

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Respuesta de la Germinación y el Desarrollo de Plantas de Chile Ancho
(*Capsicum annuum* L.) a la Aplicación de Nanopartículas de Óxido de
Manganeso.

Por:

MARTÍN PEÑA GARCÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México.

Junio, 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Respuesta de la Germinación y el Desarrollo de Plantas de Chile Ancho
(*Capsicum annuum* L.) a la Aplicación de Nanopartículas de Óxido de Manganeso

Por:

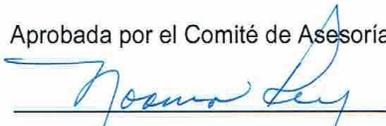
MARTÍN PEÑA GARCÍA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

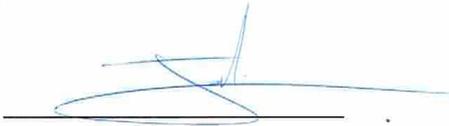
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Asesor Principal



Dr. Arturo Mancera Rico
Coasesor


Mtro. Josué Israel García López
Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México

Coordinación
de Agronomía

Junio, 2018

AGRADECIMIENTOS

A Dios. Por darme la vida y fuerzas para salir adelante en esta vida, por permitirme haber concluido mis estudios, por los logros y fracasos y darme la dicha de pertenecer a una familia ejemplar.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Por ser parte de mi formación profesional y brindarme las herramientas y los conocimientos necesarios para un buen desempeño en el ámbito laboral y social, por permitirme conocer a un sin número de amigos y de profesores. ¡Buitre por siempre!

A la Dra. Norma Angélica Ruiz Torres. Mi más grande agradecimiento por la aceptación en la asesoría de tesis, por su confianza depositada en mí, por los conocimientos compartidos y el tiempo brindado para la realización de esta investigación.

Al Dr. Arturo Mancera Rico. Por participar como coasesor en esta tesis y aportar observaciones interesantes para el mejoramiento de la misma

Al Mtro. Josué Israel García López. Por haber aportado sus comentarios y observaciones para el fortalecimiento de esta tesis.

Al Dr. Antonio Flores Naveda. Por su colaboración en la revisión del escrito y por formar parte del jurado.

A los Ing. Joel Zamorano Reyes y Antonio Eduardo Mancilla Cruz. Por brindarme su apoyo y conocimientos durante mi estancia de prácticas profesionales, brindándome su confianza y su amistad. Gracias colegas.

A mis Primas. Quienes siempre han estado apoyándome con su entusiasmo, estando en las buenas y en las malas.

A mis Amigos. *Por su motivación y compañía en el trayecto de mi carrera en todos los momentos creando un fuerte lazo de amistad, en especial: Adán, Ángel, Isaac, Elver, Héctor, Edwin, José Luis, Erick, Carlos, Nancy, Blanca, Citally, Gerardo, Claudia, Rosario, Gines, Ricardo, Estabary, Eriberto, Octavio.*

A mis Amigos del Acuario. *Con los cuales compartí momentos inolvidables siempre apoyándonos en las buenas y en las malas, con los cuales siempre tendremos una aventura que contar.*

A mis Maestros. *Por aportarme sus conocimientos en cada una de sus materias. Gracias a todos ustedes pude recopilar información necesaria para llevar al campo laboral y aplicarlo como buen profesionalista.*

DEDICATORIA

A Dios

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis Padres: Rosa María García Carvajal y Martín Peña Ceja

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor, por los ejemplos de perseverancia, constancia que los caracteriza y que me han infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y quiero que sepan que no encuentro palabras para agradecerles y pagarles todo lo que han hecho por mí.

A mi Hermana: Rosa Yarely Peña García

Por los momentos que hemos pasado juntos, los juegos, las peleas, los consejos, los abrazos, las sonrisas, todo; siempre llevaré conmigo todas esas cosas lindas que nos han hecho que estemos unidos, te quiero mucho hermanita Monkey.

A mis Abuelos

Por haberme regalado unos papás tan lindos, por todo su amor, cariño, por sus sabios consejos, por su confianza que pusieron en mí y por todo su apoyo, en verdad gracias, los quiero mucho y los llevo en mi corazón, que Dios los bendiga siempre.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	III
DEDICATORIA.....	V
ÍNDICE DE CONTENIDO	VI
ÍNDICE DE CUADROS.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
ÍNDICE DE ANEXOS.....	XI
RESUMEN.....	XII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. OBJETIVOS.....	3
1.2. HIPÓTESIS	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Nanotecnología (NT)	4
2.1.1. Clasificación de Nanomateriales	4
2.1.2. Nanopartículas Metálicas y Derivados	4
2.1.3. Nanotecnología en la Agricultura	5
2.1.4. Nanotoxicología en Plantas.....	6
2.1.5. Vías de Absorción y Movilidad de las Nanopartículas en las Plantas	7
2.2. Tipos de Nanopartículas.....	9
2.2.1. Nanopartículas de Oro	9
2.2.2. Nanopartículas de Plata.....	9
2.2.3. Nanopartículas de Zinc	9
2.2.4. Nanopartículas de Titanio	10
2.2.5. Nanopartículas de Cobre	10
2.2.6. Nanopartículas de Manganeseo	10

2.3. Fotosíntesis	12
2.3.1. Fotosistemas	13
2.3.2. Radiación Fotosintéticamente Activa	13
2.3.3. Asimilación de CO ₂	14
2.3.4. Conductancia Estomática	14
2.3.5. Transpiración	15
2.4. Manganeso.....	16
2.4.1. Transporte de Manganeso y Acumulación en la Planta.....	16
2.4.2. Funciones del Manganeso en el Metabolismo Vegetal.....	17
2.4.3. Fitotoxicidad de Manganeso y Síntomas de Lesión	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1. Estudio I. Respuesta a la aplicación de suspensiones de nanopartículas de óxido de manganeso (Mn₂O₃) a diferentes concentraciones a semillas de chile ancho.	20
3.1.1. Localización	20
3.1.2. Material Genético.....	20
3.1.2. Prueba de Germinación	20
3.1.3. Variables Evaluadas	21
3.1.4. Diseño Experimental.....	23
3.2. Estudio II. Respuesta a la aplicación de suspensiones de nanopartículas de óxido de manganeso (Mn₂O₃), a diferentes concentraciones en plantas de chile ancho cultivadas en invernadero.....	23
3.2.1. Localización	23
3.2.2. Material Genético.....	24
3.2.3. Fase I. Laboratorio.....	24
3.2.4. Fase II. Trasplante en invernadero.....	25
3.2.4. Variables Evaluadas	27
3.2.5. Diseño Experimental:.....	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29

4.1. Prueba de Germinación	29
4.2. Medición de la tasa de asimilación de CO ₂ (fotosíntesis).....	35
4.3. Contenido de Clorofila	41
4.4. Altura de Planta	44
4.5. Diámetro de tallo	47
V. CONCLUSIONES.....	49
VII. ANEXOS	59

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de soluciones madre para preparar Hoagland.	26
Cuadro 2. Cuadrados medios de análisis de varianza de variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de chile ancho (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).	30
Cuadro 3. Comparación de medias para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de chile ancho (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).	32
Cuadro 4. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en invernadero relacionadas con la tasa de asimilación de CO_2 (fotosíntesis), en plantas de chile ancho (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).	36
Cuadro 5. Comparación de medias para las variables evaluadas relacionadas con la tasa de asimilación de CO_2 de plantas de chile ancho (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con $NPsMn_2O_3$	38
Cuadro 6. Comparación de medias para las variables evaluadas relacionada con la tasa de asimilación de CO_2 en plantas de Chile Ancho (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con $NPsMn_2O_3$	40
Cuadro 7. Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable clorofila, en plantas de chile ancho (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).	42
Cuadro 9. Comparación de medias de la variable clorofila por hora, evaluada en invernadero en plantas de Chile Ancho (<i>Capsicum annuum</i>), tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).	43
Cuadro 10. Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable agronómica altura de planta (AP), determinada en diferentes etapas en plantas de chile ancho (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).	45

Cuadro 11. Comparación de medias por etapa fisiológica de la variable altura de planta, evaluada en invernadero en plantas de Chile Ancho (<i>Capsicum annuum</i>), tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).....	45
Cuadro 12. Comparación de medias para la variable altura de planta, evaluada en invernadero, en plantas de Chile Ancho (<i>Capsicum annuum</i>), tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).....	46
Cuadro 13. Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable diámetro de tallo (DT), en plantas de chile ancho (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).....	47
Cuadro 14. Comparación de medias por concentración de la variable diámetro de tallo (DT), evaluada en invernadero en plantas de Chile Ancho (<i>Capsicum annuum</i>) tratadas con Nanopartículas de Óxido de Manganeso (Mn_2O_3).....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Categorías de diferentes mecanismos de toxicidad de nanopartículas. Fuente (Dietz y Herth, 2011).	7
Figura 2. Las NPs se pueden también absorber por medio de la raíz (Xingmao et al., 2010).	8
Figura 3. Respuesta de NPs de Mn en la absorción, asimilación y metabolismo de nitrito y Mn (Pradha et al., 2014).	11
Figura 4. Fracción de luz absorbida, reflejada y transmitida por una hoja en función de la longitud de onda (Pérez, 2009).	14

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Porcentaje de germinación fisiológica, vigor de germinación y germinación de semillas tratada con NPsMn_2O_3 a diferentes concentraciones.	59
Anexo 2. Longitud vástago y longitud de radícula de plántulas derivadas de semilla tratada con NPsMn_2O_3 a diferentes concentraciones.	59
Anexo 3. Comparación de la tasa de asimilación de CO_2 en diferentes etapas fenológicas en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3	60
Anexo 4. Comparación de la conductancia estomática en diferentes etapas fenológicas en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3	60
Anexo 5. Comparación del CO_2 intercelular determinado en diferentes etapas fenológicas en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3	61
Anexo 6. Comparación de la tasa de transpiración (E) en diferentes etapas fenológicas en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3	61
Anexo 7. Comparación de la tasa de asimilación (fotosíntesis) en plantas de chile ancho tratadas con diferentes concentraciones NPsMn_2O_3	62
Anexo 8. Comparación de la conductancia estomática de plantas de chile ancho tratadas con diferentes concentraciones NPsMn_2O_3	62
Anexo 9. Efecto de tratamientos con NPsMn_2O_3 en la concentración de CO_2 intercelular en plantas de chile ancho.	63
Anexo 10. Efecto de tratamientos con NPsMn_2O_3 en la tasa de transpiración en plantas de chile ancho.....	63
Anexo 11. Comparación de niveles de clorofila en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3	64
Anexo 12. Altura media de planta en cm, en diferentes etapas fenológicas de evaluación, en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3	64
Anexo 13. Altura media de planta en cm, determinada en cuatro diferentes etapas fenológicas, en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3	65

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo en dos estudios, el estudio I se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). En este estudio se evaluó el efecto de las nanopartículas de óxido de manganeso (NPsMn₂O₃) para determinar las variables de vigor y germinación de las semillas de chile ancho *Capsicum annuum* en condiciones de laboratorio, consistiendo en un bioensayo en donde se establecieron 4 repeticiones de 25 semillas para cada concentración: Testigo 0 ppm/agua destilada, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm y 100 ppm; Previamente, estas 700 semillas se imbibieron en cajas Petri, sobre dos capas de papel filtro en el interior. Posteriormente, se realizó la aplicación de 15 mL de suspensión de NPsMn₂O₃, con la concentración establecida por tratamiento, colocando las cajas Petri en una cámara bioclimática una temperatura de 25°C, durante tres días (72h). Donde las variables evaluadas fueron: Germinación Fisiológica; Germinación Agronómica; Plántulas Anormales; Semillas sin Germinar; Longitud de Plúmula; Longitud de Radícula y Peso Seco, en un Diseño experimental completamente al azar con 7 tratamientos y 4 repeticiones por tratamiento.

El estudio II se llevó a cabo en dos fases: I. Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS); en donde se imbibieron 30 semillas por tratamiento (210 en total) en suspensiones de NPs a diferentes concentraciones: Testigo 0 ppm/agua destilada, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 100 ppm. La imbibición de las semillas se llevó a cabo en cajas Petri, sobre dos capas de papel filtro, cada tratamiento recibió la aplicación de 15 mL de NPsMn₂O₃ con la concentración respectiva, las cajas Petri se colocaron en una cámara bioclimática germinadora a una temperatura de 25°C, durante 72 h, posterior a la imbibición, las semillas se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades con sustrato inerte elaborado con una mezcla de perlita y vermiculita en una proporción de 1:1. La

fase II se llevó a cabo en el Invernadero No.2 de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) sesenta días después de la siembra de las semillas en charolas de germinación, para lo cual se procedió al acondicionamiento de las plántulas a condiciones del invernadero, en este acondicionamiento se trasplantaron 11 plántulas por cada tratamiento en bolsas de plástico negro con capacidad de 10 L conteniendo una mezcla de vermiculita y perlita en una proporción de 2:1; así, el total de plántulas trasplantadas fue de 77.

Las macetas se marcaron de acuerdo al tratamiento y a la repetición. Las variables evaluadas fueron altura de planta; diámetro de tallo; clorofila utilizando un SPAD modelo 502 (Minolta Camera Co., Japan y fotosíntesis tomando dos lecturas con un determinador portátil de asimilación de CO₂ marca LI-COR 6400 donde se evaluó la tasa de asimilación de CO₂, CO₂ intercelular, transpiración y conductancia estomática. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 7, esto es, 2 etapas fenológicas y 7 concentraciones

Palabras claves: clorofila, fotosíntesis, germinación, nanopartículas, transpiración, vigor.

I. INTRODUCCIÓN

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

Sabourin y Ayande (2015) mencionan que la NT puede impactar dramáticamente en todos los sectores de la industria de los agronegocios en los próximos 10 años. Así mismo, la NT puede utilizarse para mejorar el desarrollo de los recursos agroindustriales, centrados en las propiedades especiales de los nanomateriales que tienen el potencial de revolucionar el sector agrícola.

Incluso, la NT presenta beneficios y aplicaciones en la industria alimentaria (Cushen *et al.*, 2012), sin embargo, 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). Lo anterior no indica que estos países tengan que esperar a que esta tecnología se consolide como mercado, sino que deberían formar capacidades tecnológicas y humanas que permitan colocarse en el mercado mundial (Yáñez, 2010).

El desarrollo de nuevos nanodispositivos y nanomateriales abren expectativas para su aplicación en la agricultura y en la biotecnología. Las nanopartículas (NPs) son materiales demasiado pequeños que están dentro del tamaño de 1 a 100 nm. Estos materiales pueden liberarse en pesticidas, fertilizantes, o usarse para el desarrollo de las plantas. Las NPs aplicándose como agroquímicos podrían reducir el daño al ambiente.

Existen trabajos que demuestran que la utilización de NPs aplicadas en cultivos tiene efectos positivos, Servin *et al.* (2015) señalan que el uso de los nutrientes a nano escala (metales, óxidos metálicos, carbono) pueden ayudar a combatir enfermedades de las plantas y aumentar el crecimiento y rendimiento, destacando el alto potencial nutricional de las NPs.

En este trabajo de investigación se estudió el efecto que tienen las NPs de óxido de manganeso (Mn_2O_3), a diferentes concentraciones en semillas y plantas de chile ancho (*Capsicum annuum*), variedad San Luis.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de la aplicación de NPs de óxido de manganeso (NPsMn₂O₃), como una opción para mejorar la capacidad germinativa en semillas, desarrollo de plantas y la tasa de asimilación de CO₂, de plantas de chile ancho (*Capsicum annuum*) variedad San Luis, cultivadas en invernadero.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Evaluar la respuesta a la aplicación de NPs de óxido de manganeso (NPsMn₂O₃), en semillas de chile ancho variedad San Luis, para determinar su efecto en las fases de germinación y desarrollo de plántulas.
- Evaluar el efecto de la aplicación de NPs de óxido de manganeso (Mn₂O₃) en plantas de chile ancho variedad San Luis, a diferentes dosis, para identificar si actúan como promotoras o inhibidoras del desarrollo agronómico, así como en su capacidad de asimilación de CO₂.

1.2. HIPÓTESIS

- La aplicación de NPs de óxido de manganeso (NPsMn₂O₃), promueve procesos fisiológicos, mejorando la capacidad germinativa, el desarrollo de planta y la tasa de asimilación de CO₂, en el cultivo de chile ancho (*Capsicum annuum*), variedad San Luis. Por lo tanto, se incrementa el rendimiento.
- La aplicación de NPs de óxido de manganeso (NPsMn₂O₃), no promueve procesos fisiológicos, ni mejora la capacidad germinativa, el desarrollo de planta y la tasa de asimilación de CO₂, en el cultivo de chile ancho (*Capsicum annuum*), variedad San Luis.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Nanotecnología (NT)

La NT hace referencia a estructuras de tamaño de 1 a 100 nm (Farokhzad y Langer, 2009), y se define como la manipulación de la materia a una escala de moléculas y átomos (en millonésimas de metro), el interés de esta nueva tecnología se debe a que la materia a nivel de nanoescala presenta propiedades totalmente distintas a las que tiene en su dimensión macro (Delgado, 2007), producido por el incremento en la relación superficie/volumen (Samrat *et al.*, 2011).

2.1.1. Clasificación de Nanomateriales

Según Fages (2012), los nanomateriales se pueden clasificar conforme a su naturaleza química, en cuatro grandes familias:

- ❖ Nanomateriales derivados del silicio: nanoarcillas, nanoesferas de sílice, nanoesferas de silicio y nanocompuestos tipo POSS.
- ❖ Nanomateriales derivados del carbono: fullerenos, nanotubos y nanofibras de carbono.
- ❖ Nanopartículas metálicas y derivados de éstas: plata, oro, cobre, titanio, zinc, dióxido de titanio, óxido de zinc, óxido de cerio, fierro, manganeso etc.
- ❖ Nanopartículas poliméricas: dendrímeros.

2.1.2. Nanopartículas Metálicas y Derivados

Las NPs metálicas tienen propiedades con la capacidad de aplicación en diversas áreas tecnológicas, en 1857 Faraday realizó el primer estudio sistemático de ellas, presentó un trabajo sobre la síntesis y propiedades de coloides de oro (Gutiérrez, 2005), permitiendo que las NPs metálicas se usen en nuevos ámbitos de estudio, teniendo en las últimas décadas un gran éxito, gracias a las

propiedades que presentan como son magnéticas, eléctricas y catalíticas (Roldán *et al.*, 2000).

Dentro de las NPs metálicas se encuentran las de Zn, Fe, Cu, Ag, Ti, Au, Mn, teniendo muchas de ellas un gran potencial aplicable en la agricultura, debido a que pueden utilizarse como nanofertilizantes (Liu y Lal, 2015; Naderi y DaneshShahraki, 2013), nanoherbicidas (Yadav y Srivastava, 2015), nanopesticidas (Dubey y Mailapalli, 2016) y nanosensores (Servin *et al.*, 2015).

2.1.3. Nanotecnología en la Agricultura

Hoy en día los productores agrícolas a nivel mundial son demandantes en materia de productos que puedan resolver los problemas de producción, entre los que se incluyen la poca eficiencia en el rendimiento del producto final, la poca eficacia en el uso de fertilizantes, la pérdida de fertilidad en los suelos por el uso inadecuado de productos sintéticos, cambio climático, agregándose la disminución de la superficie agrícola y la constante demanda de alimento por el aumento de la población. Ante tal situación, la única manera de hacerle frente a esta diversidad de problemas, se torna a explorar una nueva tecnología de vanguardia como la NT (Quispe, 2010).

Existe una gran diversidad de NPs, como las ultrafinas, aglomerados y agregados, las cuales se utilizan en los diferentes subsectores de la agricultura. Estas NPs tienen la capacidad potencial de viajar en el interior del organismo, función que otros materiales o partículas más grandes no pueden hacer. Por lo tanto, se pueden evaluar diversas interacciones de las NPs con fluidos, células y tejidos (Bhattacharyya *et al.*, 2014).

Las aplicaciones de NPs a las plantas sugieren su uso potencial comercial, posiblemente como fuentes de nutrientes en la producción de cultivos. Las NPs de Fe, Zn, Mn y Cu, así como sus óxidos pueden tener el potencial para el aumento del crecimiento de las plantas, esto debido a un incremento en la eficiencia en el

uso de micronutrientes por los cultivos, ya sea que su aplicación sea en los suelos o follaje (Monreal *et al.*, 2015).

Las NPs pueden tener un mayor incremento en la reactividad química y ser más bioactivas que las partículas más grandes; por su tamaño, tienen acceso a cualquier parte de la planta. Por ende, las aplicaciones de la NT en la agricultura tienen relación con las mejoras en plaguicidas, herbicidas, fertilizantes, mejoradores o acondicionadores de suelos, así como nanosensores para la detección de niveles de microorganismos patógenos, agua, nitrógeno y agroquímicos.

Sin embargo, los nanosistemas interactivos de control de la producción agrícola aún están muy lejos de materializarse, la NT en la agricultura podría también llevar a una mayor automatización de la gestión agrícola, permitiendo escalas de producción crecientemente más grandes que requerirán cada vez menos mano de obra (Foladori y Invernizzi, 2008).

2.1.4. Nanotoxicología en Plantas

La liberación antropogénica de NPs al medio ambiente es un peligro potencial para la salud humana y la vida, debido a la interacción que existe entre las NPs y los procesos biológicos. Las plantas están expuestas todo el tiempo al ambiente, el aire y suelo por lo que las NPs son absorbidas a través de nano o micro aberturas y se translocan a todas las partes de la planta. La nanotoxicología en plantas es una disciplina que explora los efectos y los mecanismos tóxicos de NPs en plantas, así como el transporte y la interacción con la planta. Gran cantidad de estudios se centran en la fitotoxicidad de las NPs en las plantas, arrojando diferentes resultados, algunas demuestran efectos positivos, otros negativos y algunos muestran efectos poco significativos (Karl-Josef y Herth., 2011).

En la Figura 1 se observan los diferentes mecanismos que tienen las NPs de toxicidad, las tonalidades diferentes del mismo color representan los mecanismos relacionados a las interacciones mecánicas dependientes del tamaño, las actividades catalíticas de las superficies mayores y las interacciones basadas en afinidad.

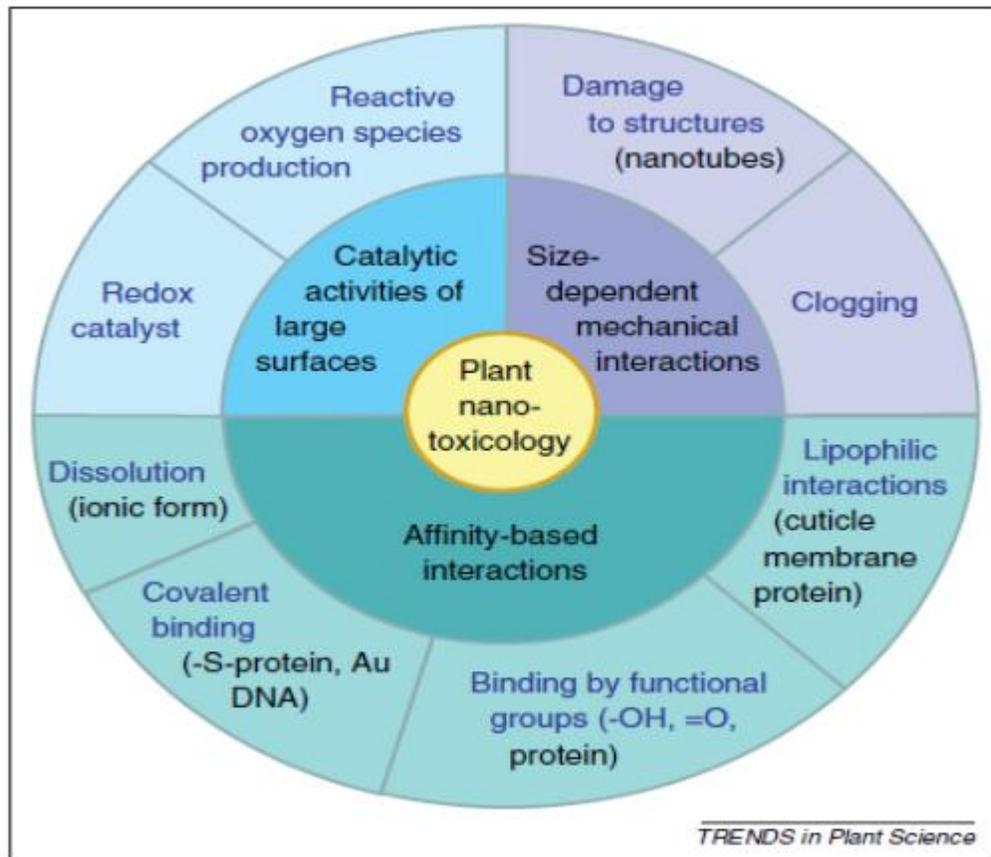


Figura 1. Categorías de diferentes mecanismos de toxicidad de nanopartículas.

Fuente (Dietz y Herth, 2011).

2.1.5. Vías de Absorción y Movilidad de las Nanopartículas en las Plantas

El tamaño nanométrico les da una 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).

Las NPs pueden ser absorbidas en las superficies de las plantas a través de aberturas naturales como los estomas o tricomas facilitando su entrada, mientras que en la superficie del suelo se facilita la absorción gracias a las raíces semipermeables (Dietz y Herth, 2011). La absorción de las NPs en la planta tiene diversas rutas las cuales dependen del tamaño y superficie que utilizan estas, debido a que las hojas o frutos tienen una epidermis que está cubierta por una cutícula que permite la entrada de las NPs muy pequeñas, pero las propiedades permeables entre la cutícula, la epidermis y tricomas o estomas son diferentes ya que las propiedades de la cutícula pueden cambiar de acuerdo a la temperatura (Schreiber, 2011).

En la Figura 2 se observa la entrada de NPs por las raíces. Las NPs en un entorno natural son absorbidas por las raíces primarias (A2) o raíces laterales (A1 y luego B). Las cuales son transportadas desde la raíz (C) a través del vástago (D e I) a la hoja (E, F, G, H).

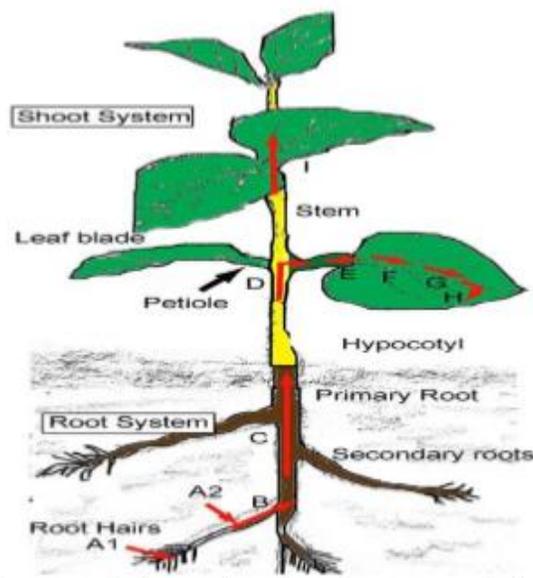


Figura 2. Las nanopartículas se pueden también absorber por medio de la raíz (Xingmao *et al.*, 2010).

2.2. Tipos de Nanopartículas

2.2.1. Nanopartículas de Oro

Las NPs Au son poco reactivas, poseen una fácil funcionalización y son muy resistentes a la oxidación y a la corrosión (Chithrani *et al.*, 2006).

2.2.2. Nanopartículas de Plata

La plata es un metal blanco, brillante, suave y maleable con unos de los valores más altos de conductividad térmica y eléctrica, es un metal un poco más duro que el oro. Las NPs de plata se están aplicando de forma muy intensa en el desarrollo de materiales poliméricos con propiedades antibacterianas y en algunos casos, antifúngicas (Fages, 2012).

2.2.3. Nanopartículas de Zinc

Las NPsZnO en el sector agrícola son estudiadas por su actividad antimicrobial, potencial como nanofertilizantes y promotores de crecimiento. Su efecto atribuido por el zinc siendo un micronutriente esencial para el crecimiento de plantas. Los efectos de las NPsZnO aplicadas en plantas muestran un efecto en el crecimiento, este efecto puede ser relacionado con la actividad que tiene el zinc como precursor directo en la producción de auxinas las cuales regulan el crecimiento, además de causar respuesta en elongación y división celular de la planta (Rehman *et al.*, 2012). El zinc es uno de los nutrientes esenciales y un componente de gran importancia en algunas enzimas que son responsables de variadas reacciones metabólicas (Shyla y Natarajan, 2014), otra función en las cuales participa el zinc es en la elaboración de clorofila, germinación de semillas, producción de polen y biomasa (Pandey *et al.*, 2010).

2.2.4. Nanopartículas de Titanio

El dióxido de titanio (TiO_2) es un semiconductor sensible a la luz el cual absorbe la radiación electromagnética, principalmente en la región UV, siendo un material químicamente estable y muy económico teniendo la posibilidad de aplicarlo en diversas áreas (Cardenas, 2012) hoy en día es más utilizado como fotocatalizador para degradar moléculas orgánicas durante el periodo de purificación del agua, además de su utilización en la industria de la cerámica y cosmética (Vargas et al., 2011), teniendo en cuenta que aproximadamente la mitad de los estudios acerca de TiO_2 resultan efectos toxicológicos (Dietz y Herth, 2011).

2.2.5. Nanopartículas de Cobre

El cobre tiene importancia biológica en el proceso de fotosíntesis de las plantas, aunque no forma parte de la composición de la clorofila. El cobre ha tenido un gran interés por presentar un amplio espectro contra bacterias y hongos, el cual la eficiencia de este elemento depende de las condiciones del medio ambiente, la concentración de iones y el tipo de microorganismo a combatir. Dada la efectividad del cobre contra organismos patógenos asociados con enfermedades de plantas, ha sido utilizado ampliamente en el sector agropecuario en forma de pesticida desde ya hace bastante tiempo y hoy en día como promotor de crecimiento vegetal (Jaiswal *et al.*, 2012).

2.2.6. Nanopartículas de Manganeso

Existen diferentes tipos de NPs de Mn:

- Nanopartículas huecas de óxido de manganeso.
- NPs de óxido de manganeso revestidas de sílice.
- Nanopartículas dopadas con Mn y estructuras metalorgánicas a nanoescala.

- NPs multifuncionales de óxido de manganeso.
- Nanopartículas de óxido de manganeso.

A esta última se le han desarrollado muchos enfoques para poder realizar la síntesis de NPs de óxido de manganeso (MnO o Mn_3O_4). Una ruta común es calentar oleato-Mn en un punto alto de ebullición del disolvente para inducir la nucleación y crecimiento de partículas. El cual este método permite la preparación de NPs con un control de tamaño preciso. Las NPs de MnO de 7 a 25 nm se pueden preparar a gran escala (Zhen y Xie, 2012).

NPs de óxido de manganeso en las plantas tienen influencia directamente sobre la fotosíntesis y en la participación de la formación de los cloroplastos, el Mn es un componente importante de la biosíntesis de los ácidos grasos e influye en la reserva energética por medio del control del metabolismo de carbohidratos. En la planta solo puede ocurrir la reducción de nitratos cuando están presentes iones de manganeso (Figura 3).

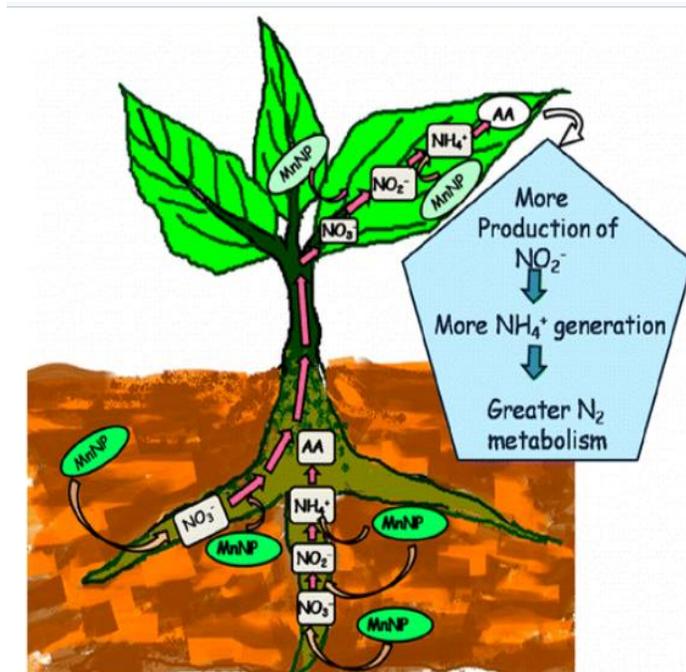


Figura 3. Respuesta de nanopartículas de Mn en la absorción, asimilación y metabolismo de nitrito y Mn (Pradha *et al.*, 2014).

2.3. Fotosíntesis

Una gran variedad de organismos, entre ellos los procariotes y eucariotes tienen la capacidad de realizar fotosíntesis. En el grupo de los eucariotes, las plantas, algas multicelulares, unicelulares, por mencionar algunos organismos unicelulares como los euglenoides, dinoflagelados y las diatomeas, poseen la capacidad de realizar el proceso de fotosíntesis. Los procariotes fotosintéticos comprenden las algas.

La reacción global de la fotosíntesis se expresa en la siguiente ecuación.



La fotosíntesis permite a cientos de organismos captar energía radiante y transformarla en energía química. En una gran cantidad de organismos fotosintéticos la energía que captan es utilizada para fijar un anhídrido carbónico (CO_2) y sintetizar sustancias orgánicas, en particular glúcidos, tales como el almidón (Gutteridge y Pierce, 2006).

Este proceso se realiza en dos fases diferentes, en la fase de luz los tilacoides de los cloroplastos captan la energía solar y junto con el agua es absorbida transformándola en energía química ATP y poder reductor NADPH liberando oxígeno, en la fase oscura esta energía química y el poder reductor salen de los tilacoides y pasan al estroma del cloroplasto ahí mediante un conjunto de reacciones conocidas como ciclo de Calvin, el CO_2 se fija y se convierte en azúcares, aminoácidos y ácidos grasos que son la fuente de energía para la planta (Pérez, 2009).

2.3.1. Fotosistemas

Los pigmentos fotosintéticos se hayan alojados en unas proteínas transmembranales que forman unos conjuntos denominados fotosistemas. Los pigmentos fotosintéticos son lípidos que se hayan unidos a proteínas presentes en algunas membranas plasmáticas, y que se caracterizan por presentar alternancia de enlaces sencillos con enlaces dobles. Esto se relaciona con su capacidad de aprovechamiento de la luz para iniciar reacciones químicas, y con poseer color propio. En las plantas se encuentran la clorofila y carotenoides.

El fotosistema I (PSI) capta la luz cuya longitud de onda menor o igual a 700 nm y en las plantas superiores, su antena se caracteriza por encerrar dentro de sí una gran proporción de clorofila α , y una menor de clorofila β . En el centro de reacción, la molécula diana es la clorofila α que absorbe a 700 nm, siendo llamada por ello clorofila P700. El aceptor primario de electrones se denomina aceptor A0 y el dador primario es la plastocianina, sobre todo, se hallan presentes en los tilacoides del estroma. El Fotosistema II (PSII) capta luz cuya longitud de onda es menor o igual a 680 nm.

2.3.2. Radiación Fotosintéticamente Activa

La radiación fotosintéticamente activa (PAR), es comprendida entre las longitudes de onda de 400 y 700 nm (Figura 4) y constituye, aproximadamente el 50% de la radiación solar total. Es la radiación utilizable en el proceso fotosintético.

La intensidad de la fotosíntesis depende de la intensidad de la radiación interceptada (Larcher, 1983). El uso de algunas prácticas agronómicas como el manejo de la densidad de plantas y su distribución sobre la superficie del terreno benefician mejorando la eficiencia de la interceptación (Andrade, 1996).

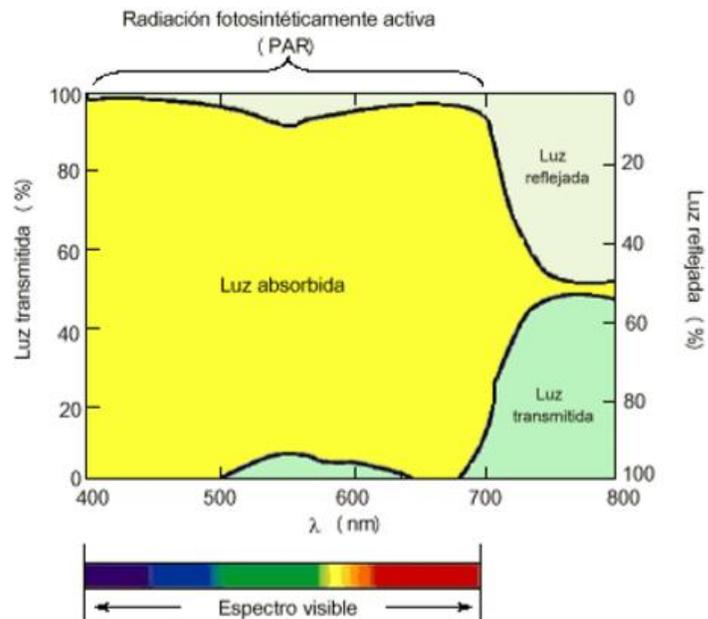


Figura 4. Fracción de luz absorbida, reflejada y transmitida por una hoja en función de la longitud de onda (Pérez, 2009).

2.3.3. Asimilación de CO₂

La fotosíntesis en esencia es un proceso de óxido reducción, en el que el carbono de CO₂ atmosférico se reduce a carbono orgánico. La fotosíntesis en las plantas consiste básicamente en la producción de una sustancia orgánica (un glúcido simple) a partir de moléculas inorgánicas (el CO₂ como sustrato a reducir y el agua como donador de electrones que se oxida), mediante el aprovechamiento de la energía lumínica que se queda almacenada como energía química dentro de la molécula sintetizada y con desprendimiento del oxígeno (De la Rosa, 1997).

2.3.4. Conductancia Estomática

Los estomas afectan el flujo de CO₂ en las hojas, así como la pérdida de vapor de agua, las reducciones de la conductancia estomática para conservar agua significa una disminución en la tasa fotosintética. Por lo tanto, la reducción

de la conductancia estomática depende del equilibrio entre la pérdida de producción y la prevención de la deshidratación (Ludlow y Muchow, 1990). En hojas con ajuste osmótico, los estomas continúan ligeramente abiertos al reducir progresivamente el potencial hídrico, lo que se conoce como ajuste osmótico.

El ajuste estomático tiene efecto promoviendo la pérdida de agua y mantener la fotosíntesis ante una progresiva declinación en el potencial hídrico de la hoja (Ludlow y Muchow, 1990). Por lo tanto, el cierre parcial de estomas afecta más a la pérdida de vapor de agua que la fotosíntesis (Araus *et al.*, 1998).

Una manera para obtener la conductancia estomática es determinando el tamaño de la apertura de los estomas o mediante la tasa e pérdida de agua. Esto nos indica cuan abiertos o cerrados se encuentran los estomas. Al inverso de la resistencia a la difusión se le denomina conductancia, por lo común sus unidades son mol H₂O m⁻² s⁻¹. Esta es directamente proporcional a la transpiración, o si se mide el CO₂ a la fotosíntesis (Salisbury, 1994).

2.3.5. Transpiración

En este proceso es el cual la planta regula su temperatura, consistiendo en la pérdida de agua a través de los estomas y cutículas o lenticelas hacia la atmosfera no saturada de humedad. Gordon y Barden (1992) mencionan que son diversos los factores que afectan el proceso de transpiración: 1) irradiación; 2) temperatura; 3) velocidad del viento; 4) disponibilidad del agua en las raíces; 5) la presión del vapor de agua en las raíces, y 6) una serie de factores vegetales.

El aumento de la irradiación provoca, que los estomas se abran acelerando la transpiración. La importancia de la transpiración también se observa, en el proceso absorción de agua por las raíces, siendo esta de suma importancia para la obtención de nutrientes minerales así como su transporte dentro de la misma. La velocidad de transpiración es más baja durante la noche ya que los estomas se encuentran cerrados y la temperatura es más baja, por lo que se reduce la velocidad de evaporación de agua de las células del mesófilo (Alexander, 1992).

2.4. Manganeso

El manganeso (Mn) es un micronutriente esencial para la mayoría de organismos. En las plantas, participa en la estructura de proteínas y enzimas fotosintéticas. Su déficit provoca un peligro para los cloroplastos afectando el sistema de división de agua del fotosistema II (PSII), el cual proporciona los electrones necesarios para la fotosíntesis (Buchanan, 2000). El exceso de este micronutriente puede ocasionar daños para el aparato fotosintético (Mukhopadhyay y Sharma, 1991). Por ende, el Mn adquiere dos papeles en los procesos metabólicos de la planta: como un micronutriente esencial y como un elemento tóxico en grandes cantidades Kochian *et al.*, 2004; Ducic y Polle, 2005). La toxicidad de Mn es mayor en suelos ácidos (Pendias y Pendias, 1992).

2.4.1. Transporte de Manganeso y Acumulación en la Planta

La forma reducida de Mn (Mn^{2+}) es la forma del metal disponible para las plantas. El cual puede tomarse a través de un sistema de transporte activo en las células de la raíz epidérmica y transportarse como catión divalente Mn^{2+} a las plantas (Marschner, 1995; Gherardi y Rengel, 2003; Pittman, 2005). La absorción de manganeso por las raíces se caracteriza como un proceso bifásico. La fase de captación inicial y rápida es reversible y no metabólica, con Mn^{2+} y Ca^{2+} u otros cationes los cuales se intercambian libremente en la rizosfera. El Mn^{2+} es absorbido por los constituyentes de la pared celular con carga negativa de los espacios apoplísticos de las células de la raíz (Humphries *et al.*, 2007; Clarkson, 1988). La segunda fase es lenta en el cual el Mn^{2+} tiene una menor capacidad de intercambio. La incorporación al simplasto depende del metabolismo de las plantas (Maas y Moore, 1968), aunque los mecanismos exactos no son claros (Humphries *et al.*, 2007).

Se ha demostrado en tabaco transgénico transformado con una proteína de raíz de tomate con un lado de unión de metal en su extremo N-terminal (LeGIpI),

que el Mn se une a esta proteína. Esto sugiere fuertemente la participación de LeGIP1 en la absorción de Mn del suelo (Takahashi y Sugiura, 2001). Las mediciones cinéticas han demostrado tasas de transporte de Mn de 100 a 1,000 veces más altas que el requerimiento estimado de la planta para este elemento (Clarkson, 1988).

2.4.2. Funciones del Manganeso en el Metabolismo Vegetal.

El principal papel del Mn en la fotosíntesis es su participación en el sistema de división de agua del fotosistema II (PSII), proporcionando los electrones necesarios para el transporte de electrones fotosintéticos. En la fotólisis del agua, un grupo formado por cuatro átomos de Mn se combina con el complejo que se desarrolla con oxígeno (OEC) unido con la proteína del centro de reacción (DI) del PSII (Goussias *et al.*, 2002). El grupo de Mn en PSII acumula cuatro cargas positivas, las cuales oxidan a dos moléculas de agua, liberando una molécula de O₂ y cuatro protones. Por ende, el manganeso se considera como un compuesto catalizador de la oxidación del agua (Zouni *et al.*, 2001), los iones de Mn están cerca de un residuo de tirosina activo redox (Z y D) (Goussias *et al.*, 2002).

El manganeso participa en la síntesis de ATP (Pfeffer *et al.*, 1986), en las reacciones de RuBP carboxilasa (Houtz *et al.*, 1988) y en la biosíntesis de ácidos grasos, lípidos de acilo y proteínas (Ness y Woolhouse, 1980). Además, el Mn desempeña un papel principal en la activación y como cofactor de diversas enzimas en plantas (~ 35) (Burnell, 1988), tales como: Mn-superóxido dismutasa, Mn-catalasa, piruvato carboxilasa y fosfo-enolpiruvato carboxiquinasa (Ducic y Polle, 2005). El Mn es fundamental para la realización de la biosíntesis de clorofila (a través de la activación de enzimas específicas), aminoácidos aromáticos (tirosina), productos secundarios, como lignina y flavonoides (Lidon *et al.*, 2004). También participa en la ruta biosintética de isoprenoides (Lidon *et al.*, 2004), y la asimilación de nitrato (Ducic y Polle, 2005). Por ende, el Mn está involucrado en procesos metabólicos como la respiración, la fotosíntesis, la

síntesis de aminoácidos y la activación de hormonas (ácido indol acético, IAA) a través de las IAA-oxidasas (Burnell, 1988).

En resumen, algunas funciones del Mn en la planta son: tiene influencia directamente sobre la fotosíntesis y en la participación de la formación de los cloroplastos, es un componente importante de la biosíntesis de los ácidos grasos. Influye en la reserva energética por medio del control del metabolismo de carbohidratos. En la planta solo puede ocurrir la reducción de nitratos cuando están presentes iones de Mn. Tiene participación en el aumento de la formación de raíces laterales. Activa el crecimiento de la planta al influir sobre el crecimiento de la extensión celular. Participa en la fijación de radicales de oxígeno. El Mn y el Mg incrementan el valor de la concentración de componentes determinantes como el ácido cítrico y la vitamina C.

2.4.3. Fitotoxicidad de Manganeso y Síntomas de Lesión

Como un micronutriente esencial, los niveles bajos de Mn son absolutamente necesarios para la nutrición normal y el desarrollo de las plantas, No obstante, cuando está presente en cantidades excesivas, es extremadamente tóxico para las células de las plantas Los contenidos normales de Mn de las hojas difieren mucho entre las especies (30-500 mg kg⁻¹ Mn de masa seca) (Clarkson, 1988).

Los síntomas de toxicidad por Mn incluyen clorosis marginal y necrosis de hojas y raíces café oscuras, sólo después de que el follaje ha sido afectado. El exceso de Mn interfiere con las enzimas, disminuye la respiración y está relacionado con la destrucción de auxinas (Foy *et al.*, 1978; Marschner, 1998). Con respecto a su movilidad, este elemento se distribuye y se disipa uniformemente en las raíces (Wallace *et al.*, 1977). En plantas de *Phaseolus sp.*, *Solanum sp.*, *Chrysanthemum sp.* y *Lycopersicum sp.* se ha observado oscurecimiento de venas de la hoja por acumulación de cristales oscuros de MnO₂ insoluble en los tejidos dentro o junto a las venas, o en ambos lados de la hoja. En

Brassica sp. y *Lactuca sp.*, los síntomas de su toxicidad se evidencian como clorosis intervenal en hojas (Schubert, 1992).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Estudio I. Respuesta a la aplicación de suspensiones de nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3) a diferentes concentraciones a semillas de chile ancho.

3.1.1. Localización

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), con coordenadas $25^{\circ} 23' 25''$ de latitud norte, $100^{\circ} 50' 57''$ de longitud oeste y a una altitud de 1742 msnm en Buenavista; Saltillo, Coahuila México, durante el mes de junio del 2017

3.1.2. Material Genético

En esta investigación se utilizó como material genético semillas de chile ancho (*Capsicum annuum*), variedad San Luis.

3.1.2. Prueba de Germinación

El experimento consistió en el establecimiento de un ensayo con el fin de determinar el efecto de las NPs de óxido de manganeso con un tamaño de 40-60 nm ($NPsMn_2O_3$) en la germinación. Para cada concentración (testigo, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 100 ppm), se establecieron 4 repeticiones de 25 semillas.

La preparación de las suspensiones de $NPsMn_2O_3$ consistió en pesar el producto de acuerdo a la concentración deseada en una balanza analítica (AND modelo HR-200), posteriormente se depositaron las $NPsMn_2O_3$ en tubos tipo Falcon con tapa de rosca, aforando con agua destilada a 50 mL. Colocando

cada tuvo durante un periodo de 15 minutos en un agitador Vortex marca LABNET modelo VX100, para lograr la máxima dispersión de NPsMn_2O_3 .

Para la imbibición, se pusieron 700 semillas de chile ancho variedad San Luis, cien por cada tratamiento, en cajas Petri, sobre dos capas de papel filtro en el interior.

Después de colocar las semillas de acuerdo a cada tratamiento, se realizó la aplicación de 15 mL de suspensión de NPsMn_2O_3 , con la concentración establecida, colocando las cajas Petri en una cámara bioclimática a una temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, con una humedad relativa 50% y un fotoperiodo de 16/8 h luz/obscuridad, durante tres días (72 h).

Una vez transcurrido este tiempo, se realizó una prueba de germinación estándar (ISTA, 2004), con algunas modificaciones, para lo cual se sembraron las 4 repeticiones de 25 semillas de chile ancho sobre papel Anchor humedecido con agua destilada, de forma horizontal con el embrión hacia abajo, después de la siembra de la semilla, se cubrió con un pliego más de papel previamente humedecido, enrollando ambos para formar un “taco”. Las 4 repeticiones de cada tratamiento, se colocaron en una bolsa de polietileno para evitar la pérdida de humedad, se colocaron en una cámara de germinación verticalmente, a una temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, con una humedad relativa 50% y un fotoperiodo de 16/8 h luz/obscuridad.

3.1.3. Variables Evaluadas

El primer conteo de germinación, se realizó al séptimo día después de iniciar el proceso de imbibición, tomando los parámetros de germinación fisiológica (GF). Una vez obtenido el dato se reingresaron los tacos a la cámara de germinación con la misma temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, con una humedad relativa 50% y un fotoperiodo de 16/8 h luz/obscuridad.

Germinación Fisiológica (GF): El indicador de la GF sucedida en condiciones de laboratorio fue la rotura de las capas seminales ocasionada únicamente por la radícula.

Vigor de Germinación (Vigor). Se contaron todas las plántulas normales, esto es, que desarrollaron vástago y radícula normal.

Al catorceavo día de haber iniciado con el proceso de imbibición y al séptimo día del primer conteo, se realizó el segundo conteo de los siguientes parámetros.

Plántulas Normales (PN): En esta variable se cuantificaron las plántulas que tuvieran el sistema apical bien desarrollado, al igual que el sistema radicular incluyendo la raíz primaria, presencia de los dos cotiledones, hojas primarias verdes, brote terminal o ápice,

Plántulas Anormales (PA): Para esta variable se tomaron en cuenta las plántulas que no lograron desarrollar alguna de las estructuras esenciales, limitando su óptimo desarrollo.

Semillas sin Germinar (SSG): Son aquellas semillas que no presentaron ningún signo de emergencia de raíz o vástago.

Longitud de Plúmula y de Radícula (LP) y (LR): Para determinar estos parámetros, se midió cada una de las estructuras esenciales y se reportó en centímetros (cm), estas dos variables se consideran un indicativo del vigor de plántula (Perry, 1972).

Peso Seco de Plántula (PS): Se obtuvo de cada plántula después de una completa deshidratación. Para este procedimiento se colocaron todas las plántulas normales (PN) de cada repetición en bolsas de papel estraza perforadas e identificadas, luego se sometieron a una temperatura de 70°C durante un periodo de 24 horas en una estufa marca RIOSA modelo H-24, , posteriormente se colocaron en un desecador para evitar que la humedad del ambiente afectara el valor real, en seguida se pesó cada repetición en una balanza analítica (AND

modelo HR-200), para conocer el valor del peso seco representada en mg plántula⁻¹

3.1.4. Diseño Experimental.

El experimento se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar, con 7 tratamientos y 4 repeticiones por tratamiento, después se llevó a cabo, una comparación de medias con la Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), para lo cual se utilizó el paquete estadístico SAS Institute (2004).

Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Valor observado

μ = Efecto de la media

τ_i = Efecto de los tratamientos

ε_{ij} = Error experimental

3.2. Estudio II. Respuesta a la aplicación de suspensiones de nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3), a diferentes concentraciones en plantas de chile ancho cultivadas en invernadero.

3.2.1. Localización

Este estudio se llevó a cabo en dos fases: I. Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semilla (CCDTS); y II. En el Invernadero No.2 de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) con coordenadas 25° 23' 25'' de latitud norte, 100° 50'

57'' de longitud oeste y a una altitud de 1742 msnm en Buenavista, Saltillo, Coahuila México, durante el período de primavera – verano 2017.

3.2.2. Material Genético

Se utilizaron semillas de chile ancho (*Capsicum annuum*), variedad San Luis.

3.2.3. Fase I. Laboratorio

El experimento consistió en el establecimiento de un bioensayo con el fin de determinar el efecto de NPs de óxido de manganeso con un tamaño de 40-60 nm (NPsMn₂O₃) en la germinación de semillas tratadas, previo a la siembra en sustrato suelo. Para la preparación de suspensiones de NPsMn₂O₃ a las concentraciones propuestas, las NPs se pesaron en una balanza analítica marca AND modelo HR-200 y posteriormente se depositaron en tubos tipo Falcon con tapa de rosca, luego se aforó con agua destilada a 50 mL. Los tubos Falcon se sometieron por un periodo de 15 minutos al efecto de un agitador Vortex marca LABNET modelo VX100, para lograr la máxima dispersión de NPs.

El bioensayo consistió en imbibir 30 semillas por tratamiento (210 en total) en suspensiones de NPsMn₂O₃ a diferentes concentraciones: Testigo, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 100 ppm. La imbibición de las semillas se llevó a cabo en cajas Petri, sobre dos capas de papel filtro, cada tratamiento recibió la aplicación de 15 mL de NPsMn₂O₃ con la concentración respectiva, las cajas Petri se colocaron en una cámara bioclimática germinadora a una temperatura de 25°C ± 2 °C, con una humedad relativa 50% y un fotoperiodo de 16/8 h luz/obscuridad, durante 72 h.

Posterior a la imbibición, las semillas se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades, se utilizó un sustrato inerte en una combinación de perlita y vermiculita en una proporción de 1:1. La siembra consistió en colocar una semilla de chile ancho en cada una de las cavidades de la charola de germinación,

con el sustrato completamente húmedo posterior a la siembra las charolas se colocaron en una cámara bioclimática a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, con una humedad relativa 50% y un fotoperiodo de 16/8 h luz/obscuridad. Los riegos se aplicaron cada dos días, con una dosis de 3 mL de agua destilada por cavidad, aplicado con una jeringa.

La emergencia inició 7 días del proceso de imbibición en cajas Petri y a los 4 días después de la siembra en las charolas de germinación.

De acuerdo a los requerimientos nutricionales de las plántulas, se realizaron cinco aplicaciones de fertilizante Triple 17 (17-17-17), con una concentración de 0.5 g/L de agua destilada, aplicando una dosis de 3 mL de la solución nutritiva por cavidad, esto cada 7 días.

3.2.4. Fase II. Trasplante en invernadero

Sesenta días después de la siembra de las semillas en charolas de germinación, se inició el acondicionamiento de las plántulas a condiciones del invernadero, para lo cual se preparó sustrato inerte, mezclando vermiculita y perlita en una proporción de 2:1, para el llenado de bolsas de plástico negro con una capacidad de 10 L.

Al día siguiente se realizó el trasplante, y para cada tratamiento se establecieron once macetas, con un total de 77 plántulas trasplantadas. Las macetas se marcaron de acuerdo al tratamiento y a la repetición.

Durante los primeros 5 días posteriores al trasplante, se aplicó diariamente 100 mL de la solución nutritiva Hoagland al sustrato en cada una de las macetas, para lo cual se preparó una solución madre (stock) (Cuadro 1), eliminando el Mn. Pasados los primeros cinco días, se seleccionaron ocho macetas para la aplicación de la solución nutritiva, la cual se realizó diariamente, con excepción de un día antes y el día de la aplicación de suspensiones de NPsMn_2O_3 preparadas en laboratorio en concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50, 100 ppm, y un testigo (0 ppm, agua destilada) y dirigidas al sustrato inerte.

Cuadro 1. Composición de soluciones madre para preparar Hoagland.

Símbolo	Compuesto	Concentración
A	Ca(NO ₃) ₂ .4 H ₂ O	118 g/500mL
B	KNO ₃	50.5 g/500mL
C	MgSO ₄ .7H ₂ O	123.25 g/500mL
D	KH ₂ PO ₄	68 g/500mL
E	Quelato de Fe (FeSO ₄ + Na ₂ EDTA)	1.25 g/250mL
F	Micronutrientes	(0.715 g H ₃ BO ₃ + 0.055 g ZnSO ₄ .7H ₂ O + 0.0225 g H ₂ MoO ₄ + 0.0225 g CuSO ₄ .5H ₂ O en 250 mL. de agua destilada).

Las aplicaciones de NPsMn₂O₃ se realizaron los lunes y los viernes de cada semana. El experimento se sometió a 10 aplicaciones de suspensiones de NPsMn₂O₃ en concentraciones y de acuerdo a cada tratamiento, de las cuales, una aplicación se realizó en el laboratorio y nueve en invernadero.

El experimento tuvo además 4 aplicaciones de fertilizante foliar Fertidrip (12-60-00), con una dosis de aplicación de 20 g/L de agua, ya que este no contiene microelementos que pudieran contribuir con Mn, siendo la primera aplicación a los 39 días después del trasplante de las plántulas, las aplicaciones posteriores se realizaron al tercer, cuarto y treceavo día de cada aplicación. Estas aplicaciones se realizaron sin sustituir la solución nutritiva Hoagland que se aplicó diariamente.

3.2.4. Variables Evaluadas

Altura de planta

Se midió la altura de planta (AP) con una regla a los 51 días después del trasplante, posteriormente se obtuvieron otras 3 lecturas más, las cuales se realizaron cada 7 días, el valor obtenido se registró en centímetros. Para ello, se consideró desde la base de la planta, hasta la parte apical más alta, donde el tallo se divide en las primeras hojas apicales, las mediciones representan diferentes etapas fenológicas.

Diámetro de tallo

A los 74 días del trasplante se midió el diámetro del tallo con un Vernier digital, en la parte media de la planta, y se expresó en milímetros.

Contenido de Clorofila

A partir de la primera aplicación de NPsMn_2O_3 en el invernadero, se dio inicio con la determinación del contenido relativo de clorofila, utilizando un SPAD modelo 502 (Minolta Camera Co., Japan), el cual estima el contenido relativo de clorofila en las hojas sin destruir el tejido. Este valor se calcula con base a la cantidad de luz transmitida en dos longitudes de onda, en las cuales la absorbancia de la luz es diferente. Para cada tratamiento se evaluaron seis repeticiones, a las cuales se realizaron tres lecturas a las siguientes horas: 0 horas, 24 horas y 48 horas posteriores a cada aplicación de NPsMn_2O_3 , durante un periodo de 27 días.

Tasa de asimilación de CO_2 (Fotosíntesis)

Se tomaron lecturas en etapa vegetativa y etapa reproductiva, con un determinador portátil de asimilación de CO_2 marca LI-COR 6400 previamente calibrado, el cual permite mediciones precisas de fotosíntesis e intercambio de

CO₂, la lectura fue tomada una vez que el valor permaneció constante en la pantalla en un lapso de 5 segundos. Seleccionando seis plantas por cada tratamiento, de las cuales se eligió una hoja por cada repetición que tuviera una superficie foliar de 6 cm²

Variables determinadas

- Tasa de asimilación de CO₂ (**A**), expresado en μmol de CO₂ m⁻² s⁻¹.
- CO₂ intercelular (**C_i**) expresada en μmol CO₂ mol aire⁻¹.
- Transpiración (**E**) expresada en mol H₂O m⁻² s⁻¹.
- Conductancia estomática al H₂O (**g_s**), expresada en mol H₂O m⁻² s⁻¹.
- Radiación fotosintéticamente activa (**PAR**), expresada en μmol luz m⁻² s⁻¹.
- Temperatura de hoja (**T**), expresada en °C.

3.2.5. Diseño Experimental:

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 7, esto es, 2 etapas fenológicas y 7 concentraciones, con los datos obtenidos, se realizó análisis de varianza y pruebas de rango múltiple Tukey ($P \leq 0.05$), para lo cual se utilizó el paquete estadístico SAS Institute (2004).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Prueba de Germinación

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de varianza del bioensayo de germinación en semillas de chile ancho (*Capsicum annuum*), sometidas a la aplicación de NPsMn_2O_3 , para la fuente de variación concentración, los resultados mostraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para las variables vigor de germinación, semillas sin germinar y longitud media de radícula, mientras que para las variables germinación fisiológica, y germinación agronómica indicaron diferencias significativas ($P < 0.05$). Las variables plantas anormales y peso seco de plántula no presentaron diferencias estadísticas (Cuadro 2).

Estos resultados indican que la aplicación de NPsMn_2O_3 influye en la respuesta de algunas de las variables evaluadas en este bioensayo, teniendo relación directa con el proceso de germinación. Al revisar los de comparación de medias, se comprenderá la respuesta de la aplicación de NPs en diferentes concentraciones al sustrato.

Al efectuar la comparación de medias por concentración de NPsMn_2O_3 (Cuadro 3), se observaron diferencias estadísticas para las variables porcentaje de germinación fisiológica, vigor, germinación, semillas sin germinar y longitud de radícula.

En la variable porcentaje de germinación fisiológica, de acuerdo al análisis de varianza diferencias altamente significativas entre concentraciones de NPsMn_2O_3 , teniendo un efecto superior (48%) la concentración de 100 ppm, sobrepasando al testigo que obtuvo 34%. La segunda concentración más alta fue 40 ppm reportando un 37%, las concentraciones de 30 y 50 ppm tuvieron menor efecto, ya que estas reportaron tan solo el 20 % de germinación. La germinación fisiológica, que marca la emergencia de la radícula, es importante por representar un parámetro de vigor.

Cuadro 2. Cuadrados medios de análisis de varianza de variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de chile ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn₂O₃).

FV	GL	GF (%)	VIGOR (%)	GERM (%)	PA (%)	SSG (%)	PS (mg/plántula)	GL	LV (cm)	LR (cm)
CONC	6	387.80*	859.80**	1681.90*	527.23NS	815.61**	0.04NS	6	0.57NS	53.60**
ERROR	21	133.52	126.66	487.61	385.52	106.66	0.54	376	0.20	3.58
CV%		35.63	52.17	40.04	59.24	88.16	15.86		29.48	32.21

**= Altamente significativos; *= Significativos; NS= No significativo; FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; GF= Germinación Fisiológica; Vigor, GER= Germinación; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántula; LV= Longitud media de vástago; LR= Longitud media de radícula; CONC= Concentración; CV= Coeficiente de variación.

Las demás concentraciones se mantuvieron en rangos muy cercanos al testigo (Anexo 1).

Los resultados antes señalados coinciden en cierta manera con Navarro (2009), quien indica que el vigor es considerado como la interacción que tienen las propiedades bióticas y abióticas que tienen un efecto en las semillas además de que determinan su comportamiento durante el tiempo y el nivel de actividad que presentan. Es por eso que el vigor no puede ser desvinculado como parte esencial de la calidad de semillas.

Por otro lado, el vigor es un parámetro muy importante en la calidad fisiológica de las semillas, ya que se puede entender como la capacidad que presentan las semillas para emerger aun en condiciones desfavorables (Hampton y Tekrony, 1995).

Juárez *et al.* (2016) aseguran que las NPs en la agricultura puede ser favorable ya que mejora el rendimiento y la calidad de frutos de las mismas.

Diversos estudios que se han desarrollado en donde se hacen uso de las aplicaciones de NPs en diferentes especies agrícolas indican que al menos las NPsZnO promueven la germinación y el crecimiento de las plántulas (Siddiqui *et al.*, 2015).

En otros trabajos realizados por Lin y Xing (2007), con la aplicación de diferentes tipos de NPs (nano tubos de carbono de paredes múltiples, zinc, óxido de zinc y aluminio), en seis especies (lechuga, maíz, centeno, rábano, colza y pepino) encontraron que las NPsZnO no afectan la germinación de las especies, excepto al maíz con una dosis de 2000 mg L⁻¹. Sin embargo, a concentraciones bajas, se promueve el crecimiento de las raíces en la mayoría de las especies estudiadas.

Cuadro 3. Comparación de medias para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de chile ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn₂O₃).

CONC	GF (%)	VIGOR (%)	GERM (%)	PA (%)	SSG (%)	PS (mg/plántula)	LV (cm)	LR (cm)
0	34 ab	32 a	79 a	16 a	5 b	4.69 a	1.56 a	7.43 a
10	33 ab	44 a	70 a	22 a	8 b	4.75 a	1.64 a	5.35 bc
20	35 ab	25 ab	67 ab	30 a	3 b	4.50 a	1.45 a	5.12 c
30	20 b	21 ab	42 ab	44 a	14 b	4.54 a	1.46 a	5.15 c
40	37 ab	22 ab	62 ab	34 a	4 b	4.77 a	1.66 a	6.36 ab
50	20 b	1 b	19 b	38 a	43 a	4.63 a	1.42 a	5.52 bc
100	48 a	6 b	47 ab	48 a	5 b	4.65 a	1.40 a	5.16 bc
Media	32	22	55	33	12	4.65	1.54	5.87
Tukey	26.56	25.87	50.76	45.13	23.74	1.70	43.08	43.08

Valores con la misma literal dentro de cada columna son estadísticamente iguales, Tukey (P≤0.05). GF= Germinación Fisiológica; Vigor, GER= Germinación; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántula; LV= Longitud media de vástago; LR= Longitud media de radícula.

Para la variable vigor de germinación (Cuadro 3), se observó diferencias con la aplicación de NPsMn_2O_3 , indicando que la concentración de 10 ppm obtuvo 44%, siendo el mayor valor, superado al testigo que presentó el 32%. Sin embargo, al incrementar la dosis de NPsMn_2O_3 , se redujo el porcentaje del vigor de germinación que se determinó al séptimo día.

En el porcentaje de germinación, el testigo presentó el mayor con 79, seguido de las concentraciones de 10 y 20 ppm (70% y 67%), respectivamente, al incrementar la concentración se redujo la tasa de germinación significativamente, ya que con las concentraciones de 50 y 100 ppm tan solo reportó el 1% y 6%, respectivamente (Anexo 1), por lo que se infiere el efecto fitotóxico de las NPsMn_2O_3 , en la germinación.

La variable plántulas anormales no reportó diferencias estadísticas, pero si hubo diferencias numéricas, el menor porcentaje lo obtuvo el testigo con un 16 %, al incrementar la concentración de NPsMn_2O_3 , se incrementó la tasa de plántulas anormales, el mayor porcentaje lo obtuvo la concentración de 100 ppm con un 48%, las demás concentraciones se mantuvieron entre estos valores. Los resultados confirman el efecto fitotóxico del Mn en forma de NPsMn_2O_3 .

En la variable semillas sin germinar, la comparación de medias indicó que la concentración de 50 ppm obtuvo el valor mayor con 43%, y la concentración de 20 ppm, la menor tasa de semillas sin germinar con 3%. Lo anterior indica un efecto negativo en la germinación.

La variable de peso seco de plántula no reportó diferencias estadísticas, sin embargo, numéricamente la concentración de 40 ppm tuvo el mayor peso con 4.77 mg/plántula, seguido la concentración de 10 ppm con 4.75 mg/plántula, y en tercera posición 100 ppm con 4.64 mg/plántula. Por otra parte, el testigo obtuvo el menor valor con 4.69 mg/plántula, y las demás concentraciones presentaron valores intermedios. Las NPsMn_2O_3 no presentaron efecto positivo en la variable de peso seco de plántula, ya que fueron estadísticamente iguales al testigo.

La longitud de vástago es de gran importancia ya que a mayor longitud de vástago mayor será su calidad y resistencia en cuanto al establecimiento de la plántula en campo o facilitándose su comercialización a productores.

Al realizar la comparación de medias, para analizar la variación de los tratamientos y determinar las diferencias entre ellos para conocer el efecto de las NPsMn_2O_3 sobre la longitud de vástago en Chile, no se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos, pero numéricamente sí se encontraron diferencias siendo la concentración 40 ppm la más alta con 1.66 cm, seguido de la concentración 10 ppm con 1.64 cm de longitud media de vástago, superando al testigo, el cual obtuvo un valor de 1.56 cm, las concentraciones 20, 30, 50, 100 ppm difirieron poco entre ellas las cuales presentaron valores de 1.45, 1.46, 1.42, y 1.40 cm respectivamente (Anexo 2).

La longitud de radícula es una característica de gran importancia para el productor, ya que, a mayor longitud, mayor será la capacidad de absorción de agua y de nutrientes por la plántula, lo que facilita el trasplante, tanto en la agricultura protegida como a campo abierto. El testigo obtuvo la mayor longitud con 7.47 cm, mientras que la concentración 40 ppm obtuvo el segundo lugar con 6.36 cm; por otra parte, las concentraciones 10, 20, 30, 50, 100 ppm, se mantuvieron estables entre ellas, con valores de 5.35, 5.12, 5.15, 5.52, y 5.16 cm respectivamente. Es importante mencionar, que la aplicación de NPsMn_2O_3 a altas concentraciones tuvo un efecto negativo en el desarrollo radicular (Anexo 2).

4.2. Medición de la tasa de asimilación de CO₂ (fotosíntesis).

Los cuadrados medios del análisis de varianza para parámetros relacionados al estudio de la actividad fotosintética, se presentan en el Cuadro 4. En la fuente de variación etapa (vegetativa o reproductiva), se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para las variables A (Fotosíntesis), g_s (Conductancia estomática), y C_i (CO₂ intercelular). Por otra parte, en la fuente de variación DOSIS de NPs, se encontraron diferencias altamente significativas en la variable E=Transpiración y diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para las variables A (tasa de asimilación de CO₂), y g_s (conductancia estomática).

Para la interacción, DOSIS * ETAPA se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la variable E (Transpiración) y diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para g_s (Conductancia estomática). Los resultados indican que los tratamientos evaluados modifican la capacidad del mesófilo para fijar CO₂.

El Cuadro 5 de comparación de medias, muestra diferencias estadísticas entre las etapas vegetativa y reproductiva, en que se realizaron las lecturas con el equipo Li-cor 64000, para las variables A (Fotosíntesis), g_s (Conductancia Estomática), C_i (CO₂ intercelular), obteniendo en todos los casos valores superiores en la etapa vegetativa. Para la variable E=Transpiración indica que ambas etapas mostraron un comportamiento estadísticamente igual (Tukey $P \leq 0.05$) (Anexos 3-6). La variable tasa de asimilación de CO₂, obtuvo un valor estadísticamente superior en la etapa vegetativa con 7.16 $\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, lo que demuestra una mayor capacidad en su actividad fotosintética (Anexo 3). Gui-Rui et al. (2004) indica que el mesófilo de la planta controla la asimilación de CO₂ lo cual marca la variabilidad entre variedades.

El mesófilo consiste principalmente del interior de una hoja, en ella se encuentran los cloroplastos donde se encuentra la clorofila, el cual es conocido como el procedimiento de elaboración y reserva, tiene varias funciones importantes.

Cuadro 4. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en invernadero relacionadas con la tasa de asimilación de CO₂ (fotosíntesis), en plantas de chile ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn₂O₃).

FV	GL	A μmol de CO ₂ m ⁻² s ⁻¹	g_s mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	C_i μmol CO ₂ mol aire ⁻¹	E mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹
ETAPA	1	26.47**	0.74**	8345.03**	0.09 _{NS}
DOSIS	6	3.20*	0.02*	381.59 _{NS}	9.58**
DOSIS*ETAPA	6	2.04 _{NS}	0.02*	561.82 _{NS}	9.13**
ERROR	67	1.25	0.01	346.48	2.95
CV		17.00	32.39	5.89	21.45

**= Altamente significativos; *= Significativos; NS= No significativo; FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; A= Fotosíntesis; g_s=Conductancia Estomática; C_i= CO₂ intercelular; E=Transpiración; CV= Coeficiente de variación.

El mesófilo es el lugar donde la planta absorbe la mayor parte del CO_2 y los espacios intercelulares permiten la circulación de aire, indispensable para un buen intercambio de gases para fotosíntesis, transpiración y respiración; también es responsable de almacenar la energía y nutrientes aunque pueden ser enviados a otro punto en la planta donde se necesitan; así mismo es un mecanismo de acumulación de CO_2 con el objetivo de disponer con reservas que puedan satisfacer la eficiencia de asimilación de la RUBISCO (enzima que reduce el CO_2) de forma suficiente y constante. (Mediavilla y Escudero, 2008).

La tasa de asimilación neta de CO_2 es una medida de la eficiencia del follaje, que es la principal fuente de fotoasimilados para la producción de materia seca. Este índice registra la velocidad de la fotosíntesis neta en un lapso de tiempo.

Con relación a g_s (conductancia estomática) se indica una mayor apertura estomática en la medición realizada en la etapa vegetativa con $0.27 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Anexo 4), lo cual se refleja en un valor mayor de C_i ($326.22 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol aire}^{-1}$), sin modificarse significativamente la tasa de transpiración (E). Sin embargo, E mostró un valor mayor en la etapa vegetativa.

Para soportar el estrés por sequía, las plantas cierran sus estomas para garantizar la turgencia y mantener el metabolismo celular. En la medida que estos se cierran, se reduce la tasa fotosintética, las plantas deben ajustar de forma constante su conductancia estomática para permitir suficiente entrada de CO_2 y evitar pérdidas de agua innecesarias durante el estrés.

El C_i es importante porque indica la eficiencia del mesófilo, esto es, si el C_i está siendo fijado, se espera un menor valor, sin embargo, si la g_s es alta, permite la entrada de CO_2 al espacio intercelular, manteniendo siempre una concentración de C_i , para que sea asimilado (Anexo 5).

Cuadro 5. Comparación de medias para las variables evaluadas relacionadas con la tasa de asimilación de CO₂ de plantas de chile ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsMn₂O₃.

Etapa	A μmol de CO ₂ m ⁻² s ⁻¹	g_s mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	C_i μmol CO ₂ mol aire ⁻¹	E mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹
Vegetativa	7.16 a	0.27 a	326.22 a	8.03 a
Reproductiva	6.02 b	0.21 b	305.97 b	7.97 a
Media	6.59	0.24	316.22	8
Tukey	0.49	0.04	8.26	0.76

Valores con la misma literal son estadísticamente iguales (Tukey, P≤0.05); A=Tasa de asimilación de CO₂ (Fotosíntesis); g_s=Conductancia Estomática; C_i= CO₂ intercelular; E= Tasa de Transpiración.

En ambas etapas (reproductiva y vegetativa), se observaron tasas altas de transpiración (E), teniendo una diferencia de $0.06 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, siendo superior la etapa vegetativa. Lo anterior indica que existe una pérdida significativa de H_2O , debido a la apertura de estomas, cuyo ajuste estomático tiene como objetivo regular la temperatura de la planta debido al aumento de irradiación (Anexo 6).

De acuerdo al Cuadro 6 de comparación de medias por concentración, indica que aplicar NPsMn_2O_3 probablemente se incrementa la activación de la enzima RUBISCO (Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa), la cual participa en la catálisis de dos procesos, la fijación de CO_2 a una forma orgánica y la fotorespiración, en la que actúa como oxigenasa, siendo más eficiente en la concentración de 50 ppm (Anexo 7), ya que se presenta un mesófilo con una alta tasa de asimilación de CO_2 (A) con $7.2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

El C_i presentó un comportamiento estadísticamente igual (Anexo 9) a través de concentraciones de NPsMn_2O_3 , sin ser afectado por las diferencias en la apertura estomática (Anexo 8). Sin embargo, las diferencias significativas en la g_s , si afectaron la tasa de transpiración (Cuadro 6, Anexo 10).

La capacidad fotosintética de una planta tiene relación con la cantidad de CO_2 fijado, que dará como consecuencia la síntesis de carbohidratos que serán utilizados por la planta para su desarrollo, el resto lo almacenan en las diferentes estructuras como raíces o frutos para ser utilizados en momentos críticos donde no sea posible realizar completamente la fotosíntesis. Los carbohidratos que sintetizan las plantas son utilizados para alimentar a las especies heterótrofas que no son capaces de elaborar su propio alimento; por lo tanto, cuando más fotosíntesis realiza una planta, más carbono estará fijando para convertirlas en biomoléculas, de donde los organismos heterótrofos extraen la energía necesaria para poder vivir (Ramesh, 2003).

Cuadro 6. Comparación de medias para las variables evaluadas relacionada con la tasa de asimilación de CO₂ en plantas de Chile Ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con NPsMn₂O₃.

DOSIS	A μmol de CO ₂ m ⁻² s ⁻¹	g_s mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹	C_i μmol CO ₂ mol aire ⁻¹	E mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹
0	5.60 b	0.172 b	308.91 a	6.25 b
10	5.46 ab	0.242 ab	316.58 a	7.97 ab
20	6.73 ab	0.270 ab	320.45 a	8.46 a
30	6.96 ab	0.296 a	322.27 a	8.77 a
40	6.68 ab	0.235 ab	307.58 a	7.89 ab
50	7.2 a	0.272 ab	320.54 a	9.01 a
100	6.57 ab	0.245 ab	318.41 a	7.84 ab
Media	6.59	0.24	316.22	8
Tukey	1.42	0.10	23.55	2.17

Valores con la misma literal son estadísticamente iguales Tukey (P≤0.05); A= Fotosíntesis (Tasa de asimilación de CO₂); g_s=Conductancia estomática; C_i= CO₂ intercelular; E=Transpiración.

Con el aumento de la tasa fotosintética existe la posibilidad de incrementar el rendimiento de muchos cultivos debido a que la biomasa seca producida por la planta está directamente relacionada con su capacidad fotosintética

Tanto los factores externos como los internos: temperatura, humedad relativa, radiación solar, disponibilidad de agua en el suelo, contenido de clorofila en las hojas, entre otros, regulan la capacidad fotosintética, por ende, conocer la tasa fotosintética de una planta, nos da una idea del rendimiento que se espera de dicha planta o cultivo el cual demostró Gutiérrez *et al.* (2000), ya que encontraron una relación positiva entre la tasa fotosintética y el rendimiento de grano en plantas de trigo.

4.3. Contenido de Clorofila

De acuerdo a los cuadrados medios del análisis de varianza para la variable contenido de clorofila (Cuadro 7), se obtuvo diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la fuente de variación ppm (partes por millón, dosis aplicadas al sustrato). Por otro lado, la fuente de variación hora de medición, y la interacción ppm*hora no presentaron significancia estadística.

En la comparación de medias por concentración (Cuadro 8), se obtuvieron valores diferentes de acuerdo con la Prueba Tukey ($P \leq 0.05$), la concentración de 50 ppm obtuvo el valor más elevado con 45.12 unidades spad, seguido de la concentración 100 ppm que obtuvo 42.52 unidades spad, las demás concentraciones se mantuvieron con valores menores, pero superaron al testigo, que obtuvo un valor de 39.51 unidades spad. De acuerdo a los resultados, indica que la fertilización aplicada es correcta, ya que presenta altos niveles de nitrógeno, el cual con ayuda de las NPs Mn_2O_3 incrementó la absorción, asimilación y metabolismo de nitritos (Pradha *et al.*, 2014) (Anexo 11).

Cuadro 7. Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable clorofila, en plantas de chile ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn₂O₃).

FV	GL	COLOROFLA
PPM	6	932.67**
HORA	2	47.89 _{NS}
PPM*HORA	12	9.24 _{NS}
ERROR	1488	31.11
CV		13.56

**= Altamente significativos; NS= No significativo; FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación.

Cuadro 8. Comparación de medias por concentración de NPs aplicadas al sustrato, para la variable clorofila, determinada en invernadero en plantas de Chile Ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn₂O₃).

CONC	COLOROFLA SPAD
0	39.51 d
10	40.08 cd
20	39.44 d
30	39.92 cd
40	41.08 bc
50	45.12 a
100	42.53 b
Media	41.13
Tukey	1.59

Valores con la misma literal son estadísticamente iguales Tukey (P≤0.05);

En la comparación de medias por hora de medición del contenido de clorofila (Cuadro 9), se observa que no hubo diferencia estadística entre tiempos de determinación del contenido de clorofila en unidades SPAD; en las diferencias numéricas se aprecia un incremento de los valores al transcurrir las horas después de la aplicación de NPsMn_2O_3 , obteniendo el máximo valor medio a las 48 horas, con 41.37 unidades spad (Anexo 18).

Cuadro 8. Comparación de medias de la variable clorofila por hora, evaluada en invernadero en plantas de Chile Ancho (*Capsicum annuum*), tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).

HORA	CLOROFILA SPAD
0	40.78 a
24	41.24 a
48	41.37 a
Media	41.13
Tukey	0.83

Valores con la misma literal son estadísticamente iguales Tukey ($P \leq 0.05$);

El contenido de clorofila en las plantas permite relacionarlo con su nivel nutricional, para realizar estas mediciones de manera rápida y sin causar algún daño a la hoja se realizan con el medidor SPAD-502, el cual permite que la medición sea posible directamente en campo, con el cual los valores obtenidos se muestran en unidades SPAD, teniendo una relación con la densidad de clorofila de la planta. Los valores varían entre plantas, inclusive, de una hoja a otra (Chang y Robison, 2003).

En un ensayo realizado por Mendoza *et al.* (1998), en el que demostraron que existe una alta relación entre el contenido de clorofila determinado a partir de unidades SPAD (SPAD-502), y el contenido de nitrógeno en las hojas de tomate, siendo una manera rápida de determinar el estado nutricional de la planta.

Moreno *et al.* (2008) al medir el contenido de clorofila en hojas de maíz, en su estudio concluyen que el contenido de este pigmento en la planta está estrechamente relacionado con el contenido de nitrógeno en las hojas. El contenido de clorofila en las plantas tiene estrecha relación con el índice de fotosíntesis y a su vez estos dos factores, influyen considerablemente en el rendimiento de una planta, tanto en su desarrollo como en el rendimiento final de la cosecha (López-Bellido *et al.*, 2004).

Ghafariyan *et al.* (2013) informaron que bajas concentraciones de NPsFe aplicadas foliarmente aumentan significativamente el contenido de clorofila en las hojas de soja cultivadas en condiciones de invernadero, lo que indica que este tipo de NPsFe puede ser utilizado como fuente de hierro.

Los cloroplastos tratados con NPsMn muestran una mayor fotofosforilación, evolución del oxígeno con respecto al control, a comparación de los cloroplastos tratados con Mn según lo determinan las técnicas biofísicas y bioquímicas, la división del agua por un complejo que desarrolla oxígeno se ve reforzada por NPsMn en el cloroplasto aislado, como lo confirman las técnicas polarográficas y espectroscópicas. Actividad mejorada de la proteína cp43 del fotosistema II (PS II), (Pradhan *et al.*, 2013).

4.4. Altura de Planta

De acuerdo a los cuadrados medios del análisis de varianza para variable altura de planta (Cuadro 10), se encontró diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las fuentes de variación Etapa fenológica de evaluación y PPM (Partes por millón); por otra parte, para la fuente de variación Etapa*PPM, no se observó diferencias significativas.

Cuadro 9. Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable agronómica altura de planta (AP), determinada en diferentes etapas en plantas de chile ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn₂O₃).

FV	GL	AP cm
Etapa	3	1961.40**
PPM	6	129.99**
Día *PPM	18	10.02 _{NS}
Error	194	8.58
CV		18.76

**= Altamente significativos; NS= No significativo; FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; AP= Altura de planta; CV= Coeficiente de variación.

En la comparación de medias por fecha, se observa aumento de la altura de planta ascendente en relación a las fechas de determinación (etapas fenológicas), indicando un crecimiento normal a través del tiempo (Cuadro 11, Anexo 12)

Cuadro 10. Comparación de medias por etapa fisiológica de la variable altura de planta, evaluada en invernadero en plantas de Chile Ancho (*Capsicum annuum*), tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn₂O₃).

Fecha	AP (cm)
1	10.60 d
2	12.64 c
3	15.23 b
4	24.14 a
Media	15.62
Tukey	1.44

Valores con la misma literal son estadísticamente iguales Tukey (P≤0.05); AP= Altura media de planta

El Cuadro 12 de comparación de medias por concentración, indica que la variable altura de planta fue superior con la aplicación al sustrato de NPsMn₂O₃ a

50 ppm (19.20 cm), superando al testigo con 4.46 cm; mientras que las concentraciones 0 y 10 ppm resultaron estadísticamente iguales, pero con diferencias numéricas, siendo superior la concentración de 10 ppm con 14.99 cm, mientras que el testigo presenta 14.74 cm. Las concentraciones 40 y 100 ppm, resultaron estadísticamente iguales, con diferencias numéricas, siendo superior la aplicación al sustrato de 40 ppm, sin embargo, ambas concentraciones superiores al testigo con 16.75 y 16.43 cm, respectivamente (Anexo 12).

Cuadro 11. Comparación de medias para la variable altura de planta, evaluada en invernadero, en plantas de Chile Ancho (*Capsicum annuum*), tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).

Dosis	AP (cm)
0	14.74 bc
10	14.99 bc
20	13.10 c
30	14.08 c
40	16.75 b
50	19.20 a
100	16.43 b
Media	15.62
Tukey	2.19

Valores con la misma literal son estadísticamente iguales Tukey ($P \leq 0.05$); AP= Altura media de planta.

Los resultados coinciden con un trabajo realizado con NPs de óxido de silicio (SiO_2), las cuales incrementan el crecimiento y desarrollo de las plantas de *Cucurbita pepo* e *Indocalamus barbatus*, promoviendo un aumento del intercambio de gaseoso, como la tasa fotosintética neta, la transpiración, conductancia estomática y el transporte de electrones (Siddiqui *et al.*, 2014).

El zinc como nanofertilizante en dosis de 10 mg L^{-1} ha promovido mayor crecimiento en plantas de mijo (*Pennisetum americanum*), así como una mayor producción de biomasa seca, longitud de raíz, contenido de clorofila y rendimiento de grano (Tarafdar *et al.*, 2014). Otros discrepan con sus resultados, señalando

que el exceso de NPs metálicas causa una reducción significativa en el contenido de la clorofila de plantas (Rao *et al.*, 2014).

4.5. Diámetro de tallo

De acuerdo a los cuadrados medios del análisis de varianza para la variable diámetro de tallo (DT, Cuadro 13), no se observaron diferencias significativas entre concentraciones de NPs Mn_2O_3 .

Cuadro 12. Cuadros medios del análisis de varianza para la variable diámetro de tallo (DT), en plantas de chile ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con nanopartículas de óxido de manganeso (Mn_2O_3).

FV	GL	DT mm
CONC	6	0.51 _{NS}
ERROR	48	0.47
CV		16.40

NS= No significativo; FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; CV= Coeficiente de variación; DT = Diámetro de tallo.

En la comparación de medias por concentración (Cuadro 14), se presentan diferencias numéricas no significativas, la concentración 50 ppm obtuvo el mayor valor con 4.61 mm, superando al testigo, el cual obtuvo un valor de 4.34 mm, las demás concentraciones fueron inferiores al testigo siendo la concentración 30 ppm la que presentó el menor resultado con 3.83 mm.

Cuadro 13. Comparación de medias por concentración de la variable diámetro de tallo (DT), evaluada en invernadero en plantas de Chile Ancho (*Capsicum annuum*) tratadas con Nanopartículas de Óxido de Manganeso (Mn_2O_3).

CONC	DT (mm)
0	4.34 a
10	4.27 a
20	3.99 a
30	3.83 a
40	4.16 a
50	4.61 a
100	4.16 a
Media	4.19
Tukey	1.07

Valores con la misma literal son estadísticamente iguales Tukey ($P \leq 0.05$);

Se ha reportado que las NPs metálicas de manganeso (NPsMn) son una mejor fuente de micronutrientes, que las sales tradicionales como el sulfato de Mn, que se encuentra disponible en el mercado. Pradhan *et al.* (2013) señalan que las NPsMn incrementan el crecimiento de leguminosas (*Vigna radiata*) y observaron también que las plantas incrementaron su actividad fotosintética. La aplicación de NPsMn en 0.05 mg L^{-1} aumentó el crecimiento de las plantas, respecto al tratamiento control (sin Mn). También reportaron un incremento de la longitud de la longitud del tallo (38%), raíz (52%), número de raíces (71%), biomasa fresca (38%) y biomasa seca (100%).

V. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que las NPsMn_2O_3 aplicadas durante la imbibición de semillas de *Capsicum annuum* Variedad San Luis, causan un efecto fitotóxico, reduciendo el porcentaje de vigor, de germinación y el desarrollo de plántula.

Por otra parte, la aplicación de NPsMn_2O_3 al sustrato, tiene un efecto positivo en la tasa de asimilación de CO_2 , sobre todo en la etapa vegetativa, superando los valores de la etapa reproductiva.

Las NPsMn_2O_3 aplicadas al sustrato (50 ppm) en forma de suspensión, incrementan la eficiencia del mesófilo, posiblemente aumentando la activación de la enzima RUBISCO, incrementando la tasa de asimilación de CO_2 (fotosíntesis) hasta $7.2 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

La aplicación de NPsMn_2O_3 al sustrato (50 ppm) promueve el incremento del contenido de clorofila en las hojas de plantas de chile ancho.

El uso de NPsMn_2O_3 en forma de suspensión a 50 ppm, aplicadas al sustrato, incrementa la altura de planta de chile ancho.

VI. LITERATURA CITADA

- Andrade, F., A. Cirilo., S. Uhart y M. Otegui. 1996. Ecofisiología del cultivo de maíz. Unidad Integrada FCA-INTA Balcarce. Dekalb Press. Editorial La Barrosa. 292.
- Araus, J., T. Amaro., J. Casadesus, A. Asbati. and M. Nachit. 1998. Relationships between ash content, carbon isotope discrimination and yield in durum wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 835- 842
- Bhattacharyya, A., Chandrasekar, R., Kumar, C.A., Epedi, T.T. and Shetty, P. 2014. Application of nanoparticles in sustainable agriculture: Its current status. The international mission of the book. Volume 2: 429-448.
- Buchanan, B., W. Gruissem., R. Jones. 2000. Biochemistry and molecular biology of plants. American Society, of Plant Physiologists Maryland. 1367.
- Cárdenas, C. R. 2012. Evaluación de las propiedades físicas y fotocatalíticas de cemento adicionado con nanopartículas de dióxido de titanio. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Minas Medellín, Colombia. 118.
- Chang, S. X., and D. J. Robison. 2003. Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD-502 chlorophyll meter. *Forest Ecology and Management*, 181(3), 331-338.
- Chithrani, D., A. Arezou., and W.C. Chan. 2006. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano Letters*, 6: 662–668.
- Clarkson, D. T. 1988. The uptake and translocation of manganese by plant roots. In: R.D. Graham, R.J. Hannam, N.J. Uren. (eds). *Manganese in Soil and Plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 101-111.

- Cushen, M., J. Kerry., M. Morris., M. Cruz-Romero., and E. Cummins. 2012. Nanotechnologies in the food industry-Recent developments, risks and regulation. *Trends in Food Science and Technology*. 24(1):30-46.
- De la Rosa, I. M. 1997. *Apuntes de Fisiología Vegetal*. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Buenavista, Saltillo, Coah. Méx. 22 p.
- Delgado, G. C. 2007. Nanotecnología: Avances y retos. *Ciencia y Desarrollo*. 206 p.
- Dietz, K. J., and S. Herth, S. 2011. Plant nanotoxicology. *Trends in Plant Science*. 16 (11): 582-589.
- Dubey, A., and D. R. Mailapalli. 2016. Nanopertilisers, nanopesticides, nanosensors of pest and nanotoxicity in agriculture. In *Sustainable Agriculture Reviews*. 307-330.
- Ducic, T., and A. Polle. 2005. Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17, 103-112.
- Eichert, T., A. Kurtz., U. Steiner, and H. E. Goldbach. 2008. Size exclusion limits and lateral heterogeneity of the stomatal foliar uptake pathway for aqueous solutes and water-suspended nanoparticles. *Physiologia Plantarum*. 134(1):151-160
- Fages, S. E. 2012. Investigación de fibras de polipropileno aditivas con nanoparticulas de plata para la mejora de propiedades bioactivas en el sector textil. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. 399.
- Farokhzad, O. C., and R. Langer. 2009. Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano* 3: 16–20.
- Foladori G. y N. Invernizzi. 2008. *Nanotecnologías en la alimentación y en la agricultura*. Universidad de la República, Comisión Sectorial de Extensión y Actividades en el Medio. Montevideo, Uruguay. 116.

- Foy, C. D., R.L. Chaney., and M. C. White. 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 29, 511-556
- Ghafariyan, M. H., M. J. Malakouti., M. R. Dadpour., P. Stroeve., and M. Mahmoudi. (2013). Effects of magnetite nanoparticles on soybean chlorophyll. *Environmental science & technology*, 47(18), 10645-10652.
- Gherardi M. J., and Z. Rengel. 2003 Genotypes of lucerne (*Medicago sativa* L.) show differential tolerance to manganese deficiency and toxicity when grown in bauxite residue sand. *Plant Soil* 249, 287–296.
- Gordon, R. H. y J. A. Barden. 1992. *Horticultura*. AGT Editor, S.A. México. D.F
- Goussias, C., A. Boussac., and W. Rutherford. 2002. Photosystem II and photosynthetic oxidation of water: an overview. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 357, 1369-1381.
- Gui-Rui, Y., W. Qiu-Feng., and J.I.E. Zhuang. 2004. Modeling the water use efficiency of soybean and maize plants under environmental stresses: application of a synthetic model of photosynthesis-transpiration based on stomatal behavior. *J. Plant Physiol.* 161(3): 303-318.
- Gutiérrez, R. M., M. P. Reynolds., and A. Larque-Saavedra (2000). Photosynthesis of wheat in a warm, irrigated environment. ii. Traits associated with genetic gains in yield. *Field Crop Res.* 66: 51-62.
- Gutteridge, S. and J. Pierce. 2006. A unified theory of the basis for the limitations of the primary reaction of photosynthetic fixation: *Pro. Natl. Acad. Sci.* 103. 2-74
- Hampton, J.G. and D.M. Tekrony. 1995. *Handbook of vigour test methods*. 3rd Edition. International Seed Testing Assoc. Zürich, Switzerland. pp.117.
- Houtz, R. L., R. O. Nable., and G. M. Cheniae. 1988. Evidence for effects on the in vivo activity of ribulose-biphosphate carboxylase/oxygenase during development of Mn toxicity in tobacco. *Plant Physiol.* 86, 1143-1149.

- Humphries, J., J. Stangoulis., and R. Graham. 2007. Manganese. In: A. Barker, D. Pilbeam (eds). Handbook of Plant Nutrition, Taylor and Francis, USA, 351-366.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2004. International rules for seed testing. Ed. 2004. Bassersdorf, CH-Switzerland. 700
- Jaiswal, M., D. Chauhan., and N. Sankaramakrishnan. 2012. Copper chitosan nanocomposite: synthesis, characterization, and Application in removal of organophosphorous pesticide from agricultural runoff. Environmental Science and Pollution Research. 2055-2062
- Juárez, A., H. Ortega Ortiz, F. Pérez Labrada, G. Cadenas Pliego, and A. Benavides Mendoza. 2016. Cu Nanoparticles absorbed on chitosan hydrogels positively alter morphological, production, and quality characteristics of tomato. Journal of Applied Botany and Food Quality 89:183-189.
- Karl-Josef. D., and S. Herth. 2011. Plant nanotoxicology. Trends in Plant Science. 16 (11): 582-589.
- Kochian, L., O. Hoekenga., and M. Pineros. 2004. How do crops plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorus efficiency. Annu. Rev. Plant Biology. 55,459-93.
- Larcher, W. 1983. Physiological Plant Ecology. Springer-Verlag.
- Lidon, F. C., M. Barreiro., and J. Ramalho. 2004. Manganese accumulation in rice: implications for photosynthetic functioning. J. Plant Physiol. 161, 1235-1244.
- Lin D., and B. Xing. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution. pp. 247–249

- Liu, R., and R. Lal. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the total environment*. 131-139.
- Lopez-Bellido, R. J., C. E. Shepherd., and P. B. Barraclough. 2004. Predicting post-anthesis N requirements of bread wheat with a Minolta SPAD meter. *European Journal of Agronomy*, 20(3), 313-320.
- Ludlow, M. and R. Muchow. 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yields in waterlimited environments. *Advances in Agronomy* 43: 107-151.
- Maas E., D. Moore 1968. Manganese absorption by excised barley roots. *Plant Physiol.* 43, 527-530.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, San Diego, 889.
- Marschner, H. 1998. *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press, San Diego, CA. 313-396.
- Mediavilla, G. y A. Escudero. 2008. Limitaciones estomáticas y mesofílicas de la fotosíntesis en plántulas y árboles maduros de *Quercus faginea*. *Sociedad Española de Ciencias Forestales* 28:291-296.
- Mendoza, M., G. A. González., A. A. Satelices., J. D. Etchevers., y J. A. Ricón. (1998). Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. *Terra*, 16, 135-141.
- Monreal, C. M., DeRosa, M., Mallubhotla, S. C., Bindraban, P. S., and Dimkpa, C. 2015. Nanotechnologies for increasing the crop use efficiency of fertilizer-micronutrients. *Biology and Fertility of Soils*. 1: 1-15.
- Moreno, S. G., H. P. Vela., y M. Álvarez. 2008. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(4), 119-129.

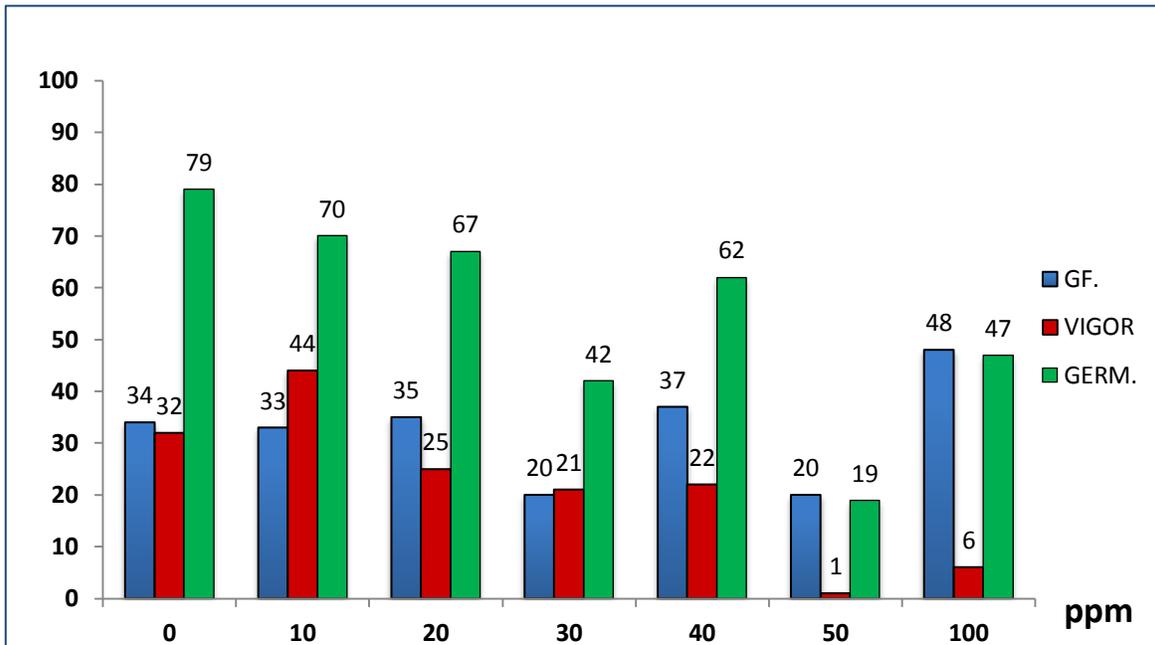
- Mukhopadhyay M., A. Sharma. 1991. Manganese in cell metabolism of higher plants Bot. Rev. 57, 117-149.
- Naderi, M. R., and A. Danesh-Shahraki. 2013. Nanofertilizers and their roles in sustainable agriculture. International Journal of Agriculture and Crops Sciences. 5(19):2229-2232.
- Navarro, M. (2009). Interactive behavior of germination, dormancy, emergence and initial growth as biological attributes to evaluate the vigor of the seeds of *Albizia lebbek* (L.) Benth. PhD Thesis. Agrarian University of Havana. Cuba. p.101.
- Ness, P. J., Woolhouse, and H.W. 1980. RNA synthesis in *Phaseolus* chloroplasts. I. Ribonucleic acid synthesis in chloroplast preparation from *phaseolus vulgaris* L. leaves and solubilization of the RNA polymerase. J. Exp. Bot. 31,223-233.
- Pandey, A. C., S. Sanjay., and R. S. Yadav 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. Journal of Experimental nanoscience. 488-497
- Pendías, K., and H. Pendías. 1992. Trace elements in soils and plants. USA, CRR Press, 365
- Pérez, E., y C. Urria. 2009. Fotosíntesis: aspectos básicos. Facultad de ciencias biológicas. Universidad Complutense De Madrid
- Perry, D. A. 1972. Seed vigour and field establishment. Hort. Abstr. 42: 334-342.
- Pfeffer, P. E., S. Tu., W.V. Gerasimowicz., and J.R. Cavanaugh. 1986. In vivo ³¹P NMR studies of corn root tissue and its uptake of toxic metals. Plant Physiol. 80, 77-84.
- Pradhan S., P. Patra., S. Das., S. Chandra., S. Mitra., K. Kumar-Dey., S. Akbar., P. Palit., and A. Goswami. (2013). Photochemical Modulation of Biosafe Manganese Nanoparticles on *Vigna radiata*: A Detailed Molecular,

- Biochemical, and Biophysical Study. *Environmental Science & Technology*. 47 (22), 13122-13131
- Pradhan, S., P. Patra., S. Das., S. Chandra., S. Mitra., K. K. Dey., and A. Goswami. 2013. Photochemical modulation of biosafe manganese nanoparticles on *Vigna radiata*: a detailed molecular, biochemical, and biophysical study. *Environmental Science & Technology*, 47(22), 13122-13131.
- Pradhan, S., P. Patras., S. Mitra., K. K. Dey., S. Jaint., S. Samapd., S. Roy., P. palit., and A. Goswami. 2014. Manganese Nanoparticles: Impact on Non-nodulated Plant as a Potent Enhancer in Nitrogen Metabolism and Toxicity Study both in Vivo and in Vitro *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 62 (35), 8777–8785
- Prasad, R., V. Kumar., and K. Suranjit Prasad. 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: Present concerns and future aspects. *African Journal of Biotechnology*. 13(6):705-713.
- Quispe, C. 2010. Nanotecnología en la agricultura. *Revista de información, tecnología y sociedad*. 72-73.
- Ramesh, H. P., and R. N. Tharanathan. 2003. Carbohydrates—the renewable raw materials of high biotechnological value. *Critical Reviews in Biotechnology*, 23(2), 149-173
- Rao, S., and S. G. Shekhawat. 2014. Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*, *J. Environ. Chem. Eng.* 2: 105–114.
- Rehman, H., T. Aziz., M. Farooq., A. Wakeel., Z. Rengel. 2012. Zinc nutrition in rice production systems: a review. *Plant and soil*. 203-226.
- Sabir, S., M. Arshad., and S.K. Chaudhari. 2014. Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: Synthesis and applications. *The Scientific World Journal*. 2014(1):1-8.

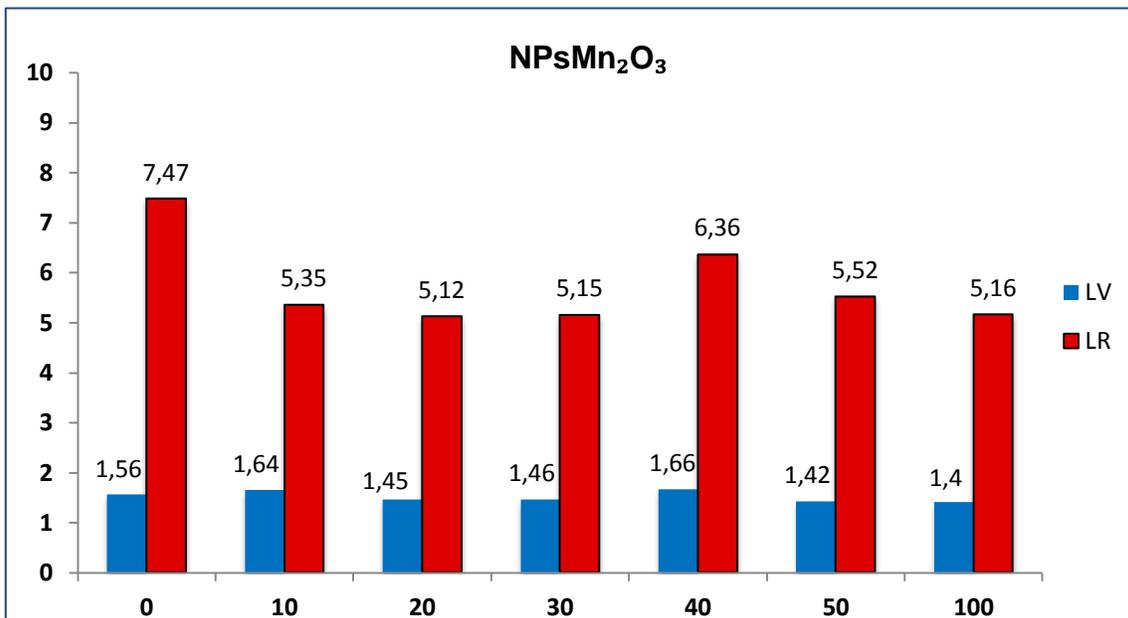
- Sabourin, V., and A. Ayande. 2015. Commercial Opportunities and Market Demand for Nanotechnologies in Agribusiness Sector. *Journal of Technology Management and Innovation*. 10(1):40-51.
- Salisbury, B. F., and W. C. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal. Métodos de intercambio de gases*. Grupo Ed. Iberoamericano. 664.
- Samrat, R., G. Mahua., M. Amrita., C. Dipankar., P. Moumita., P. Saheli., G. Arunava. 2011. "Surface-modified sulfur nanoparticles: an effective antifungal agent against *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*". *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol 90, N. 2. 733-743.
- Schreiber, L. 2011. Transport barriers made of cutin, suberin and associated waxes. *Trends in Plant Science*. 15 (10): 1-553.
- Schubert, T. S. 1992. Manganese toxicity of plants in florida. *Plant Pathol. Circ*. 353.
- Servin, A., W. Elmer., A. Mukherjee., R. De la Torre-Roche., H. Hamdi., J. C. White., and C. Dimkpa, 2015. A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(2), 1-21.
- Shyla, K., and N. Natarajan. 2014. Customizing zinc oxide, silver and titanium dioxide nanoparticles for enhancing groundnut seed quality. *Indian Journal of Science and Technology*. 1376-1381
- Siddiqui M. H., M. H. Al-Whaibi, M. Firoz and M. Y. Al-Khaishany. 2015. Role of Nanoparticles in Plants. In Siddiqui M. H., M. H. Al-Whaibi, M. Firoz, *Nanotechnology and Plant Science: Nanoparticles and Their Impact on Plants*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. pp. 19-35.
- Siddiqui, M. H., and M. H. Al-Whaibi. 2014. Role of nano-SiO₂ in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* seeds Mill.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(1), 13- 17

- Takahashi, M., and M. Sugiura. 2001. Strategies for uptake of a soil micronutrient, manganese, by plant roots. *Riken Review* 35, 76-77.
- Tarafdar, J. C., R. Raliva., H. Mahawar., and I. Rathore. 2014. Development of zinc nanofertilizer to enhance crop production in pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research*, 3(3), 257-262.
- Vargas M., Y. H. Ochoa., Y. Ortigón., P. Mosquera., J. E. Rodríguez y J. Camargo. 2011. Nanopartículas de TiO₂, fase anatasa, sintetizadas por métodos químicos, ingeniería y desarrollo. *Universidad del Norte*, 29(2): 1-172
- Wallace, A., G. V. Alexander., and F.M. Chaudhry. 1977. Phytotoxicity and some interactions of the essential trace metals iron, manganese, molybdenum, zinc, copper, and boron. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 8(9), 741-50.
- Xingmao, M., J. Geiser-Lee., D. Yang., and A. Kolmakov. 2010 Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of the Total Environment.* 408 (16): 3053–3061.
- Yadav, A. S., and D. S. Srivastava. 2015. Application of nano-technology in weed management: A Review. *Research & Reviews: Journal of Crop Science and Technology.* 21-23
- Zhen, Z., and J. Xie. 2012. Development of Manganese-Based Nanoparticles as Contrast Probes for Magnetic Resonance Imaging Theranostics. 2(1): 45–54.
- Zouni, A., H. Witt., J. Kern., P. Fromme., N. Kraub., W. Saenger, and P. Orth. 2001. Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 Å resolutions. *Nature* 409, 739-743.

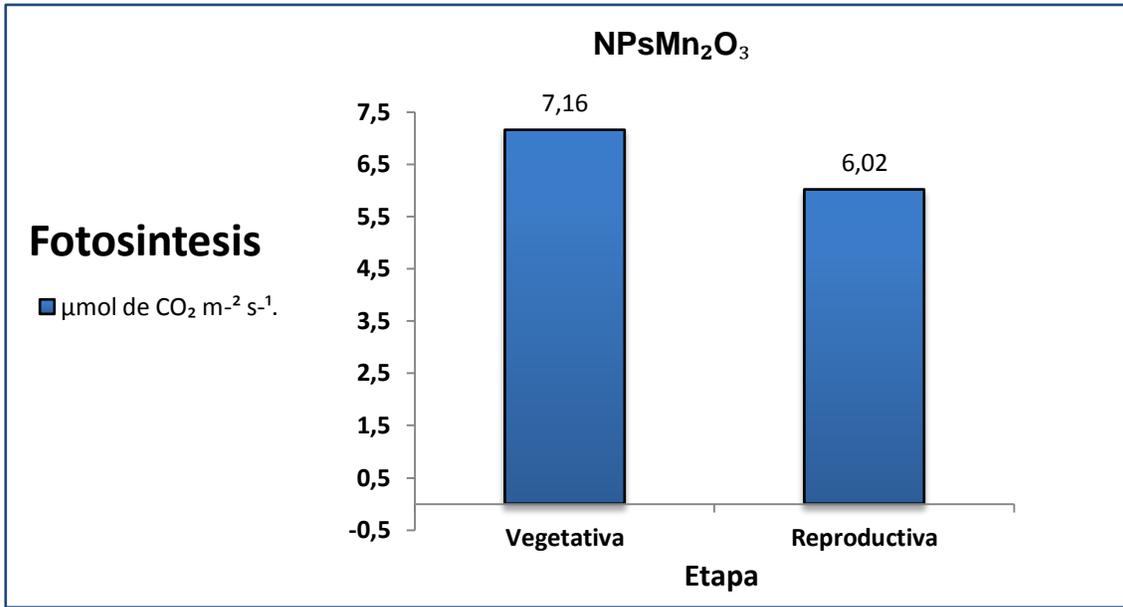
VII. ANEXOS



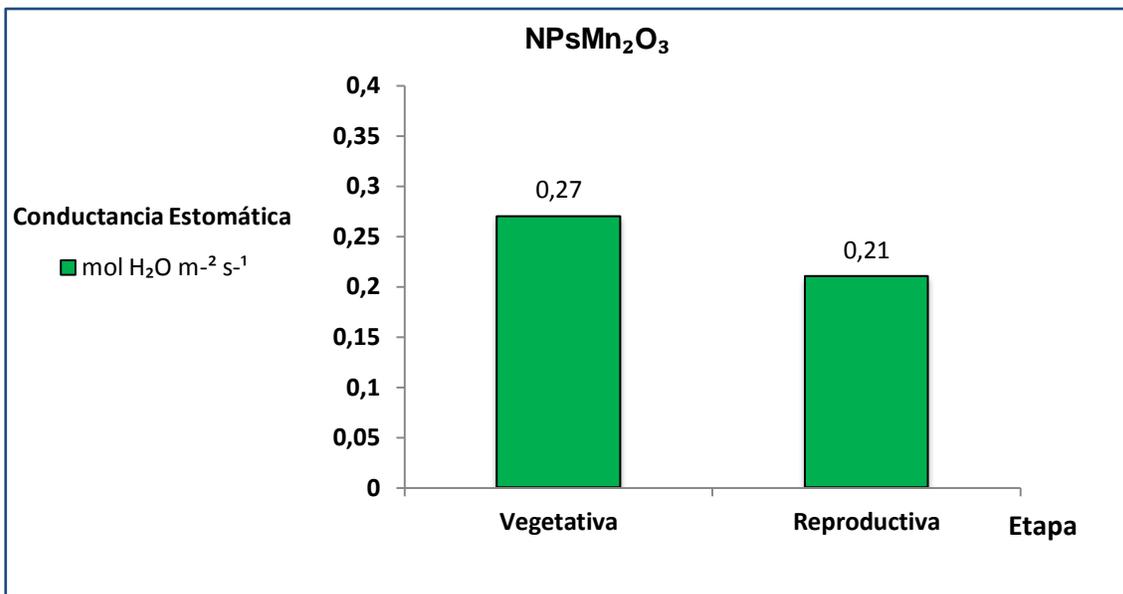
Anexo 1. Porcentaje de germinación fisiológica, vigor de germinación y germinación de semillas tratada con NPsMn₂O₃ a diferentes concentraciones.



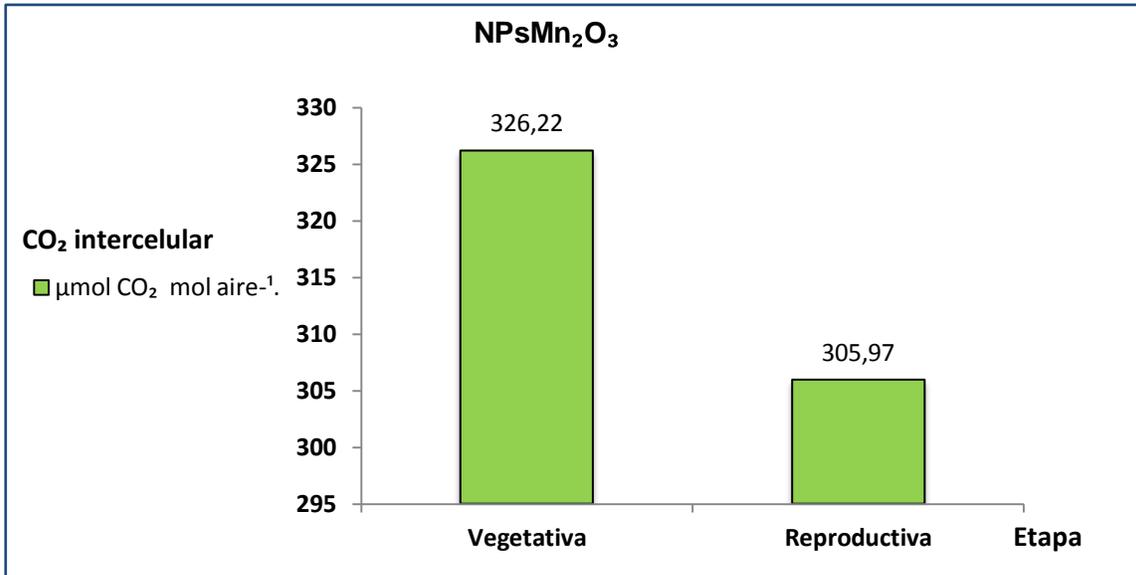
Anexo 2. Longitud vástago y longitud de radícula de plántulas derivadas de semilla tratada con NPsMn₂O₃ a diferentes concentraciones.



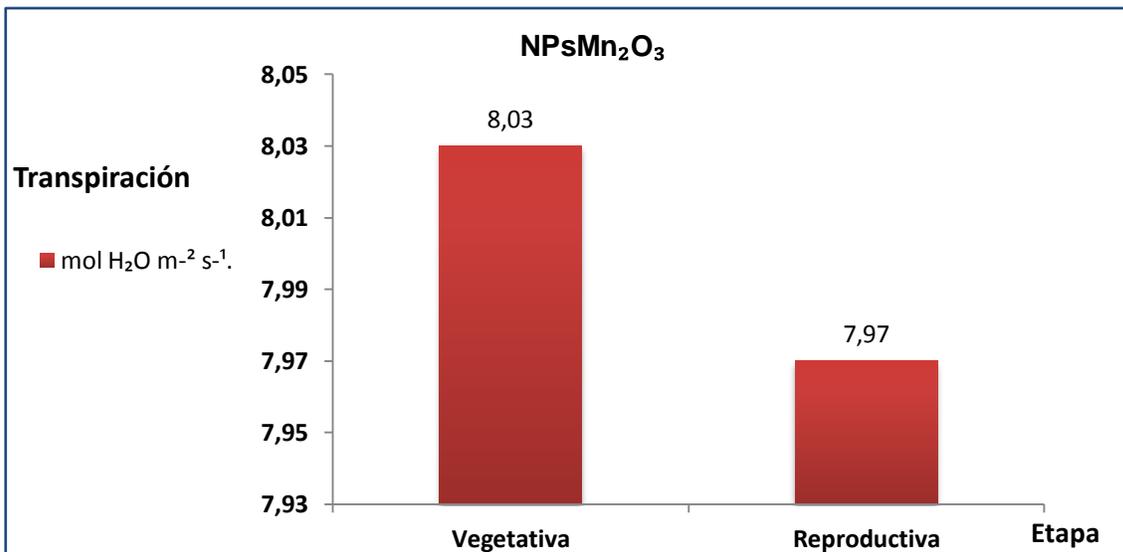
Anexo 3. Comparación de la tasa de asimilación de CO_2 en diferentes etapas fenológicas en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3



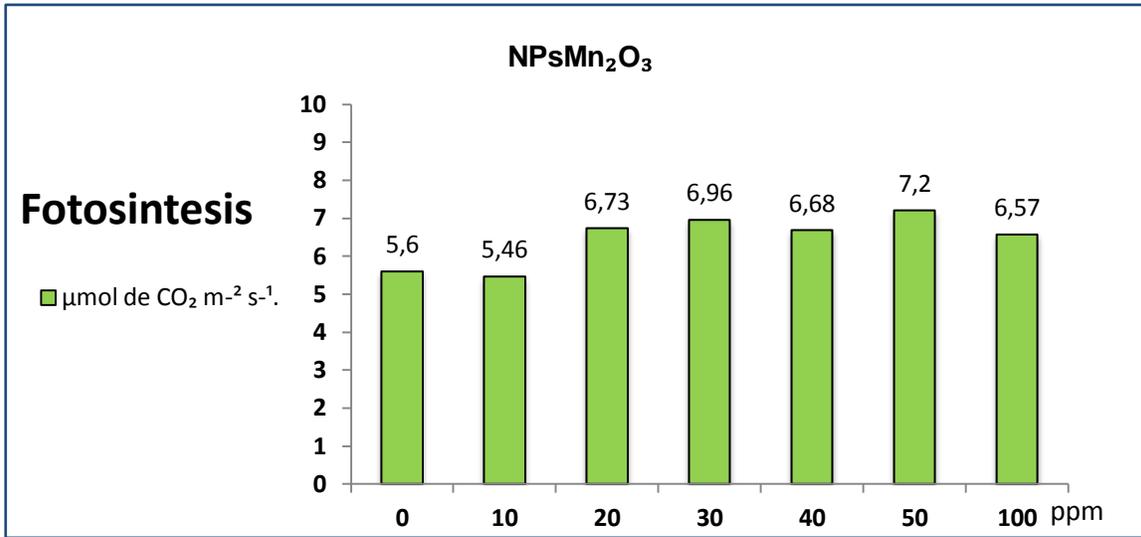
Anexo 4. Comparación de la conductancia estomática en diferentes etapas fenológicas en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3



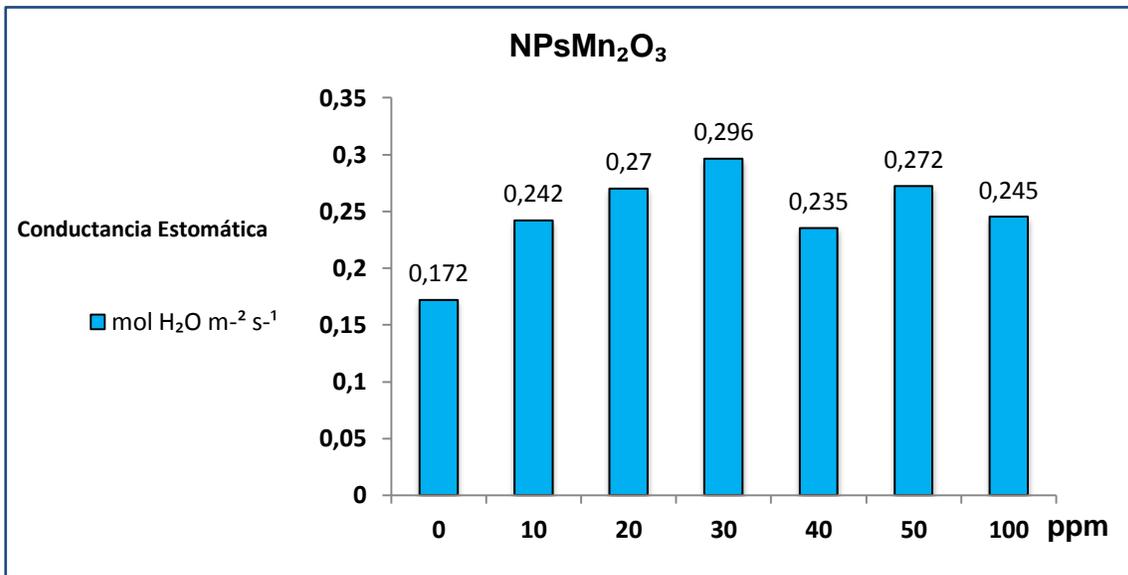
Anexo 5. Comparación del CO₂ intercelular determinado en diferentes etapas fenológicas en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn₂O₃



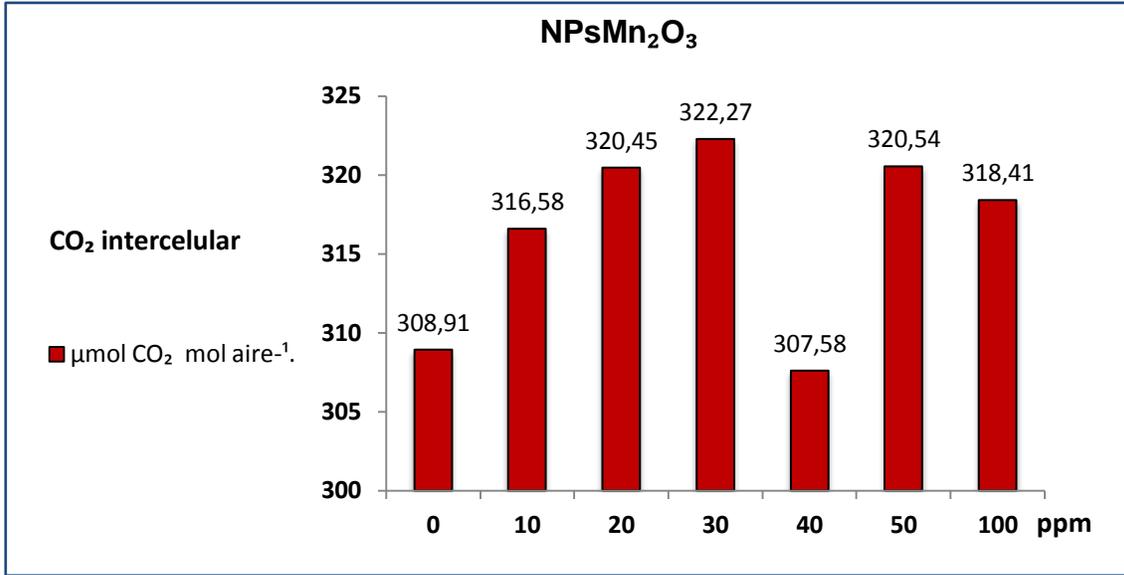
Anexo 6. Comparación de la tasa de transpiración (E) en diferentes etapas fenológicas en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn₂O₃



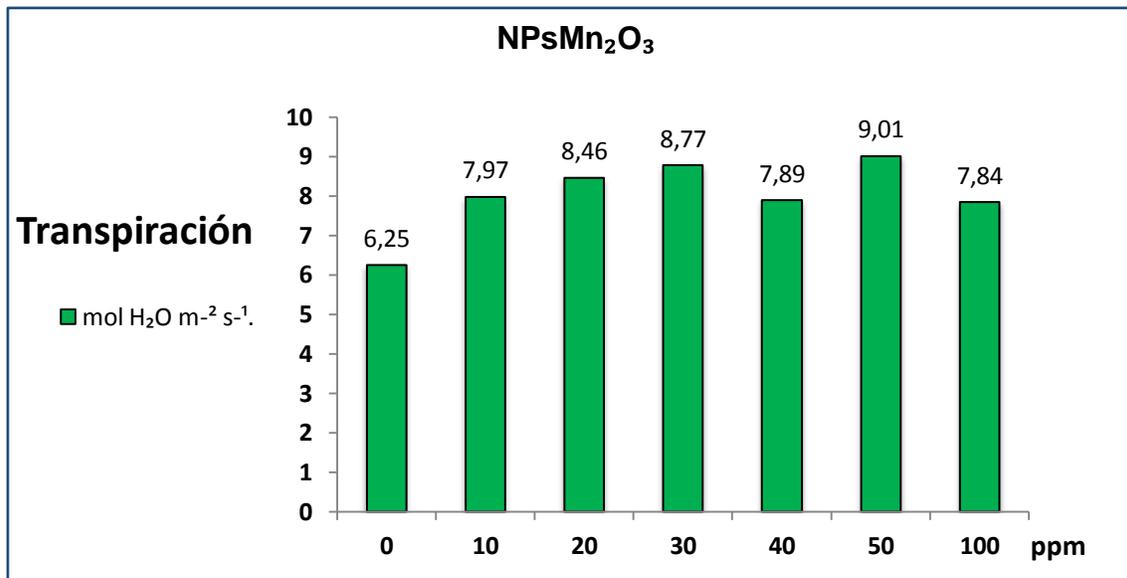
Anexo 7. Comparación de la tasa de asimilación (fotosíntesis) en plantas de chile ancho tratadas con diferentes concentraciones NPsMn₂O₃



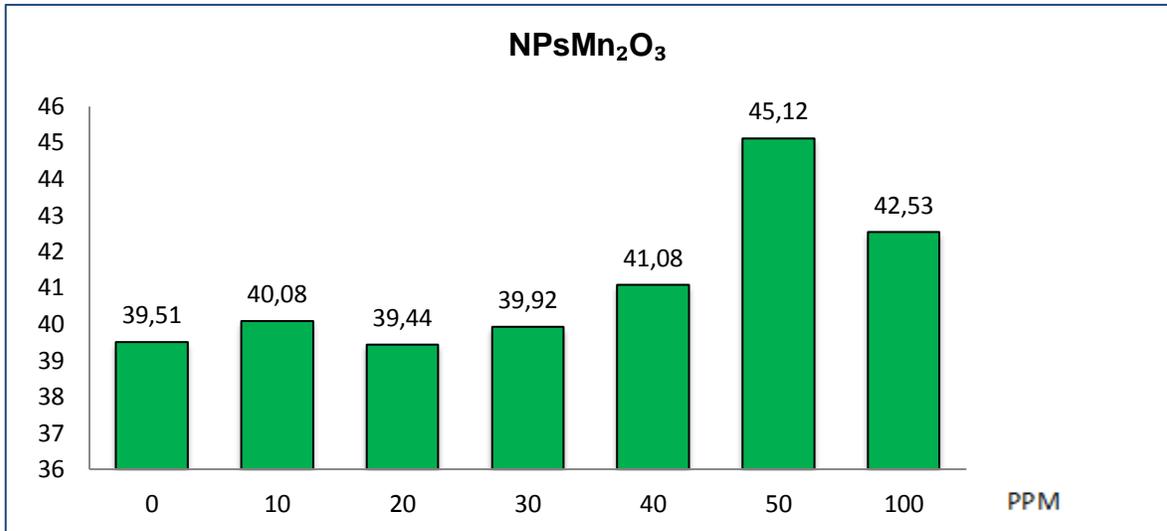
Anexo 8. Comparación de la conductancia estomática de plantas de chile ancho tratadas con diferentes concentraciones NPsMn₂O₃



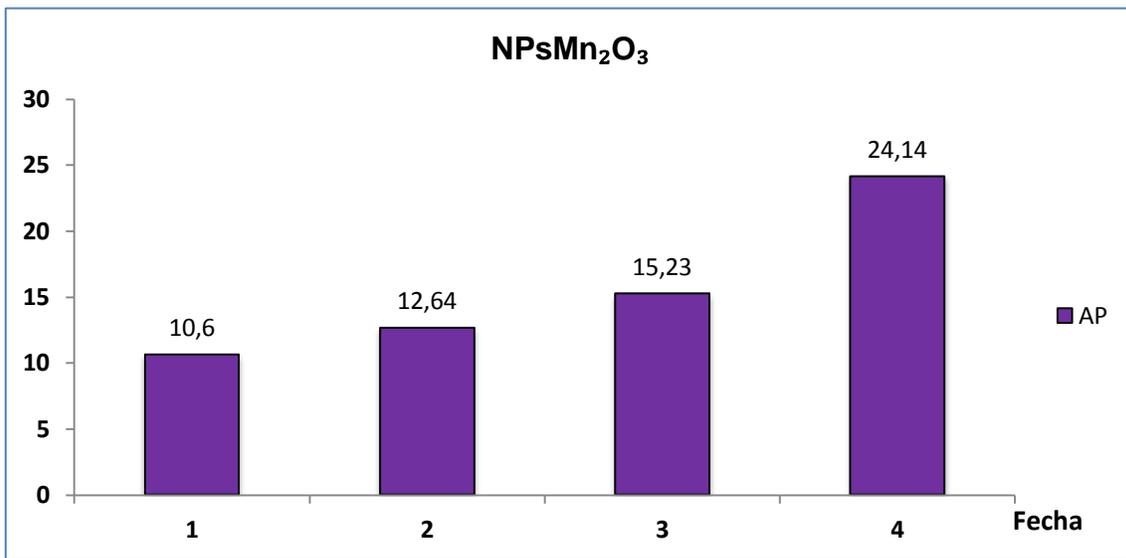
Anexo 9. Efecto de tratamientos con NPsMn₂O₃ en la concentración de CO₂ intercelular en plantas de chile ancho.



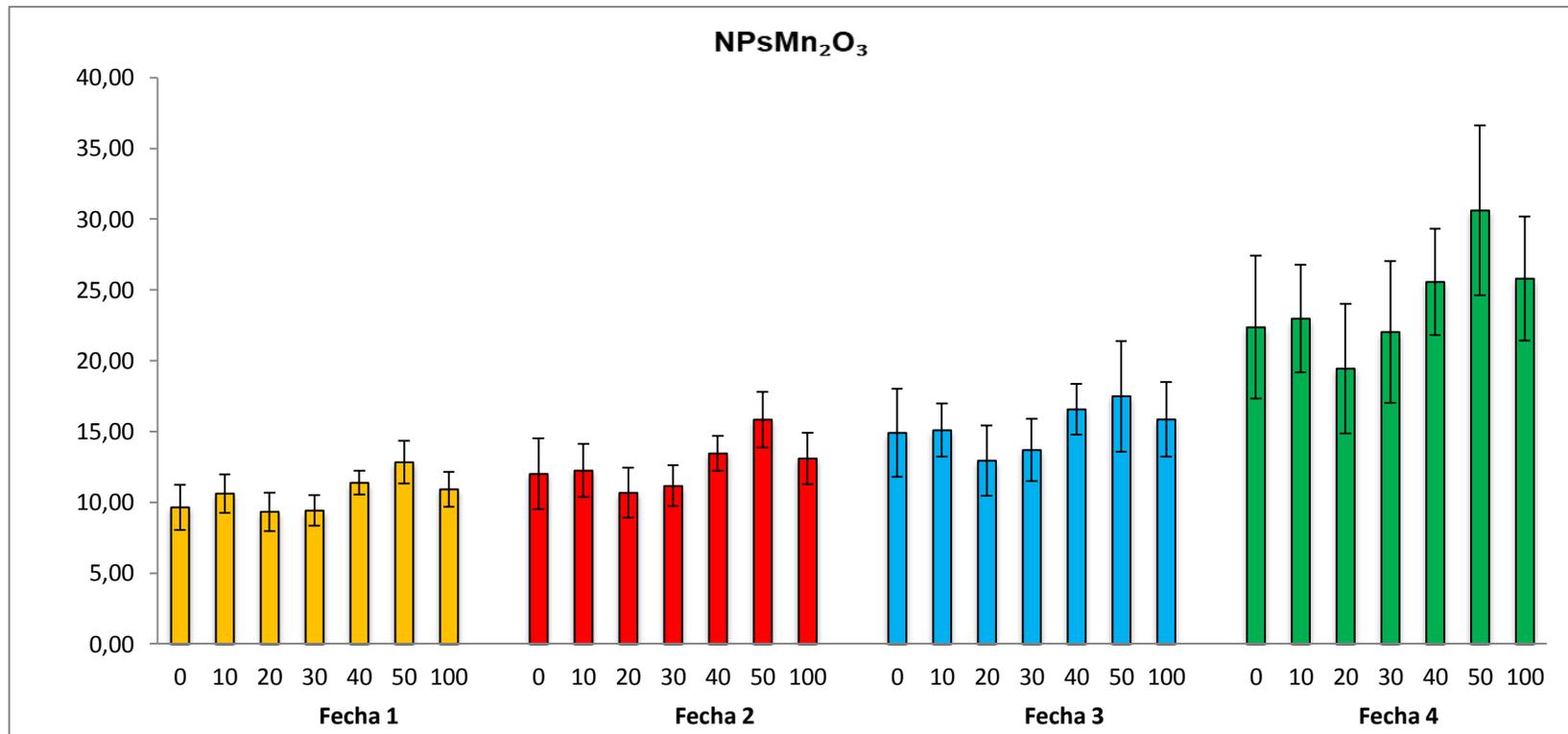
Anexo 10. Efecto de tratamientos con NPsMn₂O₃ en la tasa de transpiración en plantas de chile ancho.



Anexo 11. Comparación de niveles de clorofila en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3 .



Anexo 12. Altura media de planta en cm, en diferentes etapas fenológicas de evaluación, en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn_2O_3 .



Anexo 13. Altura media de planta en cm, determinada en cuatro diferentes etapas fenológicas, en plantas de chile ancho tratadas con NPsMn₂O₃.