav R. 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. *Journal of Experimental Nanoscience*. 5(6):488-497.
- Panwar, J., N. Jain, A. Bhargaya, M. S. Akthtar, and Y. S. Yun. 2012. Positive effect of zinc oxide nanoparticles on tomato plants: A step towards developing nano-

- fertilizers. International Conference on Environmental Research and Technology (ICERT). Malaysia. 8 p.
- Pérez, C. I., O. J. Ayala G., V. A. González H., J. A. Carrillo Peña L., y G. García. 2008. Indicadores morfológicos y fisiológico del deterioro de semillas de tomate de cascara. *Agrociencia* 42: 891-901.
- Poole, C, P., and J.F. Owens. 2003. Introduction to physics of the solid state. Introduction to Nanotechnology Hoboken, New Jersey: Wiley-Interscience. 391 pp.
- Pradhan, S., P. Patra, S. Das, S. Chandra, S. Mitra, K. K. Dey, and A. Goswami. 2013. Photochemical modulation of biosafe manganese nanoparticles on *Vigna radiata*: a detailed molecular, biochemical, and biophysical study. *Environmental Science & Technology*, 47(22), 13122-13131.
- Prasad, R., V. Kumar., and K. 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, T. Pradeep. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*. 35: 905-927.
- Quispe, C. C. 2010. Nanotecnología en la agricultura. *Revista de información, Tecnología y Sociedad*. 5: 72-73.
- Raliya, R., and J. C. Tarafdar. 2013. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Agricultural Research*. 2: 48-57.
- Ram, C., and L. E. Wiesner. 1988. Effects of artificial ageing on physiological and biochemical parameters of seed quality in wheat. *Seed Science Technology*. 16: 579-587.
- Ramesh, M., K. Palanisamy, K. Babu, and N. K. Sharma. 2014. Effects of bulk and nano-titanium dioxide and zinc oxide on physio-morphological changes in *Triticum aestivum*. *Journal of Global Biosciences*. 3: 415-422.

- Raskar, S. V., and S. L. Laware. 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. *International Journal Current Microbiology Applied Science*. 3:467-473.
- Razzaq, A., R. Ammara, H. M. Jhanza, T. Mhamood, A. Hafee., and S. Hussain. 2015. A novel nanomaterial to enhance growth and yield of wheat. *Journal of Nanoscience and Technology* 2(1):55–58.
- Rehman, H., T. Aziz, M. Farooq., A. Wakeel., and Z. Rengel. 2012. Zinc nutrition in rice production systems: a review. *Plant and soil*. 361: 203-226.
- Sabir, S., M. Arshad, and S. K. Chaudhari. 2014. Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: synthesis and applications. *The Scientific World Journal*. 2014(1):1-8.
- Sabourin, V., and A. Ayande. 2015. Commercial opportunities and market demand for nanotechnologies in agribusiness sector. *Journal of Technology Management and Innovation*. 10(1):40-51.
- Schulte, E. E., and K.A. Kelling. 1994. Soil and applied manganese. *Understanding Plant Nutrients*. 3: 1-4.
- Scott, N., and H. Chen. 2013. Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems. *Industrial Biotechnology*. 9(1):17-18.
- Sedghi, M., M. Hadi, and 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: 73-78.
- Shyla, K. 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: 1376-1381.
- Siddiqui, M. H., M. H. Al-Whaibi, M. Firoz, and M. Y. Al-Khaishany. 2015. *Nanotechnology and plant science: nanoparticles and their impact on plants*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. pp. 19-35. DOI:10.1007/978-3-319-14502-0.
- Srilatha, B. 2012. Nanotechnology in agriculture. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*. 2:7.

- Tsuzuki, T. 2009. Commercial scale production of inorganic nanoparticles. *International journal of nanotechnology*, 5:6. 567-578.
- Uehara, K., S. Fujimoto, T. T. Aniguchi. 1974. Studies on violet-colored acid phosphatase of sweet potato II Enzymatic properties and aminoacidic composition. *Journal of Biochemistry*, 75: 639-649.
- Vannini, C., G. Domingo, E. Onelli, B. Prinsi, M. Marsoni, L. Espen, and M. Bracale. 2013. Morphological and proteomic responses of *Eruca sativa* exposed to silver nanoparticles or silver nitrate, *PLOS One* 8(2):68-75.
- Vasanth, N., G. Melchias, and P. Kumaravel. 2016. Evaluation of silver bio-nanoparticles synthesized with the mediation of *Zizyphus jujuba* fruit extract on bactericidal compatibility and seed viability. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 6(7):6125-6135.
- Wang, S., H. Liu, Y. Zhang, and H. Xin. 2015. Effect of CuO nanoparticles on reactive oxygen species and cell cycle gene expression in roots of rice. *Environmental Toxicological Chemistry*, 34: 554-561.
- Yadollahi, A., K. Arzani, and H. Khoshghalb. 2009. The role of nanotechnology in horticultural crops postharvest management. In *Southeast Asia Symposium on Quality and Safety of Fresh and Fresh-Cut Produce* 875. 49-56pp.
- Yáñez, V. A. 2010. La nanotecnología en el contexto del patrón industrial actual. *CONCYTEG* 5(64):1209-1209.
- Zafar, H., A. Alli, 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* 7: 1-8.
- Zhang, D., T. Hua, F. Xiao, C. Chen, M. R. Gersberg, Y. Liu, D. Stuckey, and K. S. Tan. 2015. Phytotoxicity and bioaccumulation of ZnO nanoparticles in *Schoenoplectus tabernaemontani*. *Chemosphere*. 20: 211-219.
- Zhao, L., Y. Sun, V. J. Hernandez, A. D. Servin, J. Hong, G. Niu, V. J. Peralta, G. M. Duarte, T. J. Gardea. 2014. Influence of CeO₂ and ZnO nanoparticles on cucumber physiological markers and bioaccumulation of Ce and Zn: A Life Cycle Study. *Journal of agricultural and food chemistry*. 61: 11945-11951.

Zhao, Y., X. Li, X. Liu y C. Hu. 2014. Evaluation of growth and biochemical indicators of *Salvinia natans* exposed to zinc oxide nanoparticles and zinc accumulation in plants. Environ. Sci. Pollut. Res., 21: 732.739.