

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

**DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA**



Promoción de la Germinación en Semillas y Crecimiento de Plantas de *Lycopersicum  
esculentum* por Nanopartículas de Óxido de Zinc

Por:

**ROMÁN PONCE ZAMBRANO**

TESIS

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Saltillo, Coahuila, México.

Mayo 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Promoción de la Germinación en Semillas y Crecimiento de Plantas de *Lycopersicum  
esculentum* por Nanopartículas de Óxido de Zinc

Por:

**ROMÁN PONCE ZAMBRANO**

TESIS


Presentada como requisito para obtener el título de:

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**


Aprobada por el Comité de Asesoría:

  
Dra. Norma Angélica Ruiz Torres

Asesor Principal

  
Dra. Heana Vera Reyes


Coasesor

  
Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar

Coasesor

  
Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía

  
Coordinación  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Mayo 2016

## **DEDICATORIA**

**Para mí es un honor dedicar este trabajo a mi familia, pero más en especial:**

A mis padres con mucho cariño y orgullo

Jovita Zambrano y Gabriel Ponce, a ustedes más que nadie les dedico este trabajo con el que concluyo una etapa importante de mi preparación como Ingeniero. Gracias por todo su apoyo, su entera confianza y porque nunca dudaron de mí, gracias por sus consejos y por mostrarme que con dedicación y empeño se puede triunfar.

Mis hermanos Adriana, Leti, Sandy, Gabriel, Juan Carlos y Arturo por sus palabras de motivación y mi fuerza para salir adelante.

A todos mis sobrinos y muy en especial a Fer, Arian, Yanet por esos momentos increíbles que paso con ustedes niñas, también a Cristian y Abi porque nunca los he olvidado y nunca los voy a olvidar donde quiera que estén, porque a pesar de todo los llevo siempre en mi corazón y sé que desde el cielo nos cuidan. Que Dios los bendiga siempre.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres que me apoyaron incondicionalmente y en todo momento.

A mi “ALMA MATER” por brindarme la oportunidad de ser parte de esta institución al mismo tiempo de ser un egresado forjado de conocimientos.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto.

Al mismo tiempo al grupo de científicos que colaboraron para la culminación de este trabajo: Dr. Hugo Ricardo Lira Saldivar, Dra. Ileana Vera Reyes, Dra. Norma

Angélica Ruíz De León, Dr. Bulmaro Méndez Argüello, Dra. Esmeralda Mendoza Mendoza, Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar.

Al Dr. Ricardo Vázquez Aldape por sus buenos consejos y amistad durante y después de la Licenciatura.

A todos los profesores que conforman el área de Botánica y que fueron mis profesores y a todas las laboratoristas del departamento.

Al Ing. Marcos, por su apoyo incondicional y gran amistad en estos últimos días.

A mis amigos Agrobiólogos con los que pase momentos agradables e inolvidables en la licenciatura: Flor, Larisa, Chayito, Javi, Aldo, Poot, los Economistas Yúnior, Cesar, mis amigos de toda la vida Efraín, Baltazar y también a ti Edgar Alfredo por tu confianza en estos últimos días a pesar de todo.

A todos aquellos que directa e indirectamente participaron en la culminación de una etapa más de mi desempeño como estudiante y profesionista.

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Fisiología del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) y en el Departamento de Plásticos en la Agricultura del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), bajo la dirección de la Dra. Ileana Vera Reyes y el Dr. Ricardo Hugo Lira Saldivar. Este trabajo fue apoyado por el Proyecto número 268 de fondos mixtos del CONACyT, titulado: Nanofertilizantes y promotores del crecimiento de plantas para una agricultura sustentable usando nanopartículas metálicas y grafenos.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	1
HIPÓTESIS .....	3
OBJETIVO GENERAL .....	3
OBJETIVOS PARTICULARES.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Importancia del tomate .....	3
La nanotecnología .....	4
La nanotecnología en la agricultura .....	6
Absorción, traslocación y efecto de las nanopartículas en plantas.....	7
Nanopartículas de óxido de zinc.....	9
Producción de especies reactivas de oxígeno en plantas por nanopartículas.....	11
MATERIALES Y MÉTODOS .....	15
Bioensayos <i>in vitro</i> .....	15
Germinación de semillas.....	15
Extracción de proteína.....	17
Actividad peroxidasa .....	17
Actividad catalasa.....	18
Bioensayos <i>in vivo</i> .....	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
Germinación de semillas.....	19
Producción de especies reactivas de oxígeno .....	23
Bioensayos <i>in vivo</i> .....	26
CONCLUSIÓN .....	30
LITERATURA CITADA.....	31
ANEXOS .....	40

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Comparación de medias de las variables evaluadas en bioensayos <i>in vitro</i> de <i>L. esculentum</i> .....	21
Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en bioensayos <i>in vivo</i> de <i>L. esculentum</i> .....	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Conjunto de efectos tóxicos de las nanopartículas metálicas a nivel celular.....	14
Figura 2. Relación de la producción de enzimas antioxidantes (Peroxidasa y Catalasa) como respuesta al estrés ocasionado por las NPs ZnO en el proceso de germinación de <i>L. esculentum</i> .....	25

## INTRODUCCIÓN

La nanotecnología (NT) considerada una tecnología con relevante importancia para diferentes sectores (Patel *et al.*, 2014), está dedicada a la caracterización, elaboración y aplicación de materiales de dimensiones nanométricas (nanomateriales), los cuales tienen un tamaño que oscila entre 1-100 nanómetros (Ali *et al.*, 2014). Existen diferentes compuestos para elaborar nanomateriales, tal es el caso de las nanopartículas (NPs) metálicas siendo las más empleadas aquellas provenientes de oro, plata, cobre, fierro, aluminio, cobalto, titanio y zinc (Khot *et al.*, 2012).

Las NPs de óxido de zinc (NPs ZnO) son usadas en diferentes áreas como la industria de cosméticos, textiles, medicina, electricidad y en la agricultura (Chang *et al.*, 2012). En el sector agrícola son estudiadas por su actividad antimicrobial (Fang *et al.*, 2013; Sabir *et al.*, 2014), por su potencial como nanofertilizante, ya que puede corregir las deficiencias de zinc en las plantas, promoviendo crecimiento y desarrollo (Naderi y Shahraki, 2013; Raskar y Laware, 2014; Dimkpa *et al.*, 2015).

Entre las más destacadas aplicaciones de las NPs ZnO en la agronomía, Panwar *et al.* (2012), señalan un mayor crecimiento y producción de biomasa seca en plántulas de tomate cuando aplicaron  $20 \text{ mg L}^{-1}$  al follaje. En pruebas de germinación las NPs ZnO en dosis de 250, 500, 1000 y  $2000 \text{ mg L}^{-1}$ , promovieron incrementos significativos de clorofila y proteína en plántulas de trigo (Raliya y Tarafdar, 2013); así mismo, en plantas de soya la dosis de  $1.0 \text{ g L}^{-1}$  de NPs ZnO promovió efectos significativos en la germinación y crecimiento (Sedghi *et al.*, 2013).

Cabe mencionar que los insumos agrícolas convencionales han tenido problemas a la hora de incrementar la producción de alimentos demandados globalmente, debido a que se han tenido que requerir cada vez más dosis elevadas de compuestos químicos, trayendo como consecuencias un impacto negativo para el sector agrícola y medio ambiental (Lira-Saldivar *et al.*, 2014).



Por lo anterior, es necesario disponer de medidas que hagan frente a ese problema. Este trabajo orientó a la investigación relacionada sobre el uso de nanopartículas de óxido de zinc (NPs ZnO) en la agricultura, y sus posibles aplicaciones como promotores de germinación y crecimiento de plantas, y a su vez en la potencial mejora de los sistemas de producción agrícola convencionales.

## HIPÓTESIS

La aplicación de nanopartículas de óxido de zinc a bajas concentraciones, estimula la germinación de las semillas y el crecimiento de plántulas de *Lycopersicum esculentum*, mientras que a altas concentraciones genera fitotoxicidad.

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad *in vitro* e *in vivo* de nanopartículas de óxido de zinc, como una opción para mejorar la capacidad germinativa de semillas y el crecimiento en plántulas de *Lycopersicum esculentum*.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Aplicar nanopartículas de óxido de zinc en semillas de *Lycopersicum esculentum*, para conocer su efecto en las fases de la germinación.
- Analizar el efecto de la aplicación de nanopartículas de óxido de zinc en plántulas de *Lycopersicum esculentum* en diferentes dosis, para identificar su efecto promotor o fitotóxico en procesos relacionados con la germinación y el desarrollo de plántulas.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Importancia del tomate

El cultivo del tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) es una de las principales hortalizas con importancia alimenticia y económica, tan solo en México se producen 96, 159 toneladas por hectárea, el estado de Sinaloa en conjunto con otros estados aportan el

67.5 % del volumen de este producto (SIAP, 2015); es la hortaliza más cultivada después del chile verde. Según la SAGARPA (2015), para el 2014 la producción de tomate había superado los 2.8 millones de toneladas, indicando que las exportaciones ascendieron a 20 mil mdp, estos datos por el momento posicionan a México como el principal exportador de tomate en el mundo. Actualmente el precio promedio del tomate presentó una variación a la alza del 7.04 % (SNIIM, 2016) y se encuentra 158.50 % por encima en comparación con los registros del año pasado para estas mismas fechas.

Dada la importancia del tomate como una hortaliza, con una gran demanda a nivel mundial, se requieren de tecnologías nuevas para aumentar su producción agrícola.

### **La nanotecnología**

La nanotecnología 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. El uso potencial y los beneficios de la nanotecnología son enormes para revolucionar el sector salud, textil, los materiales, las tecnologías de la comunicación, y de la energía (Prasad *et al.*, 2014).

Sabourin y Ayande (2015), mencionan que la nanotecnología puede impactar dramáticamente en todos los sectores de la industria de los agronegocios en los próximos 10 años. Así mismo, la nanotecnología podría utilizarse para mejorar las posibilidades de desarrollo de los recursos agroindustriales convencionales y multifilares, centrados en las propiedades especiales de los nanomateriales que tienen el potencial de revolucionar el sector agrícola, la biomedicina, la ingeniería ambiental, de seguridad y protección, los recursos hídricos, de conversión de energía, y otras numerosas áreas.

Es innegable que la nanotecnología presenta beneficios y aplicaciones en la industria alimentaria (Cushen *et al.*, 2012) y que estará presente en el futuro como área

estratégica, hasta ahora algunos 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 desarrollados (Naderi y Danesh-Shahraki, 2013), esto no significa que estos países tengan que esperar a que esta disciplina se consolide como mercado, sino que deberían formar capacidades tecnológicas y humanas que permitan colocarse en el mercado mundial (Yáñez, 2010).

En materia de medio ambiente, se ha encontrado que en los últimos años, el uso de la nanotecnología para controlar la contaminación se ha incrementado considerablemente, puesto que varios materiales nanoestructurados o con dimensiones nanométricas han sido utilizados como vehículos de transporte en la liberación controlada de productos agroquímicos debido a su biodegradabilidad, baja toxicidad, de bajo costo, alta reproducibilidad y fácil preparación (Aouada y De Moura, 2015).

Está claro que ésta nueva tecnología, si se gestiona y regula correctamente, puede desempeñar un papel central en la mejora del desarrollo de productos y procesos en beneficio de la salud humana, alcanzando una relativa importancia en diversos sectores. Por lo tanto, es evidente que la nanotecnología puede desempeñar un papel decisivo en el campo de la agricultura.

La nanotecnología (NT) considerada una tecnología con un auge importante para diferentes sectores (Patel *et al.*, 2014), está dedicada a la caracterización, elaboración y aplicación de materiales de dimensiones nanométricas (nanomateriales), los cuales tienen un tamaño que oscila entre 1-100 nanómetros (Ali *et al.*, 2014), lo cual equivale a la mil millonésima parte de un metro.

La nanotecnología puede hacer que la industria sea considerablemente más verde y competitiva, con su actual tasa de crecimiento del 25 % (US \$ 1.08billion) anual. La

oportunidad para la aplicación de la nanotecnología en la agricultura, ha surgido como un avance tecnológico que podría desarrollar y transformar todo el sector agroalimentario, con el potencial de aumentar la productividad agrícola, la seguridad alimentaria y el crecimiento económico para las industrias por al menos el 30 % (Sabourin y Ayande, 2015).

Los usos actuales de esta tecnología en el sector alimentario y agrícola son escasos, aun así la aplicación de la nanotecnología a la agricultura y a la industria alimenticia 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).

### **La nanotecnología en la agricultura**

La aplicación de la nanotecnología 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. Debido a que los efectos a largo plazo de la agricultura con semillas mejoradas genéticamente, en conjunto con riego, fertilizantes y pesticidas se han cuestionado (Muckhopadhyay, 2014), la agricultura suele ser un sector donde nuevas tecnologías se aplican a menudo para mejorar el rendimiento de los cultivos.

Cabe mencionar que el uso indiscriminado de pesticidas y fertilizantes sintéticos en la agricultura convencional tiene su origen desde la revolución verde, que provocó grandes problemas como la contaminación del medio ambiente, la aparición de plagas y patógenos resistentes a agroquímicos, así como la pérdida de la biodiversidad (Lira-Saldívar *et al.*, 2014).

La aparición de la nanotecnología y el desarrollo de nuevos nanodispositivos y nanomateriales tienen potencial para nuevas aplicaciones en la agricultura y en la biotecnología (Srilatha, 2011), por lo anterior la nanoagricultura 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.

Además, con la intervención de la nanotecnología en la agricultura, ésta tiene perspectivas brillantes para mejorar la eficiencia de uso de nutrientes a través nanoformulaciones de fertilizantes, la vigilancia y el control de plagas, el desarrollo de pesticidas e insecticidas comerciales de nueva generación, reduciendo así la cantidad del producto por aplicar al suelo o al follaje, a dosis significativamente menores que las requeridas convencionalmente, protegiendo al agroecosistema (Xue *et al.*, 2014).

Por otro lado, el uso de la nanotecnología en poscosecha ayudará a la conservación, envasado de alimentos, al fortalecimiento de las fibras naturales, la eliminación de los contaminantes del suelo y el agua lo que mejora el tiempo de conservación de vegetales y flores, recuperación de suelos afectados por la salinidad, y la estabilización de superficies propensas a la erosión (Muckhopadhyay, 2014).

Actualmente los nanodispositivos se consideran que tendrán la capacidad de detectar infestaciones de plagas y enfermedades en cultivos, la deficiencia de nutrientes, o cualquier otro problema de fitosanidad, mucho antes de que los síntomas sean evidentes en la escala macro (Scott y Chen, 2013). 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 nanopartículas (Faunce *et al.*, 2013). Las nanopartículas son una opción muy prometedora debido a su tamaño, volumen de superficie y sus propiedades físico-químicas (Khot *et al.*, 2012; Kardos *et al.*, 2014).

### **Absorción, traslocación y efecto de las nanopartículas en plantas**

Las nanopartículas (NPs) son materiales que son lo suficientemente pequeño como para caer dentro del tamaño nanométrico, al menos una de sus dimensiones es inferior a unos pocos cientos de nanómetros (Srilatha, 2011), su uso ofrece menos daños colaterales al medio ambiente y salud humana (Pereira *et al.*, 2014).

Cuando las NPs son aplicadas al suelo o en el agua de riego, penetran a través de la epidermis de la raíz y llegan a la corteza vía simplasto y/o apoplasto, posteriormente atraviesan a la endodermis y finalmente entran al tejido conductivo del xilema para ser traslocadas basipétalmente hasta las ramas y el follaje de las plantas (Peng *et al.*, 2015).

Algunos autores mencionan que el efecto promotor o inhibidor del crecimiento de las NPs en las plantas está relacionado con su concentración, tamaño y las propiedades inherentes del elemento involucrado, así como la función fisiológica y bioquímica que desempeña en la planta, si actúa como micronutriente tratándose de cobre, zinc, hierro, etcétera (Wang *et al.*, 2015). Estos autores mencionan que algunas NPs como las de óxido de cobre (CuO), muestran un efecto positivo sobre la reactividad de fitohormonas, especialmente del ácido indolacético (AIA), así como del ácido salicílico, esto hace que se facilite o incremente la acción fitoestimulante de las NPs.

Otras NPs como las de dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) aplicadas al follaje, muestran un incremento en la actividad de varias enzimas y promueven la absorción del nitrato, el cual acelera la transformación del nitrógeno inorgánico a orgánico haciéndolo más asimilable, reflejándose esto en mayor crecimiento vegetativo (Capaldi *et al.*, 2015).

Su tamaño nanométrico les da mayor facilidad de penetración a través de las membranas biológicas, en comparación con los materiales con escala micrométrica; en las plantas tienen mayor facilidad de penetrar la membrana y pared celular causando cambios morfofisiológicos (Eichert *et al.*, 2008; Sabir *et al.*, 2014).

Existen reportes indicando que las NPs ZnO 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), esto es debido a que el zinc es uno de los nutrientes esenciales y un componente muy importante de varias enzimas responsables de muchas reacciones metabólicas; también desempeña una importante función en la producción de clorofila, germinación de semillas, producción de polen y de biomasa (Pandey *et al.*, 2010). El efecto de las NPs ZnO en el crecimiento vegetal podría relacionarse además 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).

Diversas nanopartículas tienen potenciales aplicaciones en el sector agrícola, ejemplo de ello son las NPs CuO, NPs TiO<sub>2</sub> y entre otras destacan las nanopartículas de óxido de zinc.

### **Nanopartículas de óxido de zinc**

Existen diferentes compuestos para elaborar nanopartículas, tal es el caso de materiales metálicos que sirven para generar nanopartículas metálicas siendo las más empleadas aquellas provenientes de oro, plata, aluminio, cobalto, cobre, titanio, fierro y zinc (Khot *et al.*, 2012).

Las NPs de óxido de zinc (NPs ZnO) son usadas en diferentes áreas como la industria de cosméticos, textiles, medicina, electricidad y en la agricultura (Chang *et al.*, 2012). En el sector agrícola son estudiadas por su actividad antimicrobial (Fang *et al.*, 2013; Sabir *et al.*, 2014) y por su potencial como nanofertilizante, 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).

Algunos estudios señalan que concentraciones elevadas (1000 mg L<sup>-1</sup>) causan fitotoxicidad e inhibición de la germinación (Kyung-Seok y Kong, 2014; Zhang *et al.*, 2015); mientras que dosis bajas (< 50 mg L<sup>-1</sup>) han confirmado efectos significativos en el crecimiento y desarrollo (Prasad *et al.*, 2012), reflejándose en una mayor



biomasa seca y área foliar. Este efecto promotor ha sido atribuido al zinc, por ser éste uno de los micronutrientes esenciales demandados para la división celular y por su importancia como componente de varias enzimas (Pandey *et al.*, 2010); también está implicado en la síntesis de proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos (Tarafdar *et al.*, 2014).

Trabajos desarrollados en diversas especies de plantas confirman que las NPs ZnO promueven la germinación y crecimiento de plántulas (Siddiqui *et al.*, 2014). Panwar *et al.* (2012), señalan un mayor crecimiento y producción de biomasa seca en plántulas de tomate cuando aplicaron 20 mg L<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> de NPs ZnO promueven la germinación, así como la elongación de raíz y tallo.

Zhao *et al.* (2014), trabajando con plantas de pepino obtuvieron incrementos significativos en longitud y biomasa seca de la raíz; con la incorporación al suelo de 400 y 800 mg kg<sup>-1</sup> de NPs ZnO, estos investigadores confirman que concentraciones elevadas no afectaron negativamente a las plantas. En pruebas de germinación las NPs ZnO en dosis de 250, 500, 1000 y 2000 mg L<sup>-1</sup>, promovieron incrementos significativos de clorofila y proteína en plántulas de trigo (Raliya y Tarafdar, 2013), mientras que concentraciones bajas (10 y 20 mg L<sup>-1</sup>) de estas mismas NPs mejoraron la germinación en semillas de cebolla (Ramesh *et al.*, 2014).

En plantas de goma guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.), una concentración de 10 mg L<sup>-1</sup> de NPs ZnO aplicada foliarmente promovió mayor producción de biomasa, contenido de clorofila, longitud y área radicular así como la síntesis de proteínas (Raliya y Tarafdar, 2013). En plantas de soya la dosis de 1.0 g L<sup>-1</sup> de NPs ZnO, promovió efectos significativos en la germinación y crecimiento (Sedghi *et al.*, 2013).

La aplicación foliar de 1.5 y 10 mg L<sup>-1</sup> de NPs ZnO durante 15 días en plantas de garbanzo (*Cicer arietinum*), promovieron mayor altura y biomasa seca. Se ha destacado que la aplicación de zinc en forma de nanofertilizante aplicado al follaje en bajas dosis es más eficiente para promover el crecimiento de las plantas. Se ha sugerido que esto se debe a que el zinc es requerido para la producción de biomasa y también porque este microelemento tiene una función muy importante como cofactor de enzimas involucradas en el proceso fotosintético, así como en la integridad y mantenimiento de las membranas celulares de las plantas (Burman *et al.*, 2014).

El zinc como nanofertilizante en dosis de 10 mg L<sup>-1</sup> ha promovido mayor crecimiento en plantas de mijo (*Pennisetum americanum*), más producción de biomasa seca, longitud de raíz, contenido de clorofila y rendimiento de grano (Tarafdar *et al.*, 2014). La aplicación foliar de nanoquelato de zinc como fertilizante promovió un incremento significativo en la altura de plantas de algodón (*Gossipium hirsutum*), así como biomasa seca y clorofila (Rezaei y Abbasi, 2014).

### **Producción de especies reactivas de oxígeno en plantas por nanopartículas**

Dentro del metabolismo aeróbico de las plantas, al utilizar el oxígeno como aceptor final de electrones, se producen especies reactivas de oxígeno (ERO). La producción de ERO se ha establecido como uno de los primeros eventos de señalización implicadas como respuesta de la planta al estrés biótico (Fraire-Velázquez y Balderas-Hernández, 2013) y abiótico (Mizoi *et al.*, 2012). En algunos casos, cuando el estrés excede el límite de tolerancia y la capacidad para adaptarse a él es baja, puede ocurrir daño celular permanente o incluso la muerte de la planta (Foyer y Noctor, 2005; Gill y Tuteja, 2010).

Las plantas continuamente producen ERO en diferentes organelos celulares como mitocondrias, cloroplastos, peroxisomas, retículo endoplásmico y en la membrana

plasmática (Karuppanapandian *et al.*, 2011) y son removidas por un complejo sistema antioxidante, en el que participan enzimas y otros metabolitos que permiten mantener la homeostasis celular. El control de los niveles oxidantes se logra mediante la inducción de mecanismos antioxidantes de defensa que se componen de metabolitos como el ascorbato, el glutatión, el tocoferol, diversos metabolitos secundarios y los limpiadores enzimáticos de ERO, como la superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa (Foyer y Noctor, 2005).

Los nanomateriales son considerados un factor de estrés en las plantas, puesto que existe la posibilidad de que pueden modificar la estructura y constitución de las membranas y pared celular en plantas (Liu *et al.*, 2013). Diversas investigaciones han demostrado que las NPs son capaces de producir estrés en las plantas, generando un exceso de ERO, que puede afectar las proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN. Las NPs alteran la eficiencia fotosintética, la fluorescencia fotoquímica y el rendimiento cuántico en las plantas, debido a las interacciones de estas con los fotosistemas I y II, puesto que estudios han demostrado que las clorofilas transfieren la energía a las NPs (Olejnik *et al.*, 2013; Rico *et al.*, 2015).

Esa perturbación en la actividad fotosintética se traduce en estrés oxidativo de las plantas. El estrés oxidativo en plantas provocado por las NPs se ha investigado a través de técnicas que miden producción de ERO como  $H_2O_2$ , la activación de los mecanismos de defensa enzimáticos, la peroxidación lipídica y pérdida de electrolitos, entre las más importantes. Sin embargo, aún no se entiende completamente cómo las propiedades químicas de las NPs inducen la producción de ERO y el daño a las membranas en las plantas (Huang *et al.*, 2011).

Algunas NPs metálicas como Cu, Ni y Zn tienen la capacidad de producir ERO vía reacciones Fenton y otras como el  $TiO_2$  y el  $CeO_2$  debido a la capacidad de alternar entre estados de oxidación (Fenoglio *et al.*, 2009; McLaren *et al.*, 2009; Perreault *et al.*, 2010; Boghossian *et al.*, 2013). Otras NPs tienen efectos contrarios, puesto que pueden disminuir las concentraciones de  $H_2O_2$  intracelular y la peroxidación lipídica.

Algunos reportes hipotetizan que las NPs incrementan la eficiencia de las reacciones de oxidación-reducción (REDOX), al actuar como centro de retrasmisión de electrones (Mallick *et al.*, 2006) además de que tienen capacidad antioxidante y sus mecanismos imitan la actividad de enzimas involucradas en los sistemas de defensa en plantas (Tyagi *et al.*, 2014).

En el trabajo de Wei y Wang (2013), se reporta que NPs como CeO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> realizan reacciones que imitan la actividad de la catalasa, al catalizar la descomposición del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en oxígeno y agua; al igual que NPs de MnO<sub>2</sub>, CuO y Au, las cuales exhibieron actividad de peroxidasa; NPs CeO<sub>2</sub> y fullerenos demostraron tener la capacidad de llevar a dismutar el ion superóxido tal y como la realiza la superóxido dismutasa. A pesar de los avances tecnológicos resulta difícil poder comprobar la capacidad antioxidante de las NPs dentro de la planta, puesto que los estudios anteriores fueron realizados *in vitro*.

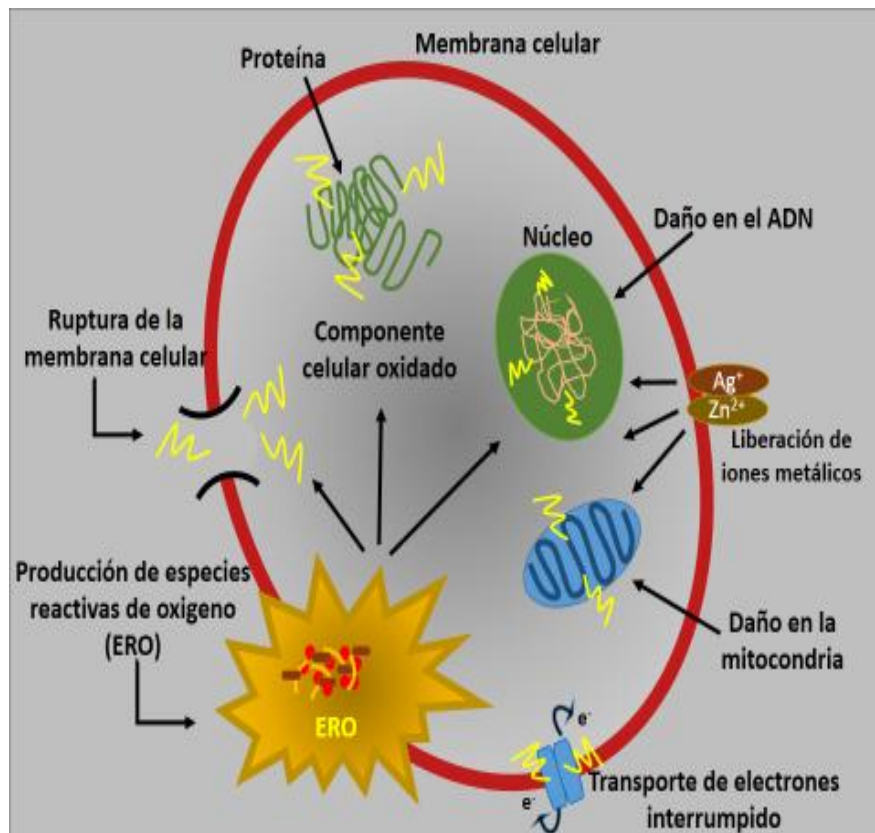
La fitotoxicidad que pueden tener las NPs considerando las diferencias en actividades enzimáticas, no permiten señalar con certeza que los cambios observados sean debidos a las interacciones enzimas-NPs (Xia *et al.*, 2008). Diversos estudios muestran que la fitotoxicidad causada por algunas NPs genera un comportamiento impredecible e irregular sobre el estrés oxidativo, que a su vez depende del tipo, concentración, propiedades y medios de exposición de las NPs (Lei *et al.*, 2008; Foltete *et al.*, 2011; Song *et al.*, 2012).

Aunque el modo de acción no está muy claro, ha sido destacado que en altas concentraciones provocan ruptura de membranas, oxidación de proteínas, genotoxicidad y formación de especies reactivas de oxígeno (ERO), lo cual incrementa el estrés oxidativo provocado por algunos iones que afectan la síntesis de proteínas, ADN y ARN (Golinska *et al.*, 2014).

Dutta *et al.* (2012), han señalado que las NPs y sus iones (por ejemplo, cobre, plata y zinc) pueden producir radicales libres, lo que resulta en la inducción de estrés

oxidativo reflejándose en alta producción de ERO (Figura 1). Las ERO pueden dañar irreversiblemente las membranas celulares, el ADN y las mitocondrias provocando daño celular. Se ha determinado que las NPs de plata se pueden adherir a la

celular,  
alteran



permeabilidad y funciones respiratorias (Hajipour *et al.*, 2012), además, éstos autores mencionan que dichas NPs no sólo ejercen acción con la superficie de las membranas, sino que también penetran a su interior, interactuando con los diferentes organelos a nivel del ADN en el núcleo.

Figura 1. Conjunto de efectos tóxicos de las nanopartículas metálicas a nivel celular.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El presente trabajo se realizó en dos fases, la primera se realizó en el Laboratorio de Fisiología del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicada a 6 km al sur de Saltillo, Coahuila, México; y la segunda etapa (*in vivo*) se llevó a cabo en el invernadero “A” con orientación norte-sur del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), cuyas instalaciones están en Bulevar Enrique Reyna 140, Colonia San José de los Cerritos, Saltillo, Coahuila, México. Este trabajo se llevó a cabo durante los meses de enero a junio del 2015.

### **Bioensayos *in vitro***

#### **Germinación de semillas**

Para determinar el efecto de la aplicación de nanopartículas en la germinación de tomate (*Lycopersicon esculentum*) var. Floradade, se establecieron bioensayos *in vitro*, que constaron de cinco tratamientos, incluyendo un testigo, con cuatro repeticiones de 25 semillas cada uno. Cada repetición consistió de 25 semillas. La siembra se realizó en contenedores de PET (15 x 20), sobre dos capas de papel filtro tipo Whatman, y con ayuda de pinzas para disección se colocaron las semillas previamente lavadas y desinfectadas. En seguida, con un aspersor de 20 ml de

capacidad se aplicó 10 ml de cada tratamiento correspondiente. Los tratamientos consistieron de soluciones de nanopartículas de óxido de zinc puras (NPs ZnO), en concentraciones de 0 (agua destilada/testigo), 5, 10, 15 y 20 ppm (partes por millón); así mismo, se implementó un doble testigo al llevar a cabo un segundo bioensayo con las mismas concentraciones pero de óxido de zinc de tamaño micro (bulk). Los bioensayos se establecieron en un diseño completamente al azar.

Los contenedores PET con las semillas fueron colocados después de la siembra en una cámara bioclimática marca Thermo Scientific, a una temperatura de 25 °C y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad. La aplicación de las soluciones de NPs se realizó cada 48 h en dosis de 10 ml por tratamiento.

Las soluciones fueron preparadas y sonicadas en el Laboratorio de Materiales Avanzados del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA).

VARIABLES EVALUADAS EN LAS SEMILLAS GERMINADAS:

- Índice de vigor (IV): el primer conteo de plántulas normales se realizó a los 5 días después de la siembra y se expresó en porcentaje, esta evaluación es un indicador del vigor que posee la semilla para germinar en menor tiempo y establecerse en condiciones de campo. Se entiende por plántulas normales aquellas que presentan el potencial para continuar desarrollándose en plantas satisfactorias, cuando crecen bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. La fórmula utilizada para calcular ésta variable de acuerdo a Peretti (1994) fue la siguiente:

$$IV = \frac{\text{Número de semillas normales}}{\text{Total de semillas sembradas}} \times 100$$

- Porcentaje de germinación (segundo conteo): al final del bioensayo se realizó un conteo de plántulas normales y se expresó en por ciento. La fórmula empleada para obtener el porcentaje de germinación fue la siguiente:

$$\% \text{Germinación} = \frac{\text{Número de plántulas normales}}{\text{Total de semillas sembradas}} \times 100$$

- Longitud media de plúmula (LP) y longitud media de radícula (LR). Se midieron todas las plántulas normales, esto es, que no presentaron rasgo alguno de anormalidad y se expresó en cm.

Al concluir la evaluación en laboratorio, las plántulas normales se pusieron en bolsas de plástico sobre hielo y se usaron para determinar la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) mediante la cuantificación de la actividad de enzimas antioxidantes como catalasas y peroxidasas, de acuerdo a los siguientes protocolos.

### **Extracción de proteína**

De las plántulas normales del ensayo de germinación, y de acuerdo a la metodología reportada por Bradford (1976), se tomaron 200 mg de muestras de tejido vegetal, el material se congeló en nitrógeno líquido, se trituró en un mortero con el 5 % de Polivinilpirrolidona (PVP); las muestras se homogenizaron en 500 µl de solución amortiguadora de fosfatos 0.2 M, pH 7.8, adicionada con 0.1 mM EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). En seguida las muestras fueron centrifugadas a 14000 rpm por 5 min a 4 °C. El sobrenadante se almacenó a -20 °C hasta su uso. La proteína total se cuantificó con el reactivo de Bradford (Sigma-Aldrich), utilizando albumina de suero de bovino (BSA) como estándar.

### **Actividad peroxidasa**



La actividad de peroxidasas se realizó utilizando como sustrato pirogalol, de acuerdo a la metodología reportada por Kwak *et al.* (1995). El volumen de reacción fue de 3 ml, el cual contenía: 5 µl de extracto proteico, 320 µl de una solución de pirogalol al 5 %, 160 µl de una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.147 M) en 100 mM de amortiguador de fosfatos pH 6. La reacción empezó cuando se agregó el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Las muestras se leyeron en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 420 nm por un tiempo de treinta segundos.

### **Actividad catalasa**

Para determinar la actividad de catalasa, enzima que cataliza la descomposición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, se siguió la descomposición de éste de acuerdo a lo señalado por Aebi (1984). En este caso, el volumen de reacción fue de 1.5 ml, el cual contenía 100 µl de extracto proteico, 400 µl de una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 mM) en 50 mM de amortiguador de fosfatos pH 7. La reacción empezó cuando se agregó el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Las muestras se leyeron en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 240 nm por un tiempo de 60 segundos.

### **Bioensayos *in vivo***

En los bioensayos *in vivo* se trabajó con plántulas de tomate variedad Floradade de ciclo determinado, estas plántulas fueron otorgadas por el Departamento de Plásticos en la Agricultura del CIQA, las cuales se obtuvieron en condiciones de invernadero durante el ciclo otoño-invierno de 2014. El trasplante se realizó en macetas de polietileno y cuando las plántulas presentaron el primer par de hojas verdaderas con una altura promedio de 9.0±3 cm. Antes del trasplante se aplicó una fertilización empleando la fórmula 150-80-80 (N-P-K). Se utilizó como sustrato peat-moss y perlita con una relación volumen/volumen (70:30 v/v). El periodo de evaluación fue

de cuatro semanas, durante el desarrollo del cultivo se aplicó un riego con sistema automatizado, cada tercer día se fertilizó con una solución Hogland.

El bioensayo se estableció en un diseño completamente al azar, conformado por cuatro tratamientos con 10 repeticiones cada uno (se consideró cada planta como una repetición). Los tratamientos constaron de soluciones de nanopartículas de óxido de zinc con diferentes concentraciones (0, 50, 100 y 200 ppm) previamente elaboradas en el Laboratorio de Materiales Avanzados del CIQA. La aplicación de tratamientos se realizó semanalmente, asperjando las plántulas de tomate. Se aplicó 1 ml de cada uno de los tratamientos con un aspersor, el testigo se asperjó con agua destilada.

Se evaluaron las siguientes variables: altura final de la plántula (cm) diámetro del tallo (mm), biomasa fresca (g), área foliar (cm<sup>2</sup>), longitud de la raíz (cm), peso seco de la raíz (g) y peso seco de la planta (g).

Los datos de las variables evaluadas en cada uno de los bioensayos, se sometieron a un análisis de varianza (ANVA) de manera independiente, para determinar la posible existencia de diferencia estadística entre tratamientos, posteriormente, se prosiguió a realizar una comparación de medias utilizando la Prueba de Tukey, para establecer el orden de eficiencia de los tratamientos, utilizando el software JMP-SAS versión 5.01 (SAS Institute, 2002).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Germinación de semillas**

Se obtuvo el análisis de varianza de las semillas de *L. esculentum* expuestas a concentraciones diferentes de NPs ZnO (Anexo 1), y se observó los efectos de los tratamientos del bulk de óxido de zinc (Anexo 2). La mayoría de las variables

evaluadas en los bioensayos, presentaron una respuesta positiva y estadísticamente significativa (Cuadro 1).

Con respecto al porcentaje de germinación, ésta variable presenta diferencia numérica, indicando con ello un efecto positivo, lo cual tiene una relación a lo reportado por Sedghi *et al.* (2013), al observar efectos positivos en la germinación de semillas de soya al estar sometidas a concentraciones bajas de NPs ZnO; por otro lado Ramesh *et al.* (2014), indican que bajas concentraciones de NPs mejoraron el proceso de germinación en semillas de *Allium cepa*. Aunque en este trabajo, estadísticamente el porcentaje de germinación no presenta diferencia significativa, los resultados obtenidos son más altos que los resultados al tratar las semillas con el bulk de óxido de zinc, indicando que este último presenta un efecto fitotóxico al detectar diferencia estadística.

Las semillas tratadas con diferentes tratamientos de NPs ZnO mostraron un efecto superior y significativo para longitud media de plúmula y longitud media de radícula, en comparación con las semillas tratadas con el bulk de óxido de zinc, ambas variables relacionadas con el vigor de las semillas. Las dosis de 5 y 10 ppm de NPs ZnO promovieron la germinación, reflejándose en un aumento en crecimiento de la plúmula y de la radícula con respecto al testigo. En el tratamiento de 15 ppm, también se observó mayor longitud de raíz al compararlo con el testigo, indicando con esto un efecto de promoción de división celular en la tercera fase germinativa de las semillas de tomate.

Lo anterior confirma lo reportado por Liu y Lal (2015), al indicar que estos compuestos 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.

Sin embargo, en este estudio también se observó que al incrementar la concentración de las NPs ZnO a 20 ppm, se induce un efecto de inhibición en la germinación y en el crecimiento de la radícula y del tallo. Lo anterior se puede deber a que concentraciones elevadas de NPs ZnO generan fitotoxicidad, en donde las plántulas se encuentran sometidas ante un estrés químico y en algunos casos cuando el estrés excede el límite de tolerancia y la capacidad para adaptarse a él es baja, puede ocurrir daño permanente e incluso llegar a muerte celular (Foyer y Noctor, 2005; Gill y Tuteja, 2010). Otros reportes indican que concentraciones elevadas de zinc pueden inhibir la actividad mitótica en células de las raíces, generando un déficit en el desarrollo de éstas, al mismo tiempo que reduce la elongación del tallo. Lo anterior ya ha sido reportado por Moukrad *et al.* (2014), al comprobar la actividad fitotóxica de NPs ZnO en germinación de semillas y crecimiento radicular de *Lepidium sativum*.

El incremento en la longitud de la radícula y de la plúmula, pudiera deberse a que en cada uno de los tratamientos inicialmente emerge el sistema radicular. Pero al estar en contacto con altas concentraciones de las soluciones con nanopartículas metálicas, éstas inhiben su desarrollo, impidiendo la división y/o la elongación celular, causando efectos contrarios a la promoción del crecimiento, al mismo tiempo que inhibe la elongación de la plúmula lo cual repercute en un desarrollo anormal de la plántula, situación por la cual no hubo diferencia estadística en vigor. Lo anterior también pudiera deberse a que la semilla no era nueva o se almacenó de manera incorrecta provocando una pérdida de su vigor.

Cuadro 1. Comparación de medias de variables evaluadas en bioensayos *in vitro* de *L. esculentum*.

Concentración (ppm)	Índice de vigor (%)		Germinación (%)		Longitud de radícula (cm)		Longitud de plúmula (cm)	
	ZnO Bulk	NPs ZnO	ZnO Bulk	NPs ZnO	ZnO Bulk	NPs ZnO	ZnO Bulk	NPs ZnO
0	78±(1.4)a		90±(1.5)a		3.93±(0.3)b		2.51±(0.2)b	
5	71±(4.7)a	67±(5.9)a	88±(0.0)ab	93±(1.9)a	6.43±(0.9)ab	13.35±(0.4)a	3.02±(0.4)a	3.26±(0.1)a
10	63±(4.4)ab	73±(1.0)a	81±(1.9)b	90±(1.1)a	3.81±(0.3)b	12.08±(0.2)a	2.24±(0.1)b	3.27±(0.1)a
15	71±(3.0)a	66±(7.4)a	86±(2.0)ab	86±(5.0)a	8.42±(1.6)a	9.40±(2.3)a	3.16±(0.1)a	3.00±(0.3)a
20	51±(4.1)b	76±(2.3)a	89±(3.4)ab	81±(1.0)a	3.85±(0.7)b	8.70±(1.0)a	2.17±(0.2)b	2.83±(0.1)a
P>F	0.0015*	0.268 <sub>NS</sub>	0.045*	0.1285 <sub>NS</sub>	0.0027*	0.0001**	0.0173*	0.02*

NS=No significativo; \*Diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre tratamientos; \*\*Diferencia altamente significativa ( $P \geq 0.05$ ) ppm=partes por millón. Valores con la misma literal no son significativos entre sí

Por lo anterior, Bidwell (1990) menciona que durante el proceso de germinación, las semillas pueden presentar algún tipo de latencia, ya sea endógena (inherente a las características internas de la semilla) o exógena (por factores ambientales que determinan el proceso de germinación de la semilla) y al hablar de latencia endógena, ésta puede atribuirse por mecanismos que inhiben la fase metabólica del proceso de germinación, tal es el caso del ácido abscísico (ABA) el cual es un fitorregulador. En cambio otros fitorreguladores como las auxinas, ayudan a desequilibrar las concentraciones endógenas de ABA ayudando a romper la latencia, por lo tanto esto podría estar relacionado con el zinc, el cual es un precursor para una mayor producción de auxinas (Rehman *et al.*, 2012).

Por otra parte, las NPs ZnO 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). Además, se debe señalar que el Zn es uno de los siete micronutrientes esenciales para las plantas, siendo necesario en pequeñas cantidades, pero es crucial para algunas reacciones metabólicas y enzimáticas para el buen desarrollo vegetativo (Pandey *et al.*, 2010) además, es requerido para la producción de clorofila, hormonas del crecimiento y carbohidratos.

### **Producción de especies reactivas de oxígeno**

Para poder relacionar el efecto fitotóxico de las NPs ZnO, se evaluó la actividad enzimática de las peroxidasas y catalasas involucradas en la producción de ERO. Estas enzimas participan en los mecanismos de defensa, al desdoblarse el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en agua y oxígeno. Radicales libres como el  $H_2O_2$  son moléculas que se producen de forma inmediata ante condiciones de estrés, y puede actuar como una señal para la activación de los mecanismos de defensa involucrados en tolerancia a metales pesados en plantas, en este caso las nanopartículas metálicas.

Es bien sabido que la cadena de producción de radicales libres tales como el anión superóxido, el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno, se inicia en las mitocondrias como parte del metabolismo celular.

El mecanismo a través del cual las mitocondrias producen energía celular, va desde la glucólisis, el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa, ésta última posee cinco complejos enzimáticos de los cuales cuatro son cadenas de transporte de electrones. La función del oxígeno en esta etapa es inofensiva y solo recibe a los electrones involucrados en la oxidación fisiológica de las coenzimas. Durante este proceso, una pequeña parte del oxígeno utilizado, es convertido en radicales libres, es así que las primeras lesiones celulares causadas por los radicales libres, tienen lugar en los componentes mitocondriales como el ADN, y es a partir de ahí que se establece un factor determinante en la formación de radicales libres y del daño celular: a mayor metabolismo, mayor gasto y una tasa elevada de producción energética, generando grandes cantidades de radicales libres y con ello un incremento en la toxicidad de las plantas.

Lo anterior se traduce en un daño de las mitocondrias, reduciendo de esta manera su actividad fisiológica como la principal fuente generadora de energía para la célula, debido al desbalance entre los agentes oxidantes y los sistemas antioxidantes generado por las nanopartículas.

La aplicación de NPs ZnO permitió la activación de las peroxidasas y catalasas; siendo este efecto mayor en los tratamientos de 10, 15 y 20 mg L<sup>-1</sup>, en los cuales los procesos de germinación fueron reducidos (Figura 2), conforme se aumentan los niveles de concentración de nanopartículas metálicas, se aumenta la actividad enzimática antioxidante, estos datos concuerdan con lo reportado por Yasur y Usha (2013), los cuales dieron a conocer el impacto de nanopartículas metálicas sobre la germinación de semillas y crecimiento en plántulas de *Ricinus communis*.

Esta respuesta puede atribuirse a que dichas nanopartículas y sus iones pudieron haber generado un aumento de radicales libres, lo que resulta en la inducción de estrés oxidativo tal y como lo mencionan Dutta *et al.* (2012), al comprobar que en células que se encuentran ante condiciones de estrés se lleva a cabo un proceso denominado peroxidación lipídica, proceso por el cual un aumento de radicales libres logran capturar electrones de los lípidos en las membranas celulares y que en células vivas este proceso lo inician las ERO, además es probable que estas nanopartículas debido a su tamaño y forma pudieran haber alterado o modificado la estructura de diversos organelos celulares de las plantas (Liu *et al.*, 2013).

En la figura 2, se distingue una activación diferencial de las enzimas, es decir, cuando la actividad de las peroxidasas logra un aumento de 26 UI/mg, la actividad catalasa se encuentra por debajo de ese valor (entre 0.2 y 0.3 UI/mg), en cambio, cuando la actividad catalasa aumenta su actividad a un rango de 0.4 y 0.5 UI/mg, la actividad de las peroxidasas se reduce a 4 UI/mg. Esta situación es debido a que debe existir un balance de las actividades enzimáticas para suprimir los niveles fitotóxicos de ERO en la célula, por ello el comportamiento de la actividad de dichas enzimas. Cuando la actividad de una enzima se ve detenida o inhibida inmediatamente se dispara la actividad de otras enzimas, así se logra un balance crucial según lo reportado por Benezzer-Benezzer *et al.* (2008), estos autores mencionan que si llegara a cambiar ese balance de enzimas se inducen mecanismos compensatorios que involucran a otras enzimas, por ejemplo, cuando se reduce la actividad de catalasa (CAT) otras enzimas como ascorbato peroxidasa (APX) y glutatión peroxidasa (GPX) son inducidas.

Debe reiterarse que metales pesados como el Zn causan fitotoxicidad a altas concentraciones al reaccionar con lípidos, ácidos nucleicos, pigmentos y proteínas, esto puede ocasionar una reducción en su desarrollo vegetativo e incluso al incrementar la concentración de NPs se pudiera llegar a una muerte definitiva, de



acuerdo a lo reportado por Israr *et al.* (2011), este suceso puede resultar en un daño a las membranas celulares e inactivación de enzimas, y por consiguiente en una falta de viabilidad de las células vegetales.

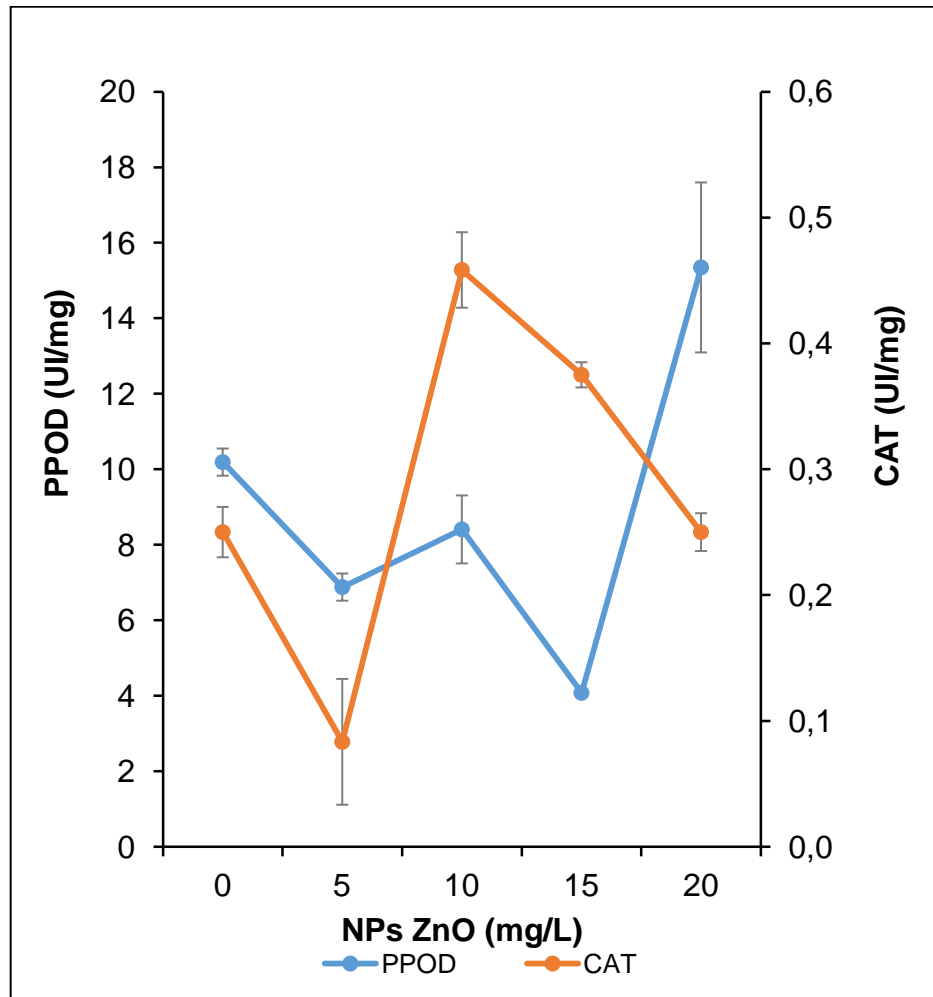


Figura 2. Relación de la producción de enzimas antioxidantes (Peroxidasa y Catalasa) como respuesta al estrés ocasionado por las NPs ZnO en el proceso de germinación de *L. esculentum*.

### Bioensayos *in vivo*

A continuación se presentan los resultados obtenidos durante la fase de evaluación *in vivo* o la fase de crecimiento en plántulas de tomate. Se muestran resultados del análisis de varianza (Anexo 3) de las variables evaluadas, indicando que los

tratamientos con NPs ZnO en *L. esculentum*, no tuvieron un efecto significativo en la promoción de crecimiento, con respecto al testigo.

Por lo anterior, se hizo una observación en la comparación de medias (Cuadro 2), para identificar posibles diferencias numéricas entre tratamientos, con respecto al testigo y efectivamente, se logra observar que NPs ZnO a 50 mg L<sup>-1</sup> promueven un ligero aumento en la producción de biomasa fresca, este resultado concuerda con lo reportado por De la Rosa *et al.* (2013), al observar incremento en la producción de biomasa cuando las plántulas de tomate fueron tratadas a 50 ppm de NPs ZnO; no obstante, un aumento en la producción de biomasa de las plántulas con respecto al testigo, indica un aumento en variables como la longitud de la raíz, diámetro de tallo e inclusive el peso seco de la raíz logra tener un aumento comparado con el testigo, así mismo la altura de la planta tiene un aumento a 100 mg L<sup>-1</sup>.

Los anteriores autores, trabajaron con diferentes cultivos con el afán de ver el comportamiento que cada uno de ellos presentaba con respecto a las NPs ZnO, y observaron que en plántulas de pepino se notó un pequeño aumento en la longitud de la raíz a 50 ppm, estos resultados se ven identificados en este trabajo al obtener aumentos en la longitud radicular de *L. esculentum*. Otros autores indicaron el efecto promotor de NPs ZnO, al demostrar que estas aumentaron la producción de biomasa reflejándose en mayor crecimiento de plantas de tomate cuando fueron asperjadas foliarmente con 50 mg L<sup>-1</sup> (Panwar *et al.*, 2012).

No obstante los resultados obtenidos en estos bioensayos, en los cuales no se aprecian efectos significativos, pudiera deberse al tiempo de evaluación que se llevó a cabo y a la aplicación prolongada, puesto que en otros trabajos relacionados sí se logra obtener diferencias significativas entre tratamientos, tal es el ejemplo de lo reportado por Raliya y Tarafdar (2013), quienes evaluaron durante seis semanas el efecto de 10 mg L<sup>-1</sup> de NPs ZnO, asperjadas foliarmente sobre plántulas de *Cyamopsis tetragonoloba* L., en donde reportan diferencias significativas en la

producción de biomasa y específicamente en longitud de tallo, longitud de raíz y área radicular.

### Bioensayos *in vivo*

Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en bioensayos *in vivo* de *L. esculentum*.

NPs ZnO (ppm)	Altura final (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Biomasa fresca (g)	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Longitud de raíz (cm)	Peso seco de raíz (g)	Peso seco de planta (g)
0	36.4±(1.2) a	8.7±(0.7) a	98.8±(6.8) a	1592.7±(123.5) a	24.5±(1.0) a	3.6±(0.3) a	11.3±(0.7) a
50	35.5±(1.2) a	9.8±(0.5) a	99.4±(6.2) a	1571.0±(118.3) a	24.7±(0.9) a	3.7±(0.4) a	11.0±(0.6) a
100	36.7±(0.7) a	8.4±(0.4) a	97.4±(5.0) a	1544.6±(107.8) a	25.0±(0.8) a	3.7±(0.3) a	10.6±(0.7) a
200	36.2±(1.2) a	8.4±(0.6) a	84.2±(6.8) a	1270.6±(107.5) a	23.4±(0.9) a	3.7±(0.4) a	10.2±(0.7) a
P>F	0.9019 <sub>NS</sub>	0.3513 <sub>NS</sub>	0.3293 <sub>NS</sub>	0.2144 <sub>NS</sub>	0.6757 <sub>NS</sub>	0.9897 <sub>NS</sub>	0.7375 <sub>NS</sub>

NS= No significativo; valores con la misma literal no son significativos entre sí.

## CONCLUSIÓN

En este trabajo se observaron los efectos de NPs ZnO en pruebas de germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Lycopersicum esculentum*.

La aplicación de NPs ZnO en concentración de 5 mg L<sup>-1</sup> tiene potencial para ser utilizadas como promotoras de crecimiento, puesto que mejoran características de las plántulas como elongación de plúmula y de radícula, además de promover la germinación. A concentraciones superiores causan fitotoxicidad al inhibir el desarrollo de las plántulas, esto puede estar relacionado con un incremento en la producción de ERO.

Se observó la efectividad de aplicación de ZnO en nanopartículas al compararlo a las mismas concentraciones con el bulk de ZnO, teniendo mejores resultados con las NPs ZnO.

Durante la fase de crecimiento en plántulas de tomate, los datos recabados indicaron un efecto no tan prometedor de NPs ZnO, puesto que se presencié un ligero aumento en el desarrollo de las plantas cuando fueron asperjadas foliarmente con 50 mg L<sup>-1</sup>.

Por lo anterior, se recomienda dar seguimiento a la fase experimental de nanopartículas metálicas y encontrar las concentraciones óptimas para incrementar la producción *in vivo*.

## LITERATURA CITADA

- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 105(1):121-126.
- Ali, M.A., Rehman, I., Iqbal, A., Din, S., Rao, A.Q., Latif, A., Samiullah, T. R., Azam, S., and Husnain T. 2014. Nanotechnology: A new frontier in Agriculture. *Advancements in Life Sciences*. 1(3):129-138.
- Aouada, F. A., and De Moura, M. R. 2015. Nanotechnology Applied in Agriculture: Controlled Release of Agrochemicals. In *Nanotechnologies in Food and Agriculture*. Springer International Publishing. pp. 103-118.
- Apel, K., and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. 55(1):373-399.
- Benezer-Benezer, M., Castro-Mercado, E., y García-Pineda, E. 2008. La producción de especies reactivas de oxígeno durante la expresión de la resistencia a enfermedades en plantas. *Revista mexicana de fitopatología*. 26(1):56-61.
- Bidweel, R. G. 1990. *Fisiología vegetal*. AGT Editor. S. A. México, D. F. 784 p.
- Boghossian, A. A., Sen, F., Gibbons, B. M., Sen, S., Faltermeier, S. M., Giraldo, J. P., Zhang, C. T., Zhang, J., Heller, D. A., and Strano, M. S. 2013. Application of nanoparticle antioxidants to enable hyperstable chloroplasts for solar energy harvesting. *Advance Energy Materials*. 3(7):881-893.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of the protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1):248-254.
- Burman, U., Saini, M., and Kumar, P. 2013. Effect of zinc oxide nanoparticles on growth and antioxidant system of chickpea seedlings. *Toxicological Environmental Chemistry*. 95(4):605-612.
- Capaldi, A. S., Diniz, S. A., Moretto, G. R., Antunes, A. R., and Zezzi, A. M. 2015. Nanoparticles applied to plant science: A review. *Talanta*. 131(1):693-705.
- Chang, Y., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., and Xing, G. 2012. The Toxic Effects and Mechanisms of CuO and ZnO Nanoparticles. *Materials*. 5(1):2850-2871.

- Cushen, M., Kerry, J., Morris, M., Cruz-Romero, M., and Cummins, E. 2012. Nanotechnologies in the food industry-Recent developments, risks and regulation. *Trends in Food Science and Technology*. 24(1):30-46.
- De la Rosa, G., López-Moreno, M. L., De Haro, D., Botez, C. E., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey, J. L. 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.
- Deng, Y., White, J. C., and Xing, B. 2014. "Interactions between engineered nanomaterials and agricultural crops: implications for food safety". *Journal of Zhejiang University-SCIENCE A (Applied Physics and Engineering)*. 15(8):552-572.
- Dimkpa, C. O., McLean, J. E., Britt, D. W., and Anderson, A. J. 2014. Nano CuO and interaction with nano-ZnO or soil bacterium provide evidence for the interference of nanoparticles in metal nutrition of plants. *Ecotoxicology*. 24(1):119-129.
- Dutta, R. K., Nenavathu, B. P., Gangishetty, M. K., and Reddy, A. V. 2012. Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation. *Colloids and Surfaces B. Biointerfaces*. 94(3):143-150.
- Eichert, T., Kurtz, A., Steiner, U., and Goldbach, H. E. 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.
- Fang, T., Watson, J. L., Goodman, J., Dimkpa, C. O., Martineau, N., Das, S., McLean, J. E., Britt, D. W., and Anderson, A. J. 2013. Does doping with aluminum alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil pseudomonas? *Microbiological Research*. 168(2):91-98.
- Faunce, T., Styring, S., Wasielewski, M.R., Brudvig, G.W., Rutherford, A.W., Johannes M., Lee, A.F., and Hill, C.L. 2013. Artificial photosynthesis as a frontier technology for energy sustainability. *Energy and environmental science*. 6(4):1074-1076.

- Fenoglio, I., Greco, G., Livraghi, S., and Fubini, B. 2009. Non-UV-induced radical reactions at the surface of TiO<sub>2</sub> nanoparticles that may trigger toxic responses. *Chemistry a European Journal*. 15(18):4614-4621.
- Foltete, A. S., Masfaraud, J. F., Bigorgne, E., Nahmani, J., Chaurand, P., Botta, C., Labille, J., Rose, J., Férard, J. F., and Cotelle, S. 2011. Environmental impact of sunscreen nanomaterials: ecotoxicity and genotoxicity of altered TiO<sub>2</sub> nanocomposites on *Vicia faba*. *Environmental Pollution*. 159(10):2515-2522.
- Foyer C. H., and Noctor, G. 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *The Plant Cell*. 17(7):1866–1875.
- Fraire-Velázquez, S., and Balderas-Hernández, V. E. 2013. Abiotic stress in plants and metabolic responses. *Agricultural and Biological Sciences*. 10(2):25-47.
- Gill, S. S., and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48(12):909-930.
- Golinska, P., Wypij, M., Ingle, A. P., Gupta, I., Dahm, H., and Rai, M. 2014. Biogenic synthesis of metal nanoparticles from actinomycetes: biomedical applications and cytotoxicity. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98(19):8083-8097.
- Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Ashkarran, A. A., De Aberasturi, J. A., De Larramendi, R. I., Rojo, T., Serpooshan, V., Parak, W. J., and Mahmoudi, M. 2012. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*. 30(10):499-511.
- Huang, C., Verrillo, F., Renzone, G., Arena, S., Rocco, M., Scalon, A., and Marra, A. 2011. Response to biotic and oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*: analysis of variably phosphorylated proteins. *Journal Proteomics*. 74(10):1934-1949.
- Israr, M., Jewell, A., Kumar, D., and Sahi, S. V. 2011. Interactive effects of lead, copper, nickel and zinc on growth, metal uptake and antioxidative metabolism of *Sesbania drummondii*. *Journal of Hazardous Materials*. 186(2-3):1520-1526.



- Kardos, J., Jemnitz, K., Jablonkai, I., Bóta, A., Varga, Z., Visy, J., and Héja, L. 2014. The Janus Facet of Nanomaterials. *BioMed Research International*. Article ID317184.
- Karuppanapandian, T., Moon, J. C., Kim, C., Manoharan, K., and Kim, W. 2011. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science* 5(6):709-725.
- Khot, L. R., Sankaran, S., Maja, J. M., Ehsani, R., Schuster, E. W. 2012. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: A review. *Crop Protection*. 35(1):64-70.
- Kwak, S. S., Kim, S. K., Lee, M. S., Jung, K. H., Park, I. H., and Liu, J. R. 1995. Acidic peroxidases from suspension-cultures of sweet potato. *Phytochemistry*, 39(5):981-984.
- Kyung-Seok, K., and Kong, C. I. 2014. Toxic effects of nanoparticles on bioluminescence activity, seed germination, and gene mutation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98(7):3295-3303.
- Lei, Z., Mingyu, S., Xiao, W., Chao, L., Chunxiang, Q., Liang, C., Hao, H., Xiaoging, L., and Fashui, H. 2008. Antioxidant stress is promoted by nano-anatase in spinach chloroplasts under UV-B radiation. *Biological Trace Element Research*. 121(1):69-79.
- Lira-Saldivar, R. H., Corrales-Flores, J., Hernández-Suárez, M., Betancourt-Galindo, R., García-Cerda, L.A., y Puente-Urbina, B. 2014. Nanopartículas de cobre y óxido de zinc contra hongos y bacterias causantes de enfermedades en cultivos agrícolas y humanos. VII Congreso Internacional Interdisciplinario en Nanociencia y Nanotecnología. Pachuca, Hidalgo, 11-12 de Junio.
- Liu, Q., Zhang, X., Zhao, Y., Lin, J., Shu, C., Wang, C., and Fang, X. 2013. Fullerene-induced increase of glycosyl residue on living plant cell wall. *Environmental Science and Technology*. 47(13):7490-7498.
- Liu, R., and Lal, R. 2015. Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the total environment*. 514(3):131-139.

- Mallick, K., Witcomb, M., and Scurrill, M. 2006. Silver nanoparticle catalysed redox reaction: an electron relay effect. *Materials Chemistry and Physics*. 97(1):283-287.
- Mclaren, A., Valdes-Solis, T., Li, G., and Tsang, S. C. 2009. Shape and size effects of ZnO nanocrystals on photocatalytic activity. *Journal of the American Chemical Society*. 131(35):12540-12541.
- Mizoi, J., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2012. AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim. Biophys. Acta*. 1819(2):86-96.
- Moukrad, N., Rhazi Filali, F., Daou, I., and Zegaoui, O. 2014. Phytotoxic activity of the zinc oxide nanoparticles synthesized from different precursors on germination and radicle growth of seeds *Lepidium sativum*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 4(12):1-6.
- Muckhopadhyay, S. 2014. Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. *J. Nanotechnology, Science and Applications*. 7(1):63-71.
- Naderi, M. R., and Danesh-Shahraki, A. 2013. Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture. *International Journal of Agriculture and Crops Sciences*. 5(19):2229-2232.
- Olejnik, M., Krajnik, B., Kowalska, D., Twardowska, M., Czechowski, N., Hofmann, E., and Mackowski, S. 2013. Imaging of fluorescence enhancement in photosynthetic complexes coupled to silver nanowires. *Applied Physics Letters*. 102(8):83703-83707.
- 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.
- Panwar, J., Jain, N., Bhargava, A., Akhtar, M. S., and Yun, Y. S. 2012. Positive effect of zinc oxide nanoparticles on tomato plants: A step towards developing “nanofertilizers”. *International Conference on Environmental Research and Technology (ICERT)*. Pinang, Malaysia.

- Patel, N., Desai, P., Patel, N., Jha, A., and Gautam, H.K. 2014. Agronanotechnology for plant fungal disease management. *International Journal Current Microbiology and Applied Sciences*. 3(10):71-84.
- Peng, C., Duan, D., Xu, C., Chen, Y., Sun, L., Zhang, H., Yuan, X., Zheng, L., Yang, Y., Yang, J., Zhen, X., Chen, Y., and Shi, J. 2015. Translocation and biotransformation of CuO nanoparticles in rice (*Oryza sativa L.*) plants. *Environmental Pollution*. 197(1): 99-107.
- Pereira, A. S. E., Grillo, R., Mello, N. F. S., Rosa, A. H., and Fraceto L. F. 2014. Application of poly (epsilon-caprolactone) nanoparticles containing atrazine herbicide as an alternative technique to control weed and reduce damage to the environment. *Journal of Hazardous Materials*. 268(1):207-215.
- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Ed. Hemisferio sur. 1a. Ed. Argentina. 281 p.
- Perreault, F., Oukarroum, A., Pirastru, L., Sirois, L., Gerson M. W., and Popovic, R. 2010. Evaluation of Copper oxide nanoparticles toxicity using chlorophyll *a* fluorescence imaging in *Lemna gibba*. *Journal of Botany*. doi:10.1155/2010/763142.
- Prasad, R., Kumar, V., and Suranjit Prasad, K. 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: Present concerns and future aspects. *African Journal of Biotechnology*. 13(6):705-713.
- Prasad, T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R., and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal de Plant Nutrition*. 35(6):905-927.
- Raliya, R., and Tarafdar, J. C. 2013. ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba L.*). *Agricultural Research*. 2(1):48-57.
- Ramesh, M., Palanisamy, K., Babu, K., and Sharma, N. K. 2014. Effects of bulk and nano-titanium dioxide and zinc oxide on physio-morphological changes in *Triticum aestivum Linn.* *Journal of Global Biosciences*. 3(2):415-422.

- Raskar, S. V., and Laware, S. L. 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. *International Journal of Current Microbiology Applied Sciences*. 3(2):467-473.
- Rehman, H. U., Aziz, T., Farooq, M., Wakeel, A., Rengel, Z. 2012. Zinc nutrition in rice production systems: a review. *Plant and Soil*. 361(1):203-226.
- Rezaei, M., and Abbasi, H. 2014. Foliar application of nanochelate and non-nanochelate of zinc on plant resistance physiological processes in cotton (*Gossipium hirsutum* L.). *Iranian Journal of Plant Physiology*. 4(4):1137-1144.
- Rico, C. M., Peralta-Videa, J. R., and Gardea-Torresdey J. L. 2015. Chemistry, biochemistry of nanoparticles and their role in antioxidant defense system in plants. *Nanotechnology and Plant Sciences. Nanoparticles and Their Impact on Plants*.
- Sabir, S., Arshad, M., and Chaudhari, S. K. 2014. Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: Synthesis and applications. *The Scientific World Journal*. 2014(1):1-8.
- Sabourin, V., and Ayande, A. 2015. Commercial Opportunities and Market Demand for Nanotechnologies in Agribusiness Sector. *Journal of Technology Management and Innovation*. 10(1):40-51.
- SAGARPA, 2016. Secretaría de Agricultura, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <http://www.sagarpa.gob.mx> (última revisión 2 Feb. 2016).
- SAS Institute. 2002. Inc., JMP® 5 Administrator's Guide to Annually Licensed Windows and Macintosh Versions. Version 5.01. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Scott, N., and Chen. H. 2013. Nanoscale Science and Engineering for Agriculture and Food Systems". *Industrial Biotechnology*. 9(1):17-18.
- Sedghi, M., Hadi, M., and Toluie, S.G. 2013. Effect of nano zinc oxide on the germination parameters of soybean seeds under drought stress. *Annals of West University of Timisoara Ser, Biology*. 16(2):73-78.
- Seth, C. S., Remans, T., Keunen, E., Jozefczak, M., Gielen, H., Opdenakker, K., Weyens, N., Vangronsveld, J., and Cuypers, A. 2012. Phytoextraction of toxic metals: a central role for glutathione. *Plant, Cell and Environment*. 35(1):334-346.

- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K., and Arora, S. 2012. Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 167(8):2225-2233.
- Shyla, K. K., and Natarajan, N. 2014. Customizing zinc oxide, silver and titanium dioxide nanoparticles for enhancing groundnut seed quality. *Indian Journal Science and Technology*. 7(9):1376-1381.
- SIAP, 2015. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx> (última revisión: 2 Feb. 2016).
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, H., M., and Mohamad, F. 2015. Nanotechnology and Plant Sciences. *Nanoparticles and Their Impact on Plants*. Springer International Publishing Switzerland. ISBN 978-3-319-14502-0. Aligarh, UP, India. 305 Pp.
- SNIIM, 2016. Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados. <http://www.economia-sniim.gob.mx> (última revisión: 2 Feb. 2016).
- Song, G., Gao, Y., Wu, H., Hou, W., Zhang, C., and Ma, H. 2012. Physiological effect of anatase TiO<sub>2</sub> nanoparticles on *Lemna minor*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 31(9):2147-2152.
- Srilatha, B. 2011. Nanotechnology in agriculture. *J. Nanomedic Nanotechnology* 2(7):1-5.
- 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.
- Tyagi, H., Jha, S., Sharma, M., Giri, J., and Tyagi, A. K. 2014. Rice SAPs are responsive to multiple biotic stresses and overexpression of OsSAP1, an A20/AN1 zinc-finger protein, enhances the basal resistance against pathogen infection in tobacco. *Plant Science*. 225(1):68-76.
- Wang, S., Liu, H., Zhang, Y., Xin, H. 2015. The effect of CuO NPs on reactive oxygen species and cell cycle gene expression in roots of rice. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 34(3):554-561.

- Wei, H., and Wang, E. 2013. Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanoenzymes): next-generation artificial enzymes. *Chemical Society Reviews*. 42(14):6060-6093.
- Xia, T., Kovoichich, M., Liong, M., Mädler, L., Gilbert, B., Shi, H., Yeh, J. I., Zink, J. I., and Nel, A. E. 2008. Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. *ACS. Nano*. 2(10):2121-2134.
- Xue, J., Luo, Z., Li, P., Ding, Y., Cui, Y., and Wu, Q. 2014. A residue-free green synergistic antifungal nanotechnology for pesticide thiram by ZnO nanoparticles. *Scientific Reports*. 4(5408):1-9.
- Yáñez, V. A. 2010. La nanotecnología en el contexto del patrón industrial actual. *CONCYTEG* 5(64):1209-1209.
- Zhang, D., Hua, T., Xiao, F., Chen, C., Gersberg, R. M., Liu, Y., Stuckey, D., Ng, W. J., and Tan, S. K. 2015. Phytotoxicity and bioaccumulation of ZnO nanoparticles in *Schoenoplectus tabernaemontani*. *Chemosphere*. 120(1):211-219.
- Zhao, L., Sun, Y., Hernandez-Viezcas, J. A., Servin, A. D. Hong, J., Niu, G., Peralta-Videa, J. A., Duarte-Gardea, M., and Gardea-Torresdey, J. L. 2014. Influence of CeO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles on cucumber physiological markers and bioaccumulation of Ce and Zn: A Life Cycle Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61(49):11945-11951.

Correo electrónico; Román Ponce Zambrano, [agro\\_bidagiupozci@hotmail.com](mailto:agro_bidagiupozci@hotmail.com)

## ANEXOS

Anexo 1. Cuadrados medios del análisis de varianza (ANVA) para variables evaluadas en bioensayos *in vitro* de *L. esculentum* con NPs ZnO.

FV	GL	Índice de Vigor (%)	Germinación (%)	GL	Longitud plúmula (cm)	Longitud radícula (cm)
NPs ZnO (ppm)	4	157.2 <sub>NS</sub>	82.8 <sub>NS</sub>	4	4.77*	1534**
Error	15	4.71	3.19	433	0.60	42.09
CV		12.98	7.28		25.22	70.28

F.V.= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; NS=No significativo; \*Diferencia significativa; \*\*Diferencia altamente significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre tratamientos.

Anexo 2. Cuadrados medios del análisis de varianza (ANVA) para variables evaluadas en bioensayos *in vitro* de *L. esculentum* con ZnO a granel.

FV	GL	Índice de vigor (%)	Germinación (%)	GL	Longitud plúmula (cm)	Longitud radícula (cm)
ZnO bulk (ppm)	4	319.2*	58*	4	23.33*	418.71*
Error	15	60.8	18.4	431	1.75	6.16
CV		11.89	4.93		52.19	47.92

F.V.= Fuente de variación, GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; NS=No significativo; \*Diferencia significativa; ( $P \geq 0.05$ ) entre tratamientos.

Anexo 3. Cuadrados medios del análisis de varianza (ANVA) para variables evaluadas en bioensayos *in vivo* de *L. esculentum* con NPsZnO.

F V	GL	Altura final (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Biomasa fresca (g)	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Longitud de raíz (cm)	Peso seco raíz (g)	Peso seco planta (g)
NPs ZnO (ppm)	3	2.99 <sub>NS</sub>	5.16 <sub>NS</sub>	595.91 <sub>NS</sub>	262231.44 <sub>NS</sub>	5.26 <sub>NS</sub>	0.07 <sub>NS</sub>	2.48 <sub>NS</sub>
Error	44	15.66	4.61	506.18	168894.26	10.27	1.70	5.86
C V		10.95	24.14	23.19	27.33	13.14	35.6	22.31

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; NPs ZnO= Nanopartículas de óxido de zinc; ppm= partes por millón; CV= Coeficiente de variación; NS= No significativo.



## RESUMEN

Los insumos agrícolas convencionales han tenido problemas a la hora de incrementar la producción de alimentos debido a que se han tenido que requerir cada vez más dosis elevadas de compuestos químicos, trayendo como consecuencias un impacto negativo para el sector agrícola y medioambiental. Por lo anterior, este trabajo orientó a la investigación relacionada sobre el uso de nanopartículas de óxido de zinc (NPs ZnO) en la agricultura y sus posibles aplicaciones como promotores de germinación y crecimiento de plantas de *Lycopersicon esculentum*. El trabajo se realizó en dos fases, y en ambas se implementó un diseño completamente al azar, en la primera fase *in vitro* estuvo conformada por cinco tratamientos y cuatro repeticiones. Los tratamientos constaron de soluciones de NPs ZnO en concentraciones de 0 (testigo/agua destilada), 5, 10, 15 y 20 ppm, además, se implementó un segundo testigo a las mismas concentraciones pero esta vez con el bulk de ZnO, las variables a evaluar fueron índice de vigor, porcentaje de germinación, longitud de plúmula y radícula y actividad enzimática; en la segunda etapa (*in vitro*) los tratamientos fueron concentraciones de NPs ZnO en dosis de 0.50, 100 y 200 ppm con 15 repeticiones cada uno y las variables evaluadas fueron altura final, diámetro de tallo, biomasa fresca, área foliar, peso seco de la planta longitud y peso seco de la raíz. Los resultados obtenidos indicaron que NPs ZnO en dosis de 5 y 10 ppm mejoraron el proceso de germinación con respecto al bulk de ZnO y el testigo y se vio reflejado en un incremento en la longitud de radícula y plúmula al presentar significancia y demostrando así, su actividad como nanofertilizantes. No obstante conforme se aumentaba las concentraciones, se inhibía la germinación y el desarrollo de las plántulas, motivo por el cual se observó una mayor actividad enzimática de catalasas y peroxidas. En la fase de crecimiento, NPs ZnO lograron un ligero incremento en la producción de biomasa fresca en concentraciones de 50 ppm reflejándose en un aumento en el diámetro de tallo, longitud y peso seco de la raíz, inclusive NPs ZnO al 100 ppm incremento la altura de la planta y el peso seco.

**Palabras clave:** nanopartículas, óxido de zinc, nanofertilizantes.