

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



NANOPÁRÍCULAS DE COBRE EN HIDROGELES DE QUITOSÁN-PVA EN EL
DESARROLLO Y CALIDAD NUTRACÉUTICA DE SANDÍA INJERTADA

(Citrullus lanatus)

TESIS

Que sustenta HOMERO GONZÁLEZ GÓMEZ

Como Requisito parcial para obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila México

Julio 2017

NANOPÁRÍCULAS DE COBRE EN HIDROGELES DE QUITOSÁN-PVA EN EL
DESARROLLO Y CALIDAD NUTRACÉUTICA DE SANDÍA INJERTADA
(*Citrullus lanatus*)

TESIS

Elaborada por HOMERO GONZÁLEZ GÓMEZ como requisito parcial para
obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría

Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Asesor principal

Dr. Adalberto Benavides Mendoza
Asesor

Dr. Valentín Robledo Torres
Asesor

Dra. Francisca Ramírez Godina
Asesor

Dra. Hortensia Ortega Ortiz
Asesor

Dr. Alberto Sandoval Rangel
Subdirector de Posgrado
UAAAN

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por ser mi segundo hogar durante mis años de estudio y por darme la oportunidad de continuar cumpliendo mis sueños.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico que se me ha brindado para financiar mis estudios de posgrado.

Al Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente por brindarme la oportunidad de trabajar bajo su supervisión, por su apoyo, por su confianza y por el tiempo que me otorgo durante mi estancia en la Universidad, siempre le estaré agradecido.

Al Dr. Dr. Adalberto Benavides Mendoza por ser parte de este proyecto, por su ayuda y su conocimiento.

Al Dr. Valentín Robledo Torres por ser participe en mi formación académica y por su a poyo.

A la Dra. Francisca Ramírez Godina por ser parte de mi proyecto y por la ayuda que me brindo en todo momento.

A la Dra. Hortensia Ortega Ortiz por ser parte de mi comité de asesoría, por su tiempo y por la confianza que me brindo.

A la T.A. Martina De la Cruz Casillas por el apoyo que me otorgo en el laboratorio de cultivo de tejidos del departamento de Horticultura.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) por el apoyo que se me brindo en sus instalaciones.

A la LCQ Irma Oralia Solís De la Peña por su apoyo en la determinación de los minerales por espectroscopia de emisión de plasma (ICP).

Y por último pero no menos importante doy gracias a este maravilloso país que se llama México por brindarnos la oportunidad de seguir estudiando y de buscar un mejor futuro para nuestras familias.

DEDICATORIA

Doy gracias al creador por permitirme vivir este momento lleno de alegría y satisfacción.

A mis padres que siempre han sido incondicionales cuando más los he necesitado.

A mi papá Agripino González González por aconsejarme en cada momento y por apoyarme siempre que lo necesité.

A mi mamá Rafaela Gómez Zetina por tu amor y comprensión.

A mis hermanos: Fermín, Mario, Joel Horacio y Carmen ustedes siempre me han apoyado incondicionalmente.

A mi hermana Guadalupe que a pesar de que ya no estés conmigo siempre vivirás en mi memoria y en mi corazón a donde quiera que vaya te recordare.

A mi esposa Yessica Sosa Rodríguez y a mi hijo Iker González Sosa por ser el motor que me impulsa cada mañana a seguir adelante y nunca darme por vencido, son lo más sagrado e importante que tengo los amo con toda mi existencia.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA	iv
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Importancia de la sandía	3
Injerto en hortalizas	3
Injerto en cucurbitáceas.....	3
La nanotecnología	4
Nanotecnología y la Agricultura	4
Nanopartículas de cobre.....	5
Qitosán	5
PVA	5
MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
Localización geográfica	6
Material vegetativo.....	6
Siembra	6
Práctica de injerto.....	7
Preparación de hidrogeles de Cs-PVA y absorción de NPs de cobre (Cs-PVA-nCu).....	7
Establecimiento del experimento	8
Manejo del cultivo	9
Variables evaluadas	10

Agronómicas	10
Variables Micromorfológicas	10
Calidad comercial	12
Contenido mineral	12
Calidad nutracéutica.....	13
Análisis de datos	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
Agronómicas.....	17
Variables Micromorfológicas.....	20
Calidad comercial	24
Contenido mineral	26
Calidad nutracéutica	29
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFÍA.....	33

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Tratamientos empleados en el experimento.	9
2	Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la longitud de raíz (LG), diámetro de tallo (DT), peso seco (PS), peso fresco (PF), área foliar (AF) y conductancia estomática (CE) en plantas de sandía variedad jubilee	18
3	Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la longitud de raíz (LG), diámetro de tallo (DT), peso seco (PS), peso fresco (PF), área foliar (AF) y conductancia estomática (CE) en plantas de sandía variedad jubilee.	19
4	Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la densidad estomática (DE), índice estomático (IE), longitud del estoma (LE) y ancho del estoma (AE) en la zona adaxial de las hojas.	21
5	Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la densidad estomática (DE), índice estomático (IE), longitud del estoma (LE), ancho del estoma (AE) en la zona abaxial de las hojas; así como el número de vasos basculares (NV) y el área de vasos vasculares (AV) del xilema.	21
6	Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la densidad estomática (DE), índice estomático (IE), longitud del estoma (LE) y ancho del estoma (AE) en la zona adaxial de las hojas.	22
7	Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la densidad estomática (DE), índice estomático (IE), longitud del estoma (LE), ancho del estoma (AE) en la zona abaxial de las hojas; así como el número de vasos basculares (NV) y el área de vasos (AV) del xilema	23

8	Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la cantidad de sólidos solubles totales (SST) y pH de los frutos de sandía variedad jubilee.	24
9	Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en la concentración de minerales presentes en hoja y tallo de sandía variedad jubilee.	27
10	Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en la concentración de minerales presentes en fruto de sandía variedad jubilee.	27
11	Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en la concentración de minerales presentes en hoja, tallo de sandía variedad jubilee.	28
12	Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en la concentración de minerales presentes en el fruto de sandía variedad jubilee.	29
13	Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-n Cu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la cantidad de proteínas totales (mg·L ⁻¹), SOD: superóxido dismutasa (%), Cat: actividad de la enzima catalasa (mM de H ₂ O ₂ * min ⁻¹ *proteínas totales [mg·g ⁻¹]) Apx: Ascorbato peroxidasa (μmol de ascorbato oxidado·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ ·proteínas ⁻¹). Glu: glutatión (U/mg de proteínas) el contenido de licopeno. (μg*g ⁻¹) de los frutos de sandía variedad jubilee	30
14	Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la cantidad de proteínas totales (mg·L ⁻¹), SOD: superóxido dismutasa (%), Cat: actividad de la enzima catalasa (mM de H ₂ O ₂ * min ⁻¹ *proteínas totales [mg·g ⁻¹]) Apx: Ascorbato peroxidasa (μmol de ascorbato oxidado* min ⁻¹ *mg ⁻¹ * proteínas ⁻¹). Glu: glutatión (U/mg de proteínas) y el contenido de licopeno. (μg·g ⁻¹) de los frutos de sandía variedad jubilee	31

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Micrografía de las nanopartículas de cobre absorbidas en los hidrogeles de Cs-PVA	8
2	Frutos suspendidos en redes plásticas transparentes sujetas a la estructura metálica de la casa sombra, debido a que las plantas se encontraban tutoradas.	10
3	Distribución y tamaño de estomas, (A) y (B) parte adaxial con y sin injerto, (C) y (D) zona abaxial con y sin injerto en plantas de sandía tratadas con Cs-PVA-n Cu. Barra 20µm.	23
4	Efecto de la interacción entre injerto y sin injerto (CI, SI) y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre el pH del fruto de sandía variedad jubilee	25
5	Efecto de la interacción injerto y sin injerto (CI, SI) y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) del fruto de sandía variedad jubilee	25

RESUMEN

NANOPÁRÍCULAS DE COBRE EN HIDROGELES DE QUITOSÁN EN EL
DESARROLLO Y CALIDAD NUTRACÉUTICA DE SANDÍA INJERTADA
(*Citrullus lanatus*)

POR

HOMERO GONZÁLEZ GÓMEZ
MAESTRIA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. MARCELINO CABRERA DE LA FUENTE-ASESOR

Saltillo, Coahuila México

Julio 2017

Se prevé que en los próximos años la población mundial será casi el doble de la actual, por lo que el poder cubrir la demanda de alimentos tanto en cantidad como en calidad será un reto aún más grande para los sistemas de producción agrícola sin mencionar las graves repercusiones ambientales que esto implicará. El injerto es una técnica utilizada en hortalizas que permite a la planta ser más eficiente en el aprovechamiento de agua y nutrientes mostrando un mejor crecimiento del cultivo además de mejorar la calidad de los frutos, por otra parte el desarrollo de materiales a escala nano ofrecen la posibilidad de utilizar insumos en cantidades muy inferiores a los manejados en sistemas convencionales pero cuyo efecto es similar o superior a los productos comerciales, por tal motivo se evaluó el efecto del injerto y la aplicación de nanopartículas de cobre absorbidas en hidrogeles de quitosán-polivinil alcohol (Cs-PVA-nCu) sobre el crecimiento y desarrollo de la planta además de la calidad de los frutos de sandía variedad jubilee. El diseño fue completamente al azar con arreglo factorial (2X3); factor 1: con y sin injerto, factor 2: aplicación de Cs-PVA-nCu, hidrogel de Cs-PVA solo y cero aplicación, las variables evaluadas fueron parámetros agronómicos, micromorfología, calidad comercial, contenido mineral y calidad nutracéutica. Los resultados mostraron que el injerto modifica aspectos micromorfológicos que parecen repercutir en el desarrollo de la planta de manera favorable además de mejorar la calidad comercial, contenido mineral, proteínas totales y la concentración de licopeno. También se encontró que el empleo de Cs-PVA-nCu aumenta el área estomática, longitud de guía y longitud de raíz en un 7%, 8% y 14% respectivamente. El injerto con aplicaciones de Cs-PVA-nCu tuvieron los mejores resultados en longitud de guía, diámetro de tallo, longitud de raíz, área foliar específica así como en la asimilación de minerales como el potasio, calcio, magnesio y zinc, de tal modo creemos que el injerto y la aplicación de nano cobre pueden ser una alternativa de producción de sandía variedad jubilee que responde a las necesidades del consumidor y al mismo tiempo es amigable con el medio ambiente.

Palabras Clave: injerto, nanopartículas, desarrollo, quitosán, PVA, nutracéutica.

ABSTRACT

COPPER NANOPARTICLES IN HYDROGELS OF CHITOSAN-PVA IN THE
DEVELOPMENT AND NUTRACEUTICAL QUALITY OF GRAFTED
WATERMELON (*Citrullus lanatus*)

BY

HOMERO GONZÁLEZ GÓMEZ
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. MARCELINO CABRERA DE LA FUENTE-ADVISER

Saltillo, Coahuila México

July 2017

The world population is expected to be nearly twice as high as in the coming years, so meeting the demand for food in both quantity and quality will be an even greater challenge for agricultural production systems, not to mention the serious ones Environmental repercussions that this will entail. The grafting is a technique used in vegetables that allows the plant to be more efficient in the use of water and nutrients showing a better growth of the crop besides improving the quality of the fruits, on the other hand the development of materials at nanoscale offer the Possibility of using inputs in quantities much lower than those handled in conventional systems but whose effect is similar or superior to commercial products, for that reason the effect of grafting and the application of absorbed copper nanoparticles in chitosan-polyvinyl alcohol hydrogels (Cs-PVA-nCu) on the growth and development of the plant in addition to the quality of jubilee variety watermelon fruits. The design was completely randomized with factorial arrangement (2X3); Factor 1: with and without grafting, factor 2: application of Cs-PVA-nCu, Cs-PVA hydrogel alone and zero application, the variables evaluated were agronomic parameters, micromorphology, commercial quality, mineral content and nutraceutical quality. The results showed that the graft modifies micromorphological aspects that seem to affect the development of the plant in a favorable way besides improving the commercial quality, mineral content, total proteins and the concentration of lycopene. It was also found that the use of Cs-PVA-nCu increases the stomatal area, guiding length and root length by 7%, 8% and 14% respectively. The grafting with Cs-PVA-nCu applications had the best results in guide length, stem diameter, root length, specific leaf area as well as in the assimilation of minerals such as potassium, calcium, magnesium and zinc, in such a way We believe that the grafting and the application of nano copper can be an alternative of production of jubiee variety watermelon that responds to the needs of the consumer and at the same time is friendly with the environment.

Key words: grafting, nanoparticles, development, chitosan, PVA, nutraceutical.

INTRODUCCIÓN

La agricultura moderna requiere de alternativas productivas que mejoren el desarrollo de los cultivos y no afecten al medio ambiente ya que los recursos como agua y suelo son cada vez más escasos y la población sigue en aumento; la ONU (2015) estima una población mundial para el 2050 cercana a los 10,000 millones de seres humanos, por otra parte los consumidores demandan mejores productos que brinden beneficios a su salud a través de su ingesta, es por ello que investigar alternativas que mejoren la producción agrícola disminuyendo el impacto ambiental y al mismo tiempo que incrementen la calidad nutracéutica de los alimentos se vuelve un tema crucial. Los alimentos de origen vegetal como frutas y hortalizas son productos de gran interés, ya que además de proveer de macro y micronutrientes al consumidor contienen sustancias que benefician a quien los consumen, un ejemplo claro es el fruto sandía que se destaca por contener compuestos con actividad antioxidante que están estrechamente relacionados con la prevención de enfermedades crónicas degenerativas (Martínez *et al.*, 2008), sin embargo el proceso de producción agrícola en ocasiones se ve afectado por la influencia de plagas y enfermedades que orillan a los productores a emplear agroquímicos y pesticidas en forma irracional afectando el ambiente y la salud humana, (Ruiz *et al.*, 2011), actualmente se estudian técnicas como el injerto en hortalizas que permite al cultivo desarrollarse adecuadamente y disminuir el uso de agroquímicos (González *et al.*, 2008), otra ventaja de las plantas injertadas es que toleran condiciones ambientales estresantes como salinidad y temperaturas elevadas (Khah *et al.*, 2006), además se ha encontrado que el efecto del injerto en algunas especies incrementa la acumulación de compuestos con actividad antioxidante (He *et al.*, 2009). Otro esfuerzo que busca disminuir la utilización de agroquímicos a escalas tan elevadas y de esta manera evitar su efecto perjudicial a la naturaleza es el uso de materiales nanométricos (Ghormade *et al.*, 2011), ya que estos materiales presentan cualidades distintas a las conocidas en su escala convencional como son una alta conductividad, reactividad química, buena relación superficie-

volumen y propiedades ópticas únicas (Nel *et al.* 2006; Niemeyer and Doz, 2001) lo que los hace muy útiles en la protección y nutrición de cultivos (Oskam, 2006). Estas características tan particulares de los nanomateriales han resuelto muchos problemas en distintos campos de la ciencia e industria (Scott and Chen, 2003), sin embargo en la agricultura su utilización es reciente pero va en aumento (Prasad *et al.*, 2014). Las plantas utilizan elementos metálicos como el Cu que actúan como activadores de enzimas o cofactores en proteínas (Epstein and Bloom, 2005) pero su efecto puede ser perjudicial si se concentra en altas cantidades en las zonas de absorción como raíces y tallos, este efecto perjudicial se lleva a cabo mediante reacciones oxidativas en membranas y proteínas (Pastori and Foyer, 2002) con ello afectando el crecimiento y rendimiento en los cultivos. La mayoría de las nanopartículas causa toxicidad a concentraciones elevadas afectando la productividad de los cultivos (Rico *et al.*, 2015) es por ello que su utilización debe ser mesurada, las nanopartículas de cobre si se utilizan en cantidades adecuadas han mostrado tener efectos favorables sobre el desarrollo de algunos cultivos (Da Costa and Sharma, 2016) se cree que utilizar nanopartículas de cobre estimula los mecanismos antioxidantes (Fu *et al.*, 2014) lo que podría incrementar de manera sustancial la calidad nutracéutica del fruto de sandía, una forma adecuada para su liberación controlada es mediante el encapsulamiento en quitosán técnica que en años recientes ha sido desarrollada y representa una buena herramienta ecológica en la producción de plantas (Vincekovic *et al.*, 2016).

Objetivo general

Determinar el efecto de las nanopartículas de cobre absorbidas en hidrogeles de quitosán-PVA en el desarrollo y calidad nutracéutica de los frutos de sandía injertada.

Hipótesis

El desarrollo y la calidad nutracéutica de la sandía injertada pueden ser modificados por la aplicación de nanopartículas de cobre absorbidas en hidrogeles de Quitosán-PVA.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia de la sandía

La sandía es una cucurbitácea de gran importancia a nivel mundial junto con otros cultivos (Bisognin, 2002), es una especie agrícola oriunda del viejo mundo, que se domesticó en África y desde ahí se dispersó por el Mediterráneo, Medio Oriente e India. Ingresó a México por el norte del país aunque existe la posibilidad de que haya sido introducida por los esclavos africanos que los españoles trajeron a este territorio (Uzcanga, *et al.* 2015), la sandía es un producto agrícola que tiene gran interés para su consumo humano debido a que es rico en componentes que tienen características antioxidantes, tales como el licopeno, ácido ascórbico y enzimas antioxidantes, las cuales benefician la salud (Tlili, *et al.* 2011) aunado a esto es importante mencionar que México es uno de los principales productores de sandía junto con China, Turquía y los Estados Unidos, la sandía es uno de los principales productos con los que nuestro país comercializa con el mundo (Huitrón *et al.*, 2009). También la FAOSTAT (2014) reporta que nuestro país es uno de los mayores productores de este fruto y que en el año 2014 registro una producción cercana al millón de toneladas.

Injerto en hortalizas

El injerto en hortalizas consiste en unir dos porciones de tejido viviente de dos plantas distintas para que se desarrollen como una sola (Edelstein M., 2004) la técnica tiene sus orígenes en el continente asiático para ser específicos nos referimos a Japón donde se comenzó a realizar desde 1920 (Lee, 1994) su utilización en cucurbitáceas ha mostrado ser muy favorable, ya que permite la instalación del cultivo en áreas o circunstancias desfavorables, además de que incrementa la producción y calidad de los frutos (Camacho, *et al.* 2011).

Injerto en cucurbitáceas

En cucurbitáceas existen un gran número de métodos para realizar el injerto, sin embargo el método por aproximación ha mostrado un buen porcentaje de

sobrevivencia pos-injerto además de estimular un adecuado desarrollo de las plantas injertadas (Lee, *et al.* 2010), esto se debe a que tanto la variedad como el patrón a injertar conservan la parte radicular en los primeros días posteriores a la realización del injerto lo que permite que las plantas se encuentren menos susceptibles a la deshidratación además de no requerir condiciones climáticas tan controladas en comparación con otros métodos utilizados para injertar.

La nanotecnología

La nanotecnología constituye uno de los mayores avances en los tiempos actuales, esta consiste en la producción y uso de nuevos materiales a escalas en las cuales muestran efectos y propiedades distintos a los normalmente observados a escalas convencionales (Liu *et al.*, 2000). Las nanopartículas (NPs) en particular han mostrado tener una especial resistencia, una mayor reactividad química y mejor eficacia en campos como medicina, farmacéutica, electrónica y recientemente en la agricultura Bhattacharyya y colaboradores (2010)

Nanotecnología y la Agricultura

Estudios recientes han mostrado el alto potencial de la nanotecnología en distintos campos, su aplicación en la agricultura podría mejorar la producción, la calidad de los alimentos y al mismo tiempo incrementar la sustentabilidad de los sistemas de producción actuales (Fraceto, *et al.* 2016). Algunas de las proezas de las que se habla con el uso de la nanotecnología en la agricultura son: incremento de la producción de los sistemas convencionales, mejorar la calidad del suelo y como promotores de crecimiento vegetativo. (The Royal Society, 2009, Sekhon, 2014, Khot, *et al.* 2012) esto gracias a que los compuestos nanométricos permiten incrementar la capacidad en las plantas de asimilar agua y nutrientes (Ma *et al.*, 2010) tal particularidad se debe a que los compuestos nanométricos actúan de forma distinta a los compuestos iónicos además de ser más eficientes y seguros para el medio ambiente (He, *et al.* 2011).

Nanopartículas de cobre

Las NPs, las cuales van de 1-100 nm de diámetro son aglomeraciones de átomos sobre átomos, las NPs de cobre que tienen un tamaño entre 5-25 nm aunque este dependerá de la temperatura y de la presión a la que se hayan sometido durante su fabricación (Mott, *et al.* 2007) se han estudiado de manera sistemática el efecto de la aplicación de las NPs en la promoción del crecimiento de semillas de tomate en los que ha mostrado un buen desarrollo y rápido crecimiento (Saharan *et al.*, 2016).

Quitósán

El quitósán (Cs) es un polisacárido que se encuentra raramente en la naturaleza. Se obtiene generalmente por desacetilación extensiva de la quitina, un polímero de la N-acetil-D-glucosamina β (1 \rightarrow 4) enlazada, que está presente en los caparazones de crustáceos y moluscos, las paredes celulares de los hongos y la cutícula de los insectos (Muzzarelli, 1993) utilizado ampliamente gracias a sus propiedades de no toxicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad (Patel y Sinha, 2009) su uso en la agricultura es reciente pero a pesar de eso puede considerarse abundante y creciente, se ha utilizado como estimulador de crecimiento, inductor de mecanismos de defensa y en la liberación controlada de agroquímicos (Nge *et al.*, 2006, Khan *et al.*, 2003, Mc Cormick *et al.*, 1982).

PVA

El alcohol polivinílico o polivinil alcohol, PVA, es un polímero hidrofílico, no tóxico, biocompatible, con buenas propiedades mecánicas y muy estable durante largos periodos en diferentes condiciones de temperatura y pH (Gholap, Jog y Badiger, 2004). Además el PVA tiene la capacidad de formar hidrogeles (Hassan y Peppas, 2000); los hidrogeles son estructuras tridimensionales con capacidad de absorber agua pero no son solubles en ella (Peppas y Lustig 1985), a partir de este polímero se pueden obtener algunos hidrogeles en combinación con otros materiales cuyas características físicas y químicas dependerán del método utilizado para su entrecruzamiento (Lozinsky, *et al.* 1992).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización geográfica

El trabajo se llevó a cabo en condiciones de malla sombra del 25% de sombreo localizada en el área de investigación del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, cuya ubicación geográfica se encuentra a 25°21'22.51" de latitud norte y 101° 2'9.88" longitud oeste, con una altitud de 1760 msnm.

Material vegetativo

Se emplearon semillas de sandía variedad jubilee, el fruto de esta variedad es grande y alargado posee pulpa suave de color rosado brillante y cáscara con franjas marcadas (Kwon, *et al.* 2010), como porta injerto se utilizaron plántulas de un híbrido de calabaza (*Cucúrbita máxima* x *Cucúrbita moschata*), el cual es muy conveniente como patrón en el injerto de cucurbitáceas debido a que presenta gran afinidad con estas (Pulgar *et al.*, 2000), promueve en las plantas un desarrollo vigoroso ante condiciones adversas tanto de suelo como de temperatura, ya que provee en la variedad injertada un mejor sistema radicular lo que le permite ser más eficiente en la asimilación de agua y nutrientes (Colla *et al.*, 2006).

Siembra

Las semillas de sandía se sembraron el día 31 de mayo del 2016 en charolas de poliestireno de 60 cavidades colocando una semilla en cada cavidad, ocho días después se sembró la semilla del portainjerto en charolas de 128 cavidades también colocando una semilla por cavidad, los portainjertos se sembraron con una semana de retraso debido a que poseen un mayor vigor vegetativo comparado con la variedad, con esto se buscó que tanto el tallo de la variedad como el del portainjerto tuvieran un diámetro similar, para el llenado de las charolas en ambos casos solamente se utilizó peat moss como sustrato.

Práctica de injerto

La actividad del injerto se llevó a cabo el día 15 de junio del año 2016, dos semanas después de la siembra de la variedad y 5 días después de la emergencia de la calabaza, se utilizó el método de aproximación descrito por Oda (1995), las plántulas ya injertadas se colocaron en charolas de poliestireno de 60 cavidades sobre una mesa en el invernadero a temperatura promedio de 30 °C y con humedad relativa del 60%, los injertos se regaron y se asperjaron a diario para prevenir marchitamientos. Tomando como referencia a (Petropoulos *et al.*, 2012) transcurridos 15 días después de injerto se procedió a separar la sandía del patrón realizando un corte por debajo del área de unión del injerto de igual manera se eliminó la parte aérea del patrón, las plantas ya injertadas se conservaron en las charolas por 7 días más a la misma temperatura y humedad relativa transcurrido este periodo se sacaron del invernadero y fueron colocadas bajo una malla sombra con el 25% de sombreo.

Preparación de hidrogeles de Cs-PVA y absorción de NPs de cobre (Cs-PVA-nCu)

La síntesis de los hidrogeles de Cs-PVA se realizó en la planta piloto del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) según la metodología siguiente: primeramente se disolvieron 250 mL de quitosán marca Marine Chemical y $M_v=200,000$ g/mol al 2% en medio acuoso débilmente ácido y 250 mL de polivinil alcohol (PVA) marca Aldrich de $M_w=30,000$ a 50,000 y 98% de hidrólisis al 4% mezclándolos por dos horas a 300 rpm y 60°C para obtener un hidrogel en una relación 1:2 (Cs:PVA); posteriormente se agregan 2.27 mL del entrecruzante (glutaraldehído al 50%) a 450 rpm por 5 minutos a 25°C, después se agregaron 100 mL de NaOH al 6% a 300 rpm, y 25°C por una hora. En seguida se hizo un lavado y purificación de los hidrogeles de Cs-PVA con agua destilada y etanol, y por último se secaron y se pesaron (Pinedo, *et al.* 2017).

Las NPs de Cu usadas en este trabajo fueron adquiridas en SkySpring Nanomaterials, Inc. (USA) con morfología esférica, pureza del 99.8% y diámetro promedio de 25 nm. 100 mg de las NPs de Cu se dispersaron en una solución acuosa con Tween al 1% por ultrasonido durante 5 minutos (potencia de 50 watts y frecuencia del 70%), luego se prepararon diluciones para obtener una concentración de 0.4 mg, las cuales posteriormente se absorbieron en un gramo de hidrogel de Cs-PVA preparado previamente y se secaron a una temperatura de 60 °C se tomaron micrografías para cerciorarse que efectivamente estas estuvieran presentes en los hidrogeles Cs-PVA en un Microscopio electrónico de barrido marca JEOL-JMS-7401F, con voltajes de 0.5-30 kV y una resolución de 1 nm (Figura 1).

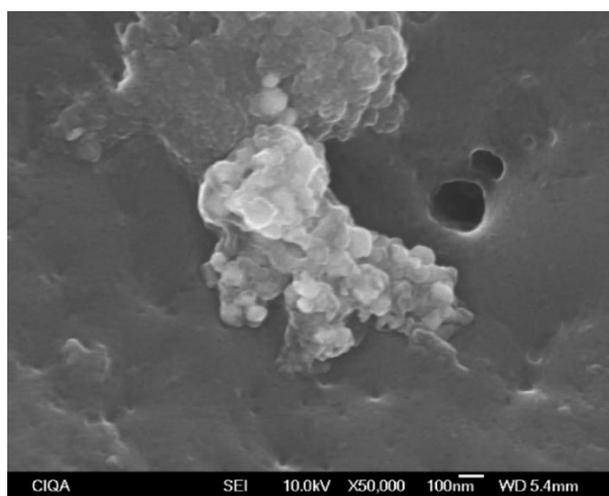


Figura 1. Micrografía de las nanopartículas de cobre absorbidas en los hidrogeles de Cs-PVA.

Establecimiento del experimento

Una vez que a las plántulas se les formó el callo en la unión, fueron llevadas al campo y se trasplantaron en macetas negras de plástico con capacidad de 10 litros, se utilizó una mezcla de peat moss y perlita en una proporción de 1:2 respectivamente, al mismo momento del llenado de las macetas se procedió a hacer la aplicación de un gramo del Cs-PVA-nCu que contenía 0.4 mg de NPs de cobre por gramo del hidrogel, el cual se distribuye en tres partes iguales

(0.33 gramos aproximadamente) por cada tercio de la maceta; aplicando de igual manera el hidrogel de Cs-PVA sin NPs de cobre, los tratamientos se establecieron bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x3, el factor 1 con dos niveles que fueron plantas injertadas y sin injerto, el factor 2 que conto con 3 niveles y correspondieron a plantas cultivadas en Cs-PVA-nCu, plantas tratadas sólo con hidrogel de Cs-PVA y plantas sin ninguna aplicación, siendo en total seis tratamientos con tres repeticiones, la unidad experimental cuenta con cuatro plantas cada una, los tratamientos se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos empleados en el experimento.

		Factor 1	
		Niveles	
Factor 2		Injerto	Sin Injerto
		Niveles	Cs-PVA-nCu
Hidrogel de Cs-PVA	T2		T5
Sin aplicación	T3		T6

Manejo del cultivo

El manejo del cultivo incluyó tutorio, aplicaciones preventivas y de control fitosanitario, el riego se llevó acabo por medio de un sistema de goteo presurizado de la marca Netafim colocando un gotero por maceta, el gasto del gotero seleccionado fue de un litro por hora la lámina de riego se calculó tomando como referencia la ecuación de Penman–Monteith, la fertilización fue dada utilizando solución Steiner (Steiner, 1984) esta se suministró vía sistema de riego, se efectuó un ajuste de la concentración en la solución nutritiva a cuatro diferentes porcentajes que fueron 25%, 50%, 75% y 100% dependiendo de la etapa del cultivo que correspondió a inicio, crecimiento vegetativo, floración, amarre y llenado de fruto, la polinización se realizó por emasculación manual, los frutos se colocaron en mallas para evitar que se despegaran de la planta debido al peso (Figura 2).



Figura 2. Frutos suspendidos en redes plásticas transparentes sujetas a la estructura metálica de la casa sombra, debido a que las plantas se encontraban tutoradas.

Variables evaluadas

Agronómicas

Como variables agronómicas se midió la longitud de la guía principal, diámetro del tallo, longitud de la raíz, área foliar específica, conductancia estomática, peso fresco y peso seco de la parte aérea. La longitud de la guía y el diámetro de tallo se midieron semanalmente, iniciando a los ocho días después del trasplante, por un período de 90 días, la medición del área foliar específica se evaluó a los 60 días después del trasplante usando un medidor marca LI-COR 3004, las lecturas fueron expresadas en $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ de peso seco final. Para la determinación de la conductancia estomática se empleó un porómetro marca Decagon Divices modelo SC-1, se tomaron tres lecturas por planta seleccionando hojas adultas y completamente extendidas que se encontraran hacia la misma orientación con respecto al sol las lecturas se hicieron en un horario que comprendió de 12:00 am a 2:00 pm, los datos obtenidos se reportaron en $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Con un muestreo destructivo de cuatro plantas por tratamiento se obtuvieron los datos de peso seco y peso fresco y longitud de raíz a los 60 días post trasplante.

Variables Micromorfológicas

Para la evaluación de estos parámetros se midieron densidad estomática, índice estomático, longitud del estoma, ancho del estoma, número y área de haces vasculares de los peciolo de las hojas.

Densidad estomática e índice estomático

Para el estudio de estomas, se tomaron muestras a los 60 días después de la siembra, se utilizaron cuatro plantas por tratamiento, de las que se tomaron dos hojas maduras, totalmente expandidas de la guía principal y con la misma orientación. En cada hoja, de su parte media, se tomó una impresión epidérmica del haz (adaxial) y otra del envés (abaxial), utilizando poliestireno-xilol en forma líquida, el que se aplicó sobre la superficie foliar con un pincel. Después de que se secó la película, ésta fue removida con un trozo de cinta adhesiva transparente y se montó sobre un portaobjetos (Weyers y Johansen, 1985). En cada impresión se observaron al azar tres campos microscópicos a 40X. De cada campo se tomó una microfotografía, en la que se contaron los estomas y las células epidérmicas, además se midió el ancho y largo (μm) de las células oclusivas de dos estomas en cada una de los campos del microscopio.

La densidad estomática se obtuvo de la siguiente forma:

$$\text{DE} = \text{Número de estomas} / 0.02479 \text{ mm}^2 \text{ (área de la imagen fotografiada)} = \text{estomas por mm}^2.$$

Para sacar el índice estomático se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{IE} = \text{N}^\circ \text{ de estomas} / \text{células epidérmicas} + \text{N}^\circ \text{ de estomas} \times 100 \text{ (Wilkinson, 1979).}$$

Se utilizó un microscopio con cámara digital Pixera Winder Pro y un software de medición AxionVision Rel. 4.8.

Estudio histológico

Se tomaron muestras a los 60 días después de la siembra, tres plantas por tratamiento fueron llevadas al laboratorio, se cortó un fragmento de peciolo de la hoja de (aproximadamente 1- 1.5cm) los tejidos fueron procesados por la técnica histológica de la parafina como sigue: Para conservar los tejidos con un mínimo de alteraciones fueron colocados en frasco de vidrio de 15 ml con fijador FAA (Formaldehído (36-40 %) 5 cc, Alcohol etílico al (70 %) 90 cc y ácido acético glacial 5 cc). Posteriormente las muestras fueron deshidratadas en concentraciones de alcohol etílico al 50, 60, 70, 85 y 96 por ciento, más eosina, continuando con alcohol etílico absoluto I, alcohol etílico absoluto II, alcohol

etílico absoluto mas xilol en proporciones volumen de 3:1, alcohol etílico absoluto mas xilol en proporciones de 1:1, alcohol etílico absoluto mas xilol en proporciones de 1:3 por ultimo los tejidos pasaron a xilol puro y permanecieron en cada solución por espacio de 2 horas, y embebidas en parafina con punto de fusión en 58°C posteriormente se sustituyo el alcohol con xilol (Cañizares *et al.*, 2005; Jáuregui, 2003). Se realizaron cortes transversales de tejidos a 20 micras con un microtomo rotatorio, los cuales se montaron en porta objetos. Para la tinción se uso la doble coloración de safranina-fast green, donde pasaron por diferentes soluciones de alcohol y xilol, se sacaron las preparaciones del último xilol y se escurrieron. Se sellaron con una gota de bálsamo de Canadá y un cubreobjetos del tamaño del tejido. Así las preparaciones se pusieron a secar en una estufa a 30 °C por espacio de una semana. Posteriormente los tejidos fueron analizados con la ayuda de un microscopio con cámara digital integrada Pixera Wiender Pro, se seleccionaron las mejores muestras y se fotografiaron con el objetivo 40X (Wilkinson H. 1979). Las mediciones fueron a partir de imágenes digitales, con un software de medición Axion Vision Rel. 4.8. Las variables evaluadas fueron área de vasos de xilema y número de vasos de xilema del pecíolo de la hoja

Calidad comercial

Como parámetros de calidad comercial en los frutos se evaluó el porcentaje de sólidos solubles totales (°Brix) y pH, para la evaluación de los sólidos solubles se utilizó un refractómetro digital (HI96801, Hanna Instruments Inc.) y para la determinación del pH se empleó un medidor de bolsillo modelo (pHep®5) la mediciones se hicieron una vez que los frutos cumplieran con los índices de cosecha descrito por (Montalván y Arias. 2007).

Contenido mineral

Para determinar la concentración de minerales en hoja, tallo y fruto en primer lugar el material vegetal fue secado a temperatura de 60 °C durante 72 horas en una estufa de secado MAPSA modelo HDP334 tomamos 0.5 g de muestra seca, colocándola en un vaso de precipitados de 100 mL y agregando 30 mL de HNO₃

concentrado tapando con un vidrio de reloj y se procedió a realizar la digestión de la materia orgánica calentando sobre una plancha durante un lapso de 4 horas se agrega ácido para conservar el volumen inicial, cuando la solución se encontró completamente transparente se enfría y filtra con papel Whatman No. 42, por último se afora a 50 mL con agua desionizada; este procedimiento fue realizado para cada una de las repeticiones en total se obtuvieron 24 soluciones compuestas de hoja y tallo y 24 soluciones de fruto. Las soluciones resultantes se analizaron en el CIQA en un equipo de emisión de plasma Termo Jarrel Ash Irish Advantage modelo 14034000, la concentración final de minerales presente en las muestras se calculó de acuerdo a la siguiente expresión: AOAC (1990).

$$C_x = C_s * FD * V / m$$

Donde:

C_x = Concentración del metal en la muestra ppm

C_s = Concentración del metal en la solución ppm

FD= factor de disolución

V= Volumen de la aforación de la muestra después de digerir en ml

m= masa de la muestra digerida en gramos

Calidad nutracéutica

Este parámetro en el fruto se determinó mediante la cuantificación de SOD, CAT, Ascorbato peroxidasa, glutatión, proteínas totales y licopeno. Las muestras para su determinación son fruto fresco que fue congelado a una temperatura de -20 °C posteriormente liofilizado en una consola marca LABCONCO modelo Freezone 2.5 plus las técnicas utilizadas para la cuantificación de estos parámetros de calidad son descritas a continuación:

Extracción de biomoléculas

El tejido liofilizado se maceró con mortero de mano, se tomaron 200 mg de este tejido macerado más 20 mg de polivinil pirrolidona y se colocaron en un tubo para centrifuga. Se le añadieron 1.5 mL de 0.1 M de buffer de fosfatos pH 7-7.2, se sometió a sonicación por 5 min, posteriormente se llevó a cabo una centrifugación a 12500 revoluciones por minuto (rpm) por 10 min a 4 °C, el sobrenadante fue recolectado y filtrado con una membrana de nylon (Ramos, *et al.* 2010). Finalmente se diluyó en una proporción 1:15 con buffer de fosfatos para obtener el extracto enzimático (EE).

Cuantificación de proteínas:

Se utilizará la técnica colorimétrica de Bradford (1976) para la cuantificación de proteínas. Iniciando con la construcción de una curva de calibración con albumina sérica bovina (BSA) en un rango de proteína de 100 – 300 µg/mL a una longitud de onda de 595, mediante la cual se interpolaran los resultados de las muestras de tejido vegetal. Se toman 50 µL de EE y se adicionan 1500 µL del reactivo de Bradford y se incubó durante 10 min a temperatura ambiente; posteriormente se midió en el espectrofotómetro a 595 nm.

Superóxido dismutasa (SOD)

Se cuantificó la actividad enzimática SOD del extracto de biomoléculas en microplaca, utilizando el kit para determinación de SOD (SIGMA, 19160). El principio es la cuantificación por espectrofotometría de la oxidación del colorante WST (water soluble tetrazolium salt) a WSTformazan por los iones superóxido formados mediante el conjunto xantina (XO)/xantina (X) oxidasa. La inhibición en la oxidación del WST es atribuido a la neutralización de los radicales superóxido por la SOD, las unidades se expresan en % de inhibición.

Catalasa (cat).

La actividad de la catalasa fue cuantificada mediante espectrofotometría. Se llevó a cabo midiendo dos tiempos de reacción, tiempo 0 (T0) y tiempo 1 (T1). La

mezcla de reacción para el blanco se preparó con 0.1 mL del extracto de biomoléculas, 1 mL de buffer de fosfatos pH 7.2 y 0.4 mL de H₂SO₄ al 5 %. La mezcla de reacción para el T0 se preparó agregando 0.1 mL de extracto de biomoléculas, 1 mL de H₂O₂ 100 mM e inmediatamente después se añadieron 0.5 mL de H₂SO₄ al 5 %, del mismo modo se hizo para el T1, sólo que el ácido se agregó después de 1 minuto de reacción entre el extracto y el peróxido. La reacción se efectuó a una temperatura de 20 °C con agitación constante. Finalmente se leyó a 270 nm en el espectro de UV-VIS el consumo del H₂O₂. Las unidades de la actividad (UI) fueron expresadas en mM de H₂O₂ min⁻¹ / proteínas totales (Dhindsa *et al.*, 1981).

Ascorbato peroxidasa (APX)

Se utilizó la técnica de Nakano y Asada (1987), agregando en un tubo para centrífuga 0.1 mL del extracto de biomoléculas, 0.5 mL de ascorbato a 10 mg·L⁻¹ de concentración y 1 mL 100 mM de H₂O₂, a una temperatura de 22 °C, después de 1 min la reacción fue detenida con 0.4 mL de H₂SO₄ al 5 %. Se cuantificó por espectrofotometría la tasa de consumo del ascorbato a 266 nm. Las unidades de la actividad (UI) fueron expresadas en mM de ascorbato min⁻¹ / proteínas totales

Glutación (glu)

Se realizó colorimétricamente mediante la reacción con 5,5 ditio-bis-2-ácido nitrobenzoico (DTNB). Se colocan en un tubo de ensayo 0.48 mL del EE y se le agregan 2.2 mL de fosfato dibásico de sodio (Na₂HPO₄ 0.32 M) más 0.32 mL del colorante DTNB (1 mM). Se mezcla perfectamente y se lee en el espectrofotómetro UV-VIS a 412 nm (Xu *et al.* 2001) la absorbancia obtenida fue interpolada en la curva de calibración previamente estandarizada con glutación reducido.

Licopeno

Se pesaron 3 g de pericarpio del fruto de sandía fresca y se muelen en un mortero congelado con 3 ml de buffer fosfatos (pH 7), de la mezcla se colocaron 2 ml en

tubos de centrífuga, se agregan 4 ml de la mezcla hexano-acetona (3:2), se agita la mezcla para separar y disolver los pigmentos de las membranas y se centrifuga a 3,000 rpm por 10 min para la separación de fases; posteriormente se extrajo la fase coloreada y se midió la absorbancia a 502 nm en el espectrofotómetro. El contenido de licopeno se calculó con la fórmula siguiente (Fish *et al.*, 2002):

$$\text{Licopeno } (\mu\text{g. g}^{-1}) = A_{502} * [1/320]^4$$

Análisis de datos

Los datos se analizaron en el paquete Statistical Analysis System (SAS) versión 9.4, para determinar las diferencias estadísticas entre los tratamientos se efectuó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Agronómicas

En el Cuadro 2 se presenta el efecto de los factores por separado del factor injerto en sandía, el cual mostró diferencias significativas en los tratamientos para las variables de longitud de guía con un aumento del 20% y 17% en diámetro de tallo siendo similares a los reportados por Bekhradi y colaboradores (2011) quienes observaron un mejor desarrollo vegetativo en plantas de sandía injertadas sobre aquellas que se utilizaron como control y sin injertar, por otra parte Rivero y colaboradores (2003) argumentan que las plantas injertadas se desarrollan mejor debido a que tienen una mayor capacidad de obtener nutrientes y agua del suelo. Por otra parte, López y colaboradores (2004) observaron un aumento en el crecimiento tanto en tallo como en longitud de guía en las plantas injertadas, además encontraron que éste repercute en el desarrollo vegetativo; de igual manera se encontró que las plantas injertadas superan estadísticamente a aquellos tratamientos sin injerto aumentando un 25% el peso fresco, un 7% el peso seco, 15% longitud de raíz y 39% el área foliar específica, lo que nos señala claramente que las plantas injertadas tienen un porte mucho mayor respecto a las plantas sin injerto, esto se debe al vigor conferido por parte del patrón a la planta según Mohamed y colaboradores (2014), algo similar fue observado por Hernández y colaboradores (2014), en la evaluación de portainjertos para el pepino donde describen una mayor producción en biomasa aérea y radicular con el uso de injertos. En contraste la plantas con injerto presentaron una conductancia 17% inferior a aquellas sin injertar, (Taylor *et al.*, 2012) reportando que la conductancia estomática se puede ver influenciada por el número y tamaño de estomas. Por otra parte la aplicación de Cs-PVA-nCu mostró diferencia significativa respecto al testigo sin aplicación para las variables longitud de guía y raíz mejorando su desarrollo en un 8% y 14% en comparación con el testigo, Méndez y colaboradores (2016), mencionan que el empleo de materiales nanométricos son capaces de estimular el crecimiento vegetativo de algunos cultivos ya que favorecen la actividad antioxidante en la planta, además

en algunos casos pueden actuar como elicitores lo que conlleva a un mejor desarrollo, el efecto positivo en el crecimiento de la raíz puede estar relacionado con una mejor eficiencia de las NPs de cobre sobre el metabolismo primario de la planta como lo refieren Vincekovic y colaboradores (2016). Así mismo en los tratamientos donde se aplicaron sólo hidrogeles de Cs-PVA también muestran una diferencia estadística aumentando el desarrollo de guía en un 7% respecto al testigo en el que no se hizo aplicación alguna. Falcón y colaboradores (2012), refieren que el Cs en algunos cultivos tiene efectos positivos en el crecimiento, el cual está vinculado a un proceso de defensa estimulado por la aplicación del Cs aunque mencionan que no se comprende completamente la relación de los inductores de defensa y el metabolismo primario causado por la aplicación de este biopolímero. El uso de Cs-PVA-nCu no afectó el diámetro de tallo, peso seco, peso fresco, área foliar específica ni conductancia estomática de las plantas.

Cuadro 2. Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la longitud de raíz (LG), diámetro de tallo (DT), peso seco (PS), peso fresco (PF), área foliar (AF) y conductancia estomática (CE) en plantas de sandía variedad jubilee.

Tratamiento		LG (m)	DT (mm)	PS (g)	PF (g)	LR (cm)	AF (cm ² ·g ⁻¹)	CE (m ² ·s ⁻¹)
1	Injerto	3.08 a	11.25a	75.72 ^a	5.43a	30.67a	206.60a	840.13b
	Sin injerto	2.47b	9.43b	56.95b	5.13b	25.92b	127.00b	1007.8a
2	Cs-PVA-nCu	2.85 a	10.77	70.16	5.36	30.00a	174.34	919.31
	Hidrogel Cs-PVA	2.82 a	10.18	65.00	5.35	29.00ab	167.32	918.51
	Sin aplicación	2.65b	10.06	63.83	5.13	25.87b	158.80	934.16
ANOVA	Injerto	0.001	0.001	0.049	0.0015	0.0015	0.0010	0.0027
	NPs de Cu	0.001	NS	NS	NS	0.001	NS	NS
	CV	7.78	6.24	6.66	10.97	15.36	12.70	12.70

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, NPs de Cu = nanopartículas de cobre en hidrogel de quitosán.

El efecto combinado de los factores 1 y 2 se presentan en el cuadro 3, donde se encontró que para las variables PS, PF, CE parece no tener efecto la interacción de los factores ya que no se encontró alguna diferencia significativa al combinarlos pero si para la variable LG donde los mejores resultados fueron plantas con injerto también el DT y AF se vieron favorecidos al utilizar plantas injertadas con y sin NPs de cobre en hidrogeles de quitosán. En general se observa que las plantas injertadas mejoran la respuesta para la mayoría de las variables evaluadas excepto CE donde tiende a disminuir el valor.

Cuadro 3. Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la longitud de raíz (LG), diámetro de tallo (DT), peso seco (PS), peso fresco (PF), área foliar (AF) y conductancia estomática (CE) en plantas de sandía variedad jubilee.

Tratamientos	LG (m)	DT (mm)	PS (g)	PF (g)	LR (cm)	AF (cm ² ·g ⁻¹)	CE (m ² s ⁻¹)
CI-Cs-PVA-nCu	3.11 a	12.00a	5.56	72.33	31.00ab	221.22a	840.43
CI-Cs-PVA	3.13 a	10.75ab	5.57	79.50	32.75 a	195.63ab	858.60
CI-Sin aplicación	3.00a	11.00a	5.18	75.33	28.25ab	203.10a	821.35
SI-Cs-PVA-nCu	2.590b	9.55bc	5.14	57.68	27.00ab	127.46c	998.20
SI- Cs-PVA	2.52bc	9.62bc	5.16	60.83	27.25ab	139.01bc	978.43
SI-Sin aplicación	2.30c	9.12c	5.09	53.33	23.50b	114.50c	1046.98
ANOVA	0.0001	0.0002	NS	NS	0.048	0.0001	NS
CV	3.70	5.76	6.84	19.25	11.54	15.12	14.56

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, CI=Con injerto, SI = Sin injerto.

Variables Micromorfológicas

Respecto a las características micromorfológicas de las plantas de sandía (Cuadros 4 y 5) se encontraron diferencias significativas entre plantas injertadas y no injertadas donde la DE disminuyó un 18% en la parte adaxial y un 9% en la zona abaxial con el uso de injerto, con respecto al IE se encontró una disminución del 19% en parte adaxial de la hoja no así en la área abaxial (Figura 3), también se observó que el injerto influye significativamente en el área de los vasos de xilema donde el injerto incremento un 18% el área transversal (Muneer *et al.*,2015) revela en su estudio proteómico de las conexiones vasculares del injerto en sandia que en el punto de unión entre el injerto y la variedad existe un gran número de proteínas que pueden formar fuertes conexiones entre los dos diferentes organismos durante el proceso de curación para proporcionar tolerancia al estrés y que modifican las características de los haces de xilema en la planta resultante.

Por otro lado el resto de las variables evaluadas LE y AE no sufrieron cambio alguno con la utilización del injerto, los datos obtenidos coinciden plenamente con los publicados por Peralta y colaboradores (2016), quienes estudiaron el efecto del injerto en pepino sobre la densidad y el índice estomático y encontraron que existe una disminución en ambas variables y la atribuyen al efecto del injerto. Respecto a la aplicación de Cs-PVA-nCu (Cuadros 4 y 5) solo se encontró un efecto favorable del 7% para la variable ancho del estoma en la parte adaxial de las hojas con el uso de NPs de cobre; esta variación puede deberse a la activación de genes involucrados en la respuesta ante el estrés por el cobre que desencadena la modificación de procesos bioquímicos y fisiológicos (Li, *et al.* 2009).

Cuadro 4. Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la densidad estomática (DE), índice estomático (IE), longitud del estoma (LE) y ancho del estoma (AE) en la zona adaxial de las hojas.

	Tratamientos	Adaxial			
		DE (Núm* mm ⁻²)	IE (%)	LE mμ	AE mμ ²
1	Injerto	228.5b	17.00b	23.6	13.27 a
	Sin injerto	278.9 a	20.80 a	22.9	13.34 a
2	Cs-PVA-n Cu	262.18	19.48	23.70	13.83 a
	Hidrogel Cs-PVA	257.77	19.09	23.12	13.13ab
	Sin aplicación	245.37	17.99	22.90	12.94 b
ANOVA	Injerto	0.0001	0.0001	NS	NS
	NPs de Cu	NS	NS	NS	0.039
	CV	7.87	6.85	6.03	5.02

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, NPs de Cu = nanopartículas de cobre en hidrogel de quitosán.

Cuadro 5. Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la densidad estomática (DE), índice estomático (IE), longitud del estoma (LE), ancho del estoma (AE) en lo zona abaxial de las hojas; así como el número de vasos basculares (NV) y el área de vasos vasculares (AV) del xilema.

	Tratamientos	Abaxial				Haces vasculares	
		DE (Núm.mm ⁻²)	IE (%)	LE mμ	AE mμ ²	NV	AV mμ ²
1	Injerto	242 b	30.42	21.54	13.26	7.86	130.67 a
	Sin injerto	265 a	28.97	21.13	13.50	7.94	107.70 b
2	Cs-PVA-nCu	250.42	28.28	21.67	13.40	7.16	112.27
	Hidrogel Cs-VA	252.10	29.84	21.21	13.25	8.08	129.55
	Sin aplicación	258.82	30.97	21.06	13.49	8.45	115.74
ANOVA	Injerto	0.023	NS	NS	NS	NS	0.047
	NPs de Cu	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	CV	14.95	9.14	3.7	5.32	13.07	22.09

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, NPs de Cu = nanopartículas de cobre en hidrogel de quitosán.

La respuesta de las variables ante la combinación de los factores es presentada en los cuadros 6 y 7 donde los mejores tratamientos son plantas sin injerto con aplicación de hidrogel Cs-PVA así como plantas sin injerto y sin aplicación alguna ya que registraron los valores más altos para DE e IE, esta respuesta sólo se observó en la zona adaxial de las hojas. Igualmente el tratamiento SI- Cs-PVA mejora el ancho de estoma en un 5%.

Cuadro 6. Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la densidad estomática (DE), índice estomático (IE), longitud del estoma (LE) y ancho del estoma (AE) en la zona adaxial de las hojas.

Tratamientos	Adaxial			
	DE (Núm. mm ⁻²)	IE (%)	LE mμ	AE mμ ²
CI-Cs-PVA-nCu	222.85b	16.18c	24.18	12.82ab
CI-Cs-PVA	225.21b	17.19bc	22.27	13.47ab
CI-Sin aplicación	238.65ab	17.51bc	24.07	13.49ab
SI-Cs-PVA-nCu	268.90ab	19.79ab	23.22	13.05ab
SI- Cs-PVA	282.35 a	21.00a	23.78	14.19a
SI-Sin aplicación	285.71 a	21.45a	21.73	12.78b
ANOVA	0.0010	0.0002	NS	0.040
CV	8.29	7.27	4.94	4.55

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, CI=Con injerto, SI = Sin injerto.

Cuadro 7. Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la densidad estomática (DE), índice estomático (IE), longitud del estoma (LE), ancho del estoma (AE) en la zona abaxial de las hojas; así como el número de vasos basculares (NV) y el área de vasos (AV) del xilema.

Tratamientos	Abaxial				Haces vasculares	
	DE (Núm.mm ⁻²)	IE (%)	LE mμ	AE mμ ²	NV	AV mμ ²
CI-Cs-PVA-nCu	242	28.20	21.37	13.65	6.58	117.66
CI-Cs-PVA	242	31.20	21.14	12.97	8.58	148.04
CI-Sin aplicación	242	31.85	20.68	13.16	8.41	126.31
SI-Cs-PVA-nCu	258	28.35	21.98	13.15	7.75	106.98
SI- Cs-PVA	262	28.47	21.28	13.53	7.58	111,05
SI-Sin aplicación	275	30.10	21.25	13.83	8.50	105.17
ANOVA	NS	NS	NS	SN	SN	SN
CV	15.81	9.39	3.90	5.09	11.9	22.81

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, CI=Con injerto, SI = Sin injerto.

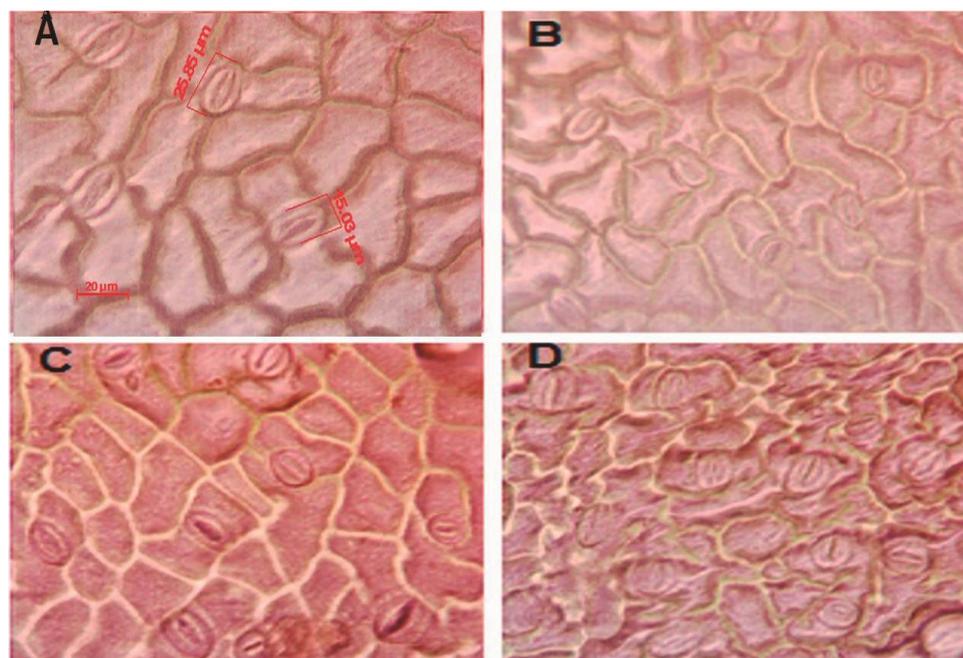


Figura 3. Distribución y tamaño de estomas, (A) y (B) parte adaxial con y sin injerto, (C) y (D) zona abaxial con y sin injerto en plantas de sandía tratadas con Cs-PVA-n Cu. Barra 20μm.

Calidad comercial

Tanto los °Brix como el pH se vieron influenciados por el efecto del injerto (Cuadro 8). Los frutos de sandía registraron un incremento de estos parámetros en un 21% y 11% respectivamente los resultados son consistentes con los reportados por Candir y colaboradores (2013) aunque también hace mención que estos parámetros pueden verse influenciados negativamente dependiendo del tipo de patrón que se utilice (Yao *et al.* 2003; Davis and Perkins-Veazie 2005). Esto debe ser tomado en cuenta ya que es un factor muy importante al momento de seleccionar el portainjerto que utilizaremos el hecho de hacer una mala selección del portainjerto podríamos tener un resultado indeseable en la calidad de frutos que obtengamos, por otra parte en el factor 2 no se encontró diferencia significativa entre la aplicación de tratamientos.

Cuadro 8. Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la cantidad de sólidos solubles totales (SST) y pH de los frutos de sandía variedad jubilee.

Tratamientos		SST	pH
1	Injerto	5.11 a	5.54 a
	Sin injerto	4.07 b	4.98 b
2	Cs-PVA-Cu	4.38	5.13
	Hidrogel Cs-VA	4.47	5.33
	Sin aplicación	4.92	5.31
ANOVA	Injerto	0.029	0.028
	NPs de Cu	NS	NS
	CV	23.31	10.85

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, NPs de Cu = nanopartículas de cobre en hidrogel de quitosán.

En las figuras 4 y 5 se presenta el efecto combinado de los factores 1 y 2 sobre el pH y la concentración de sólidos solubles totales (SST) del fruto de sandía variedad jubilee, Se encontró que la combinación entre el injerto y la aplicación de NPs de cobre en hidrogeles de quitosán fue el mejor en el contenido de fruto en el pH, mientras que no se encontró diferencia significativa para la variable de °Brix.

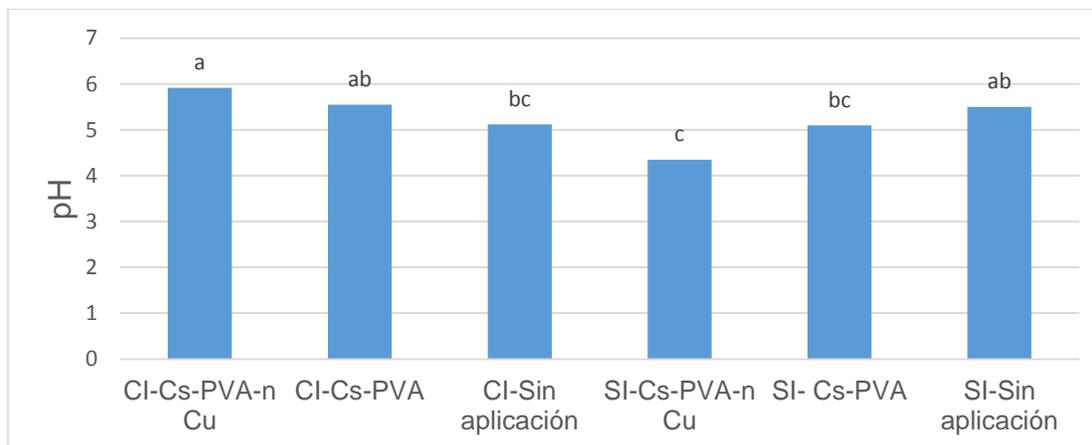


Figura 4 Efecto de la interacción entre injerto y sin injerto (CI, SI) y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre el pH del fruto de sandía variedad jubilee.

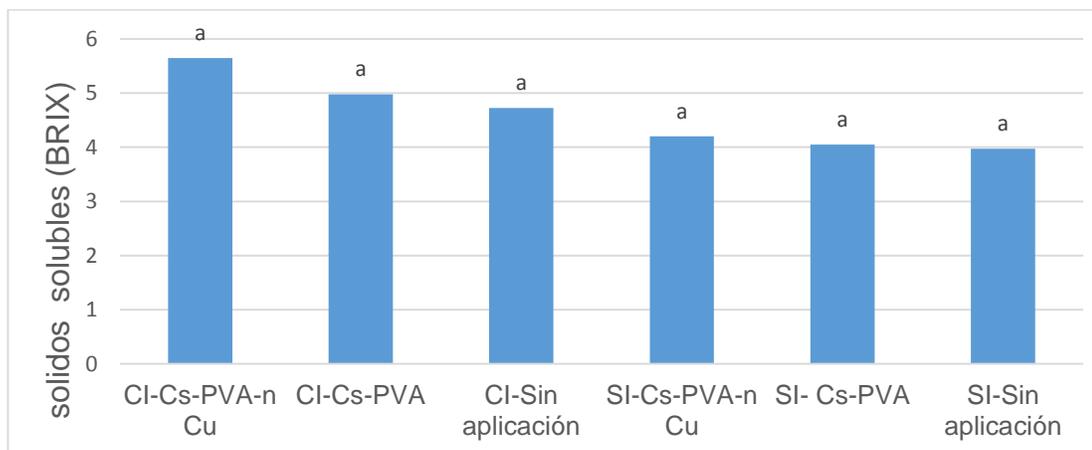


Figura 5 Efecto de la interacción injerto y sin injerto (CI, SI) y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) del fruto de sandía variedad jubilee.

Contenido mineral

Los resultados del estudio para determinar la concertación mineral en hojas, tallo y fruto son mostrados en los Cuadros 9 y 10. Se encontró una influencia positiva del injerto en la asimilación de algunos elementos minerales tanto en la parte vegetativa como la pulpa del fruto. Se encontró que el factor injerto incrementa la concertación de calcio y magnesio en un 22% y 21% respectivamente esto en la parte de hojas y tallo de la planta y en el fruto se registró un aumento del 18% en calcio, 38% en Zinc y 40% para el sodio. Resultados similares han sido observados en estudios previos comparando plantas injertadas y no injertadas de sandía (Rouphael, *et al.* 2008) se cree que un mayor flujo de estos iones incrementa la capacidad de asimilación de energía y su transformación en biomasa en plantas injertas (Davis *et al.*, 2008), especialmente el calcio juega un papel crucial debido a que este mineral es un señalizador nato en muchos sistemas vegetativos (Zhu *et al.*, 2007) lo que le permite a la planta una mejor adaptabilidad a condiciones adversas del medio como pueden ser escases de agua, salinidad o altas temperaturas. Lo anterior, permite saber porqué las plantas injertadas se desarrollan con mayor vigor en comparación con aquellas sin injertar. (Sun *et al.*, 2002). Por otra parte la aplicación de Cs-PVA-nCu, no se registró diferencia en la concertación de minerales en la parte aérea de la planta solo se encontró una aumento del 56% en zinc en el fruto (Cuadro 10) algunos autores como Nhan y colaboradores (2014) sugieren que el efecto de las NPs sobre la asimilación de minerales por las plantas dependerá directamente de la concentración y el tipo de NPs empleadas. Es importante mencionar que este efecto es favorable para la salud del consumidor ya que el zinc juega un papel crucial en un gran número de funciones catalíticas, estructurales y reguladoras. (Krebs, 2000).

Cuadro 9. Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en la concentración de minerales presentes en hoja y tallo de sandía variedad jubilee.

Hoja y tallo		Macronutrientes (mg·g ⁻¹)			Micronutrientes (mg·g ⁻¹)		
Tratamientos		K	Ca	Mg	Fe	Zn	Na
1	Injerto	9.67	12.86 a	1.49 a	0.19	0.04	0.43
	Sin injerto	10.16	10.08b	1.18 b	0.18	0.042	0.41
	Cs-PVA-Cu	10.05	10.91	1.41	0.18	0.042	0.44
	Hidrogel Cs-VA	10.68	11.24	1.37	0.20	0.043	0.48
2	Sin aplicación	9.01	12.27	1.22	0.18	0.042	0.39
	Injerto	NS	0.006	0.030	NS	NS	NS
	NPs de Cu	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ANOVA	CV	17.81	14.01	22.81	15.88	28.26	23.15

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación,, NPs de Cu = nanopartículas de cobre en hidrogel de quitosán.

Cuadro 10. Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en la concentración de minerales presentes en fruto de sandía variedad jubilee.

FRUTO		Macronutrientes (mg·g ⁻¹)			Micronutrientes (mg·g ⁻¹)		
Tratamientos		K	Ca	Mg	Fe	Zn	Na
1	Injerto	8.84	3.72 a	0.43	0.06	0.008 a	0.35 a
	Sin injerto	8.42	3.04 b	0.42	0.05	0.005b	0.21 b
	Cs-PVA-Cu	10.21	3.17	0.42	0.07	0.009a	0.34
	HidrogelCs-PVA	7.57	2.98	0.39	0.05	0.007ab	0.26
2	Sin aplicación	8.12	3.65	0.40	0.04	0.004b	0.25
	Injerto	NS	0.02	NS	NS	0.032	0.0008
	NPs de Cu	NS	NS	NS	NS	0.031	NS
ANOVA	CV	25.29	19.87	29.0	23.9	21.6	30.49

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$).NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, NPs de Cu = nanopartículas de cobre en hidrogel de quitosán.

El efecto combinado de los factores 1 y 2 sobre la concertación de macro y micro nutrientes en tallo, hoja y fruto se presenta en los cuadros 10 y 11. Se encontró que la combinación entre injerto y sin aplicación fue el mejor en el contenido de calcio y magnesio en hojas y tallos, en el caso del fruto los mejores tratamientos fueron plantas injertadas y con aplicación de hidrogel Cs-PVA-nCu aumentando la concentración de potasio, calcio y zinc también se identificó que las plantas sin injerto y con Cs-PVA-n Cu tenían una mayor cantidad de sodio en la pulpa del fruto. Para el resto de los elementos minerales estudiados no se encontró diferencia significativa en la combinación de los tratamientos.

Cuadro 11. Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en la concentración de minerales presentes en hoja, tallo de sandía variedad jubilee.

Hoja y tallo Tratamientos	Macronutrientes (mg·g ⁻¹)			Micronutrientes (mg·g ⁻¹)		
	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Na
CI-Cs-PVA-nCu	9.13	11.59abc	1.39ab	0.16	0.032	0.34
CI-Cs-PVA	10.29	13.09 ab	1.49 a	0.19	0.041	0.48
CI-Sin aplicación	9.41	13.99 a	1.59 a	0.20	0.053	0.46
SI-Cs-PVA-nCu	10.80	10.32 bc	1.44 ab	0.17	0.047	0.33
SI- Cs-PVA	11.06	9.39 c	1.26 ab	0.21	0.044	0.48
SI-Sin aplicación	8.62	10.55abc	0.85 b	0.16	0.044	0.40
ANOVA	NS	0.008	0.032	NS	NS	NS
CV	17.96	13.56	20.28	14.85	22.22	36.5

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, CI=Con injerto, SI = Sin injerto.

Cuadro 12. Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación en la concentración de minerales presentes en el fruto de sandía variedad jubilee.

FRUTO Tratamientos	Macronutrientes (mg·g ⁻¹)			Micronutrientes (mg·g ⁻¹)		
	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Na
CI-Cs-PVA-nCu	11.92a	3.87 a	0.38	0.052	0.012 a	0.25ab
CI-Cs-PVA	7.75 b	3.00ab	0.42	0.039	0.009ab	0.20b
CI-Sin aplicación	7.96ab	3.03ab	0.36	0.044	0.006 b	0.18b
SI-Cs-PVA-nCu	8.43ab	3.00ab	0.34	0.051	0.0065b	0.43 a
SI- Cs-PVA	8.88ab	2.80ab	0.41	0.042	0.052b	0.31ab
SI-Sin aplicación	8.29ab	2.31b	0.40	0.049	0.051b	0.32ab
ANOVA	0.02	0.002	NS	NS	0.028	0.04
CV	21.33	18.97	27.00	21.09	25.1	31.92

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, CI=Con injerto, SI = Sin injerto.

Calidad nutracéutica

Respecto al análisis bromatológico realizado en el fruto de sandía se encontró que el factor injerto incrementa la concentración de proteínas totales al igual que la cantidad de licopeno (Cuadro 13). Algunas investigaciones como la realizada por Kong y colaboradores (2017) concluyen que los portainjertos pueden incrementar la acumulación de licopeno a nivel trascricional ya que en algunos casos es capaz de estimular en etapas tempranas de la ruta biocinética los genes involucrados en la biosíntesis del licopeno mientras que en otros casos estimulan la acumulación en el fruto mediante la regulación negativa de genes involucrados en la degradación del carotenoide. Es importante mencionar que existen trabajos que no han encontrado diferencia alguna con el uso de injerto sobre el contenido de licopeno en sandía (Turhan *et al.*, 2012) o en algunos otros casos en los que se ha encontrado una disminución en la concentración del pigmento (Soteriou, *et al.* 2014) esta discusión ha traído como consecuencia que la técnica de injerto no sea completamente aceptada por los productores por tal razón es crucial una vez

más tener conocimiento pleno del patrón y la variedad con la que se estará trabajando con la finalidad de obtener los mejores resultados posibles. Por otra parte el incremento en el contenido de proteínas totales presente en el fruto de plantas injertadas encontramos estudios que hablan de la modificación sobre el perfil transicional en estas plantas y como este les permite una mejor respuesta ante situaciones de estrés provenientes del medio ambiente, Xu y colaboradores (2016) mencionan también que el porta injerto estimula un gran número de genes relacionados con la respuesta al estrés. Respecto al efecto de la aplicación de los tratamientos con nanopartículas de cobre e hidrogel de Cs-PVA no se encontró una diferencia estadística significativa para las variables evaluadas estos resultados no coincide con algunos autores quienes han reportado un efecto favorable en la concentración de antioxidantes en los frutos con la utilización de NPs (Karami *et al.*, 2015).

Cuadro 13. Efecto de los factores injerto y la aplicación de Cs-PVA-n Cu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la cantidad de proteínas totales (mg·L⁻¹), SOD: superóxido dismutasa (%), Cat: actividad de la enzima catalasa (mM de H₂O₂* min⁻¹ *proteínas totales [mg·g⁻¹]) Apx: Ascorbato peroxidasa (μmol de ascorbato oxidado·min⁻¹·mg⁻¹·proteínas⁻¹). Glu: glutatión (U/mg de proteínas) el contenido de licopeno. (μg·g⁻¹) de los frutos de sandía variedad jubilee.

Tratamientos		Proteínas	SOD	Cat	Apx	Glu	Licopeno
1	Injerto	621.20 a	70.97	40.63	3.77	109.00	0.011
	Sin injerto	518.70b	69.40	44.54	3.62	92.37	0.010
2	Cs-PVA-Cu	578.95	72.09	41.05	3.67	105.44	0.010
	Hidrogel Cs-VA	576.95	69.67	41.64	3.59	116.19	0.010
	Sin aplicación	553.95	68.80	45.20	3.83	80.42	0.010
3	Injerto	0.0005	NS	NS	NS	NS	0.004
	NPs de Cu	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	CV	10.37	13.32	13.63	13.18	35.65	2.9

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, NPs de Cu = nanopartículas de cobre en hidrogel de quitosán.

A pesar de que en la interacción de los tratamientos sobre la capacidad nutracéutica del fruto de sandía (Cuadro 14) no hubo diferencias significativas entre las variables evaluadas, si existe una diferencia numérica en la combinación entre plantas injertadas y con la aplicación de las NPs de cobre para el contenido de proteínas totales, glutatión y para el licopeno. Lo que nos habla de que posiblemente al realizar una aplicación con una concentración distinta de NPs de cobre pudiéramos estimular una mejor respuesta (Lavicoli *et al.*, 2014).

Cuadro 14. Efecto de la interacción entre injerto y la aplicación de Cs-PVA-nCu, Hidrogel Cs-PVA y sin aplicación sobre la cantidad de proteínas totales (mg·L⁻¹), SOD: superóxido dismutasa (%), Cat: actividad de la enzima catalasa (mM de H₂O₂* min⁻¹ *proteínas totales [mg·g⁻¹]) Apx: Ascorbato peroxidasa (μmol de ascorbato oxidado* min⁻¹*mg⁻¹* proteínas⁻¹). Glu: glutatión (U/mg de proteínas) y el contenido de licopeno. (μg·g⁻¹) de los frutos de sandía variedad jubilee.

Tratamientos	Proteínas	SOD	Cat	Apx	Glu	Licopeno
CI-Cs-PVA-nCu	639.20	74.16	38.48	3.52	107.41	0.011
CI-Cs-PVA	623.30	70.62	38.35	3.68	105.40	0.011
CI-Sin aplicación	601.20	70.03	45.14	4.12	94.18	0.010
SI-Cs-PVA-nCu	518.70	69.47	43.62	3.82	103.47	0.010
SI- Cs-PVA	530.70	68.72	44.92	3.49	106.97	0.010
SI-Sin aplicación	506.70	68.12	45.09	3.53	86.66	0.010
ANOVA	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV	10.95	14.04	13.89	12.58	19.05	3.00

Medias con distintas literales son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). NS = no significativo, ANOVA= análisis de variación CV = coeficiente de variación, CI=Con injerto, SI = Sin injerto.

CONCLUSIONES

El uso del injerto en el cultivo de la sandía modifica la micromorfología foliar ya que se disminuyó la DE y el IE en un 18% y 9%, respectivamente y aumento un 18% el área transversal de los vasos de xilema, además repercute favorablemente en el crecimiento del cultivo mediante el incremento de la longitud de guía en un 20%, diámetros de tallo 17%, peso fresco 25%, peso seco 7%, longitud de raíz 15% y área foliar específica un 39%, las modificaciones producidas por el uso de injerto modifica de manera favorable tanto el desarrollo de las plantas como el de los frutos, les permite ser más eficientes en la asimilación de agua y nutrientes ya que de igual manera incremento un 22% la acumulación de calcio y un 21% en magnesio en la parte aérea de la planta y en los frutos el injerto mejora la cantidad de °Brix y el pH así como el contenido de calcio, magnesio, zinc, proteínas y licopeno.

La aplicación de Cs-PVA-nCu y del hidrogel de Cs-PVA estimulan el incremento en longitud de guía, longitud de raíz y el AE en la cara abaxial de la hoja respecto a los frutos sólo incremento la acumulación de Zn.

La interacción entre injerto y aplicaciones de Cs-PVA-nCu tuvieron los mejores resultados en longitud de guía, diámetro de tallo, longitud de raíz, área foliar específica así como en la asimilación de minerales como el potasio, calcio, magnesio y zinc a pesar de que no se encontró una diferencia estadística para la calidad nutracéutica la diferencia numérica es superior en el contenido de proteínas, glutatión y licopeno, antioxidantes de gran importancia para la salud humana.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC, (1990) Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Arlington, Virginia, USA.
- Bekhradi, F., Kashi, A., Delshad, M. (2011). Effect of three cucurbits rootstocks on vegetative and yield of 'Charleston Gray' watermelon, J. Plant Prod. 5(2): 105-110.
- Bhattacharyya, A., Bhaumik, A., Usha, R. P., Mandal, S., Epani, T. (2010). Nano-particles: a recent approach to insect pest control. Afr J Biotechnol 9(24):3489–3493.
- Bisognin, D.A. (2002). Origin and evolution of cultivated cucurbits, Cienc. Rural vol.32 no.4, DOI:.org/10.1590/S0103-84782002000400028.
- Bradford, M.M. (1976). A Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.
- Camacho, F., Ricárdez, M., Huitrón, M.V. (2011). Watermelon and melon grafting in Colima, México as an alternative to soil disinfection with methyl bromide, Acta Hort. 898:265-269.
- Candir, E., Yetişir, H., Karaca, F., Üstün, D. (2013). Phytochemical characteristics of grafted watermelon on different bottle gourds (*Lagenaria siceraria*) collected from the Mediterranean region of Turkey, Turk J Agric for 37: 443-456.
- Cañizares A., Sanabria M.E., Rodríguez D.A. y Perozo Y. (2003). Características de los estomas, índice y densidad estomática de las hojas de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertada sobre ocho patrones cítricos. Revista Científica UDO Agrícola 3:59-64.
- Colla, G., Roupshel, Y., Cardarelli, M., Massa, D., Salerno, A. and Rea, E. (2006). Yield, fruit quality and mineral composition of grafted melon plants grown under saline conditions. J. Hort. Sci. & Biotechnol. 81: 146-152.
- Da Costa, M.V.J. & Sharma, P.K. (2016). Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*, Photosynthetica 54: 110. DOI: 10.1007/s11099-015-0167-5.
- Davis, A.R., Perkins-Veazie, P., Sakata, Y., Lopez-Galarza, S, Maroto, J.V., Lee S.G., Huh, Z.Y. Sun, Y.C., Miguel, A., King, S.R., Cohen, R., Lee, J.M. (2008). Cucurbit grafting, Crit Rev Plant Sci, 27: 50–74.
- Davis, A.R, Perkins-Veazie, P. (2005) Rootstock effects on plant vigor and watermelon fruit quality. Cucurbit Genet Coop Rep 28: 39–42.

- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P., Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp. Bot.* 32: 93-101.
- Edelstein, M. (2004). Grafting vegetable-crop plants: Pros and cons. *Acta Hort.* 659: 235-238.
- Epstein, E., Bloom. And A.J. (2005). Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Falcón, R. A. B., Gordon, T. A., Costales, M., D. y Martínez, T. M. A. (2012). Respuesta enzimática y de crecimiento en una variedad comercial de tabaco (*Nicotiana tabacum*, L.) Tratada por aspersión foliar de un polímero de quitosana. *Cultivos Tropicales*, 33(1), 65-70. ISSN 1819-4087.
- FAOSTAT. 2014. 12 Marzo. (2017). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>.
- Fish, W. W., Perkins-Veazie, P., Collins, J. K. (2002). A Quantitative Assay for Lycopene That Utilizes Reduced Volumes of Organic Solvents. *Journal of Food Composition and Analysis* 15(3): 309-317.
- Fraceto, L. F., Grillo, R., de Medeiros, G. A., Scognamiglio, V., Rea, G. & Bartolucci, C. (2016). Nanotechnology in Agriculture: Which Innovation Potential Does It Have? *Frontiers in Environmental Science*, 4. <https://DOI.org/10.3389/fenvs.2016.00020>.
- Fu, P.P., XIA, Q., Hwang, H.M., Ray, P.C., Yu, H. (2014). Mechanisms of anotoxicity: generation of reactive oxygen species. *J. Food Drug Anal.* 22: 64-75.
- Gholap, S. G., Jog, J. P. and Badiger, M. V. (2004). "Synthesis and characterization of hydrophobically modified poly (vinyl alcohol) hydrogel membrane". *Polymer* 45:5863-5873.
- Ghormade, V.; Deshpande, M. V., Paknikar, K. M. (2011). Perspectives for Nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnol. Adv.*, 29: 792-803.
- González, F.M., Hernández, A., Casanova, A., Depestre, T., Gómez, L. y Rodríguez, M. G. (2008). El injerto herbáceo: alternativa para el manejo de plagas del suelo, *Rev. Protección Veg.* Vol. 23 No. 2: 69-74
- Hassan, C., Peppas, N. (2000). Structure and applications of Poly vinyl alcohol hydrogels produced by conventional crosslinking or by freezing/thawing methods. *Adv. Polym. Sci.* 153:37-63.

- He, L., Liu, Y., Mustapha, A., & Lin, M. (2011). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research*, 166(3), 207–215. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2010.03.003>.
- He, Y., Zhu, Z., Yang, J., Ni, X., Zhu, B. (2009). Grafting increases the salt tolerance of tomato by improvement of photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity, *Environmental and Experimental Botany* 66: 270–278.
- Hernández, G. Z., Sahagún, C.J., Espinosa, R.P., Colinas, L.M.T., Rodríguez, P.E.J.E. (2014). Efecto del patrón en el rendimiento y tamaño de fruto en pepino injertado effect of rootstock on yield and fruit size in grafted cucumber, *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 37 (1): 41 – 47.
- Huitrón, R. M. V., Ricárdez, S. M., Camacho-F.F. (2009). Influence of Grafted Watermelon Plant Density on Yield and Quality in Soil Infested with Melon Necrotic Spot Virus, *HortScience* 44(7):1838–1841.
- Iavicoli, I., Fontana, L., Leso, V., Calabrese, E.J. (2014). Hormetic dose-responses in nanotechnology studies. *Science of the Total Environment* 487, 361-374. *Plant Physiol.* 160:859-863.
- Jáuregui, D. (2003). Manual práctico de Microtecnia Vegetal. Departamento de Botánica Agrícola. Laboratorio de Botánica. Facultad de Agronomía. Postgrado de Botánica Agrícola. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. 71 p.
- Karami M. S., Heidari, R. & Rahmani, F., (2015). Effect of silver nanoparticles on free amino acids content and antioxidant defense system of tomato plants, *Ind J Plant Physiol.* 20:257–263.
- Khah, E. M., Kakava, A., Mavromatis, D., Chachalis, and Goulas, G. (2006). Effect of grafting on growth and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum Mill.*) in greenhouse and open-field. *J. of App. Hort.* 8(1):3-7.
- Khan, W., Prithviraj, B., and Smith, D. (2003). Chitosan and chitin oligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase activities in soybean leaves. *Journal of Plant Physiology* 160: 859–863.
- Khot, L. R., Sankaran, S., Maja, J. M., Ehsani, R., and Schuster, E. W. (2012). Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: a review. *Crop Prot.* 35:64–70. DOI: 10.1016/j.cropro.2012.01.007.

- Kong, Q., Yuan, J., Gao, L., Liu, P., Cao, L., Huang, Y., Zhao, L, Lv H, Bie, Z. (2017). Transcriptional regulation of lycopene metabolism mediated by rootstock during the ripening of grafted watermelons, *Food Chemistry* 214: 406–411.
- Krebs, N.F.,(2000). Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J Nutr*; 130:1374S-7S.
- Kwon, Y. S. Oh, Y. H., Yi, S. I. (2010). Informative SSR markers for commercial variety discrimination in watermelon (*Citrullus lanatus*), *Genes & Genomics* 32:115-122. DOI: 10.1007/s13258-008-0674-x.
- Lee, J. (1994). Cultivation of grafted vegetables I. Current status, grafting methods and benefits. *HortScience* 29: 235-239.
- Lee, J., Kubota, C., Tsao, S.J., Bie, Z., Echevarria, P.H., Morra, L., Oda, M.(2010). Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation *Scientia Horticulturae* 127:93–105.
- Li, F., Shi, J., Shen, C., Chen, G., Hu, S., Chen, Y. (2009). Proteomic characterization of copper stress response in *Elsholtzia splendens* roots and leaves. *Plant Mol. Biol.* 71: 251-263.
- Liu, C., Zou, B., Rondinone, A. R. and Zhang, Z.J. (2000). Chemical Control of Superparamagnetic Properties of Magnesium and Cobalt Spinel Ferrite Nanoparticles through Atomic Level Magnetic Couplings, *J. Am. Chem. Soc.*, 122: 6263-6267.
- López, G. S., San Bautista, A., Pérez, D.M., Miguel, A., Baixauli, C., Pascual, B., Maroto, J.V. & Guardiola, J.L. (2004). Effects of grafting and cytokinin-induced fruit setting on colour and sugar-content traits in glasshouse-grown triploid watermelon, *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 79 (6):971–976.
- Lozinsky, V. I., Zubov, A. L., Kulakova, V. K., Titova, E. F. and Rogozhin, S. V. (1992). “Study of cryostructurization of polymer systems. IX. Poly(vinyl alcohol) cryogels filled with particles of crosslinked dextran gel”. *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 44, pp. 1423-1435.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., and Kolmakov, A. (2010). Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Sci. Total Environ.* 408:3053–3061. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.03.031.
- Martínez, N. N., Camacho, V. M. del Mar y Martínez L. J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud, *Act.Diet.12* (2):64-8 [DOI.org/10.1016/S1138-0322\(08\)75623-2](https://doi.org/10.1016/S1138-0322(08)75623-2).

- McCormick, C. L., Anderson, K. W., and Hutchison, B. H. (1982). Controlled Activity Polymers with Pendently Bound Herbicides. *Polymer Reviews* 22: 57-87.
- Méndez, A. B., Vera, R.I., Mendoza, M.E., Garcia, C. L.A., Puente U. B.A., Lira S.R.H. (2016). Growth promotion of *capsicum annum* plants by zinc oxyde nanoparticles, *Nova Scientia* ISSN 2007-0705 N° 17 vol. 8 (2) pp.140-156.
- Mohamed, F.H. Abd El-Hamed, .K.E., Elwan, M.W.M., Hussien, M.N.E. (2014). Evaluation of different grafting methods and rootstocks in watermelon grown in Egyp, *Scientia Horticulturae* 168:145–150.
- Montalván, E.C., Arias S. (2007). Manual para la producción de sandía, manual de producción programa de diversificación económica rural (USAID-RED) pp.35 consultado en <http://bvirtual.infoagro.hn> El 5 de abril del 2017.
- Mott, D., Galkowski, J., Wang, L., Luo J., and Chuan-Jian, Z. C. (2007) Synthesis of Size-Controlled and Shaped Copper Nanoparticles, *Langmuir* , 23: 5740-5745.
- Muneer,S., Ho Ko, C., Soundararajan, P., Manivnnan, A., Park, Y.G., Jeong B. R. (2015). Proteomic Study Related to Vascular Connections in Watermelon Scions Grafted onto Bottle-Gourd Rootstock under Different Light Intensities, *PLoS ONE* 10(3): e0120899 DOI:org/10.1371/journal.pone.0120899.
- Muzzarelli, R.A.A., (1993). Biochemical significance of exogenous chitins and chitosans in animals and 442 patients. *Carbohydrate Polymers*, 20(1): 7-16.
- Nakano, Y., Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiol.* 28: 131-140.
- Nel, A., Xia, T., Madler, L., Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the Nano level. *Science.* 311:622–627.
- Nge, K. L., New N., Chandkrachang, S., and Stevens, W. F. (2006). Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. *Journal of Plant Science* 170: 1185-1190.
- Nhan, V.L., Rui, Y., Gui, X., Li, X., Liu, S., Han, Y.(2014). Uptake, trans-port, distribution and Bio-effects of SiO₂ nanoparticles in Bt-transgenic cotton. *J. Nanobiotechnology* 12

- Niemeyer, C., Doz. P. (2001). Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science. *Angewandte Chemie Int Ed*; 40:4128–58.
- Oda, M. (1995). New grafting methods for fruitbearing vegetables in Japan. *Japan Agricultural Res. Qrty.* 29:187-194.
- Oskam G. (2006). Metal oxide nanoparticles: synthesis, characterization and application. *J Sol-Gel Sci Technol*; 37:161–4.
- Pastori, G.M., Foyer, C.H. (2002). Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of “redox” and abscisic-mediated controls. *Plant Physiol.* 129: 460-468.
- Patel, N., & Sinha, V. K. (2009). Synthesis, characterization and optimization of water-soluble chitosan derivatives. *International Journal of Polymeric Materials*, 58(11): 548-560.
- Peppas, N., and Lustig, S. (1985). "The Role of Crosslinks, Entanglements and Relaxations of the Macromolecular Carrier in the Diffusional Release of Biologically Active Materials: Conceptual and Scaling Relationships," *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 446: 26-41.
- Peralta, M.R.M., Cabrera, De la F. M. , Morelos, M.A., Benavides, M. A., Ramírez, G.F.y González, F.J.A. (2016). Micromorphology of cucumber obtained by grafting and developed into two fertilization systems, *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp. Núm. 17*: 3453-3463.
- Petropoulos, S.A., Khahb, E.M., Passamc, H.C. (2012). Evaluation of rootstocks for watermelon grafting with reference to plant development, yield and fruit quality, *Int. J. Plant Prod.* 6(4): 481-492.
- Pinedo, G. Z., Hernández, F. A., Ortega, O.H., Benavides, M.A., Cadenas, P.G., and Juárez, M. A. (2017). Cu Nanoparticles in Hydrogels of Chitosan-PVA Affects the Characteristics of Post-Harvest and Bioactive Compounds of Jalapeño Pepper, *Molecules*, 22, 926.
- Prasad, R., Kumar, V. and Kumar, P. K. (2014). Nanotechnology in sustainable agriculture: Present concerns and future aspects, *Afr. J. Biotechnology.* 13(6): 705-713.
- Pulgar, G., Villora, G., Moreno, D.A. and Romero, L. (2000). Improving the mineral nutrition in grafted watermelon plants: nitrogen metabolism. *Biologia Plantarum* 43: 607-609.
- Ramos, S.J., Faquin, V., Guilherme, L.R.G., Castro, E.M., Avila, F.W., Carvalho, G.S., Bastos, C.E.A., Oliveira, C. (2010). Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants feed with selenate and selenite. *Plant Soil Environ.* 12:583-587.

- Rico, C.M., Peralta-Videa, J.R., Gardea-Torresdey, J.L. (2015). Chemistry, biochemistry of nanoparticles, and their role in antioxidant defense system in plants. In *Nanotechnology and Plant Sciences*. (1-17). Springer International Publishing.
- Rivero, R.M., Ruiz, J.M., Romero, L. (2003). Role of grafting in horticulture plants under stress condition. *Food Agriculture and Environment*, 1:70-74.
- Rouphael, M., Cardarelli, G., Colla, E., Rea Yield, (2008) Mineral composition, water relations, and water use efficiency of grafted mini-watermelon plants under deficit irrigation *Hortscience*, 43:730–736.
- Ruiz, N.R.E., Guzmán, G.S. y Pérez, U.E. de J. (2011). Manejo y control de plagas del cultivo de tomate en Cintalapa, Chiapas, México, *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27 (2): 129-137.
- Saharan, V., Kumaraswamy, R.V., Choudhary, R.C., Kumari, S., Pal A., Raliya, R., Pratim Biswas, P. (2016). Cu-Chitosan Nanoparticle Mediated Sustainable Approach To Enhance Seedling Growth in Maize by Mobilizing Reserved Food, *J. Agric. Food Chem.* XXX, DOI: 10.1021/acs.jafc.6b02239.
- Scott, N., Chen, H. (2003). *Nanoscale Science and Engineering for Agriculture and Food Systems. A Report Submitted to Cooperative State Research, Education and Extension Service. USDA. National Planing Workshop, Washington.*
- Sekhon, B. S. (2014). Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnol. Sci. Appl.* 7, 31–53. DOI: 10.2147/NSA. S39406.
- Soteriou, G. A., Kyriacou, M. C., Siomos, A. S., & Gerasopoulos, D. (2014). Evolution of watermelon fruit physicochemical and phytochemical composition during ripening as affected by grafting. *Food Chemistry*, 165:282–289.
- Steiner, A. A. (1984). The universal nutrient solution. *Proceedings of the 6th International Congress on Soilless Culture International Soc. For Soilless Culture. ISOSC. Wageningen, The Netherlands.* 633-649.
- Sun, Y., Huang, W., Tian, X.H., Wu, Y., Zhou, C.T, Ding, Q. (2002). Study on growth situation, photosynthetic characteristics and nutrient absorption of grafted cucumber seedlings *Plant Nutr Fert Sci*, 8:181–185.
- Taylor, S. H.; Franks, P. J.; Hulme, S. P.; Spriggs, E.; Christin, P. A.; Edwards, E. J.; Woodward, F. and Osborne, C. P. (2012). Photosynthetic pathway and ecological adaptation explain stomatal trait diversity amongst grasses. *New Phytol.* 193 (2):387-396.

- The Royal Society (2009). Reaping the Benefits: Science and the Sustainable Intensification of Global Agriculture, London: The Royal Society.
- Tlili, I., Hdidier, C., Salvatore, L.M., Riadh, I., Jebari H., Dalessandro G. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activities of different watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld) cultivars as affected by fruit sampling area, *Journal of Food Composition and Analysis* 24:307–314
- Turhan, A., Ozmen, N., Kuscu, H., Serbeci, M. S., & Seniz, V. (2012). Influence of rootstocks on yield and fruit characteristics and quality of watermelon. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 53(4): 336–341.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2015). World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance Tables. Working Paper No. ESA/P/WP.241.
- Uzcanga, P.N.G, Cano, G.A. de J., Ramírez, S.J.H. (2015). Diagnóstico socioeconómico del cultivo de sandía en el estado de Campeche, México, *Rev. Mex. Cienc. Agríc* vol.6 no.6 Texcoco Mex.
- Vincekovic, M., Jalšenjak, N., Snježana-Topolovec, P. S., Ermi, E., Bujan, M. and Juri, S. (2016). Encapsulation of Biological and Chemical Agents for Plant Nutrition and Protection: Chitosan/Alginate Microcapsules Loaded with Copper Cations and *Trichoderma viride*, *J. Agric. Food Chem. J. Agric. Food Chem.*, 64 (43): 8073–8083.
- Vincekovic, M., Jalšenjak, N., Topolovec, P. S., Đermić, E, Bujan, M., Jurić, S. (2016). Encapsulation of Biological and Chemical Agents for Plant Nutrition and Protection: Chitosan/Alginate Microcapsules Loaded with Copper Cations and *Trichoderma viride*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, DOI: 10.1021/acs.jafc.6b02879.
- Weyers, J. D. B.; Johansen, L. G. (1985). Accurate estimation of stomatal aperture from silicone rubber impressions. *New Phytol.* 101: 109-115.
- Wilkinson, H. P., (1979). The plant surface (mainly leaf). *Anatomy of the Dicotyledons*, Oxford, Claredon Press. London. 1(2): 97-165.
- Xu J., Zhang M., Liu G. , Yang X. .Hou X.(2016). Comparative transcriptome profiling of chilling stress responsiveness in grafted watermelon seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry* 109: 561-570.
- Xue, T., Hartikainen, H., Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant Soil.* 237: 55-61.
- Yao, F.J., Huang, D.F., Xu, J.H., Zhang, H.M., Liu, Y.Q. (2003) Effects of rootstocks on growth and fruit quality of grafted watermelon. *J Shanghai Jiaotong Univ (Agricultural Science)* 21: 289–294.

Zhu, S.Y., Yu X.C., Wang, X. J., Zhao, R., Li Y., Fan, R.C., Shang, Y., Du S.Y. (2007). Two Calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate Abscisic Acid signal transduction in Arabidopsis. *The Plant Cell*. 19:3019-3036.