

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Comparación De Los Efectos De Diferentes Dosis De Nanopartículas De Plata Sobre Variables Fisiológicas De La Germinación y De Crecimiento De Plántulas De Tomate (*Solanum lycopersicum*).

Por:

ISAIAS SALAS ALCALÁ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Septiembre 2022.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Comparación De Los Efectos De Diferentes Dosis De Nanopartículas De Plata Sobre Variables Fisiológicas De La Germinación y De Crecimiento De Plántulas De Tomate (*Solanum lycopersicum*).

Por:

ISAIAS SALAS ALCALÁ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

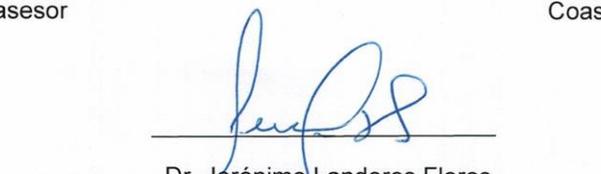
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Asesor Principal


M.C. Myrna Julieta Ayala Ortega
Coasesor


M.C. Hilda Cecilia Burciaga Dávila
Coasesor


Dr. Jerónimo Landeros Flores
Coordinador Interino de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Septiembre 2022

Declaración de no plagio

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes.

Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.

Pasante

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and a central mark, positioned above a horizontal line.

Firma y nombre

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por siempre darme fuerzas, salud y guiarme por un buen camino para lograr cada una de mis metas, por darme lo que ahora tengo y cuidar de mi a toda parte que voy.

A mis padres:

La Sra. Verónica Alcalá Estrada y Sr. Fernando Antonio Murillo C.

A ustedes por brindarme el cariño incondicional, por el tiempo que dedicaron en mí, las enseñanzas, en darnos el calor que necesitábamos para continuar con muchas fuerzas y ganas la vida y cada cosa que nos apasionara, por la educación que ahora refleja en mi vida profesional y por la preparación que desde pequeño me inculcaron para enfrentarme a la vida y nunca decir NO PUEDO, por trabajar para darnos ese sustento que día con día necesitábamos, y que a pesar del cansancio bajo el sol, caminadas largas, nos sacaron adelante. GRACIAS

A mis hermanos:

Miranda Alcalá y Giovanni Alcalá

Por el hecho de ser mis hermanos, es un privilegio coincidir en esta vida tan maravillosa con ustedes, con ustedes la vida tiene más sentido, los AMO con toda mi vida.

A mis Padrinos

Sra. Diana Alcalá y Ing. Mario Mosqueda Hdz.

Por tener el corazón lleno de amor para nosotros, por cuidar de nosotros, por estar siempre para todos sin espera de algo a cambio, por los valores depositados en cada uno de nosotros, sin duda el tiempo es lo más valioso en el mundo, que fue el que nos dieron a manos llenas, ayudándonos en tareas, dándonos consejos, y el apoyo académico que tuve a través de mi carrera profesional. GRACIAS.

A los bombones.

Sra. Lety Alcalá y Ing. Francisco Javier Álvarez.

Jamás podre agradecerles la infinita ayuda que hasta ahora eh recibido, por las cenas hechas con mucho amor que satisfacían nuestra hambre, por el amor que nos compartieron toda la familia, por los consejos, regaños, abrazos, por estar todo el tiempo con nosotros, Sin duda alguna los quiero con todo mi corazón. Privilegiados somos todos los narros que pasamos por su amor de madre y casa.

A mis amigos

Ing. José de Jesús Hernández, Ing. Jaqueline Cortez Meza, Ing. Gamaliel Reboceño C., por su amistad incondicional, por convertirse en mis hermanos y estar cuando más los necesite, sus consejos, risas y apoyo incondicional, y que por muy lejos que estemos ahora, la amistad y hermandad perdura como los buenos vinos.

Ing. José Luis Villafaña, gracias por su enseñanza a manos llenas que deposito en mí, por la paciencia, amabilidad y confianza que me tuvo para poder ingresar a mi primer trabajo como profesionista. GRACIAS.

A la señora Ma. Luisa Rico.

Señora, en la vida nos encontramos con maravillosas personas como lo es usted, pero que pocas veces surgen, la estimo, gracias por los consejos, su actitud tan positiva que siempre alegra a toda persona.

A mi amiga

Lic. Alexa Andrey Romero

Mi chata querida, por todos los consejos, apoyos morales, tu tiempo y por ser sin duda en mi vida algo tan significativa, por eso y más te agradezco mucho, Hasta viejitos.

A mi Asesora:

Dra. Norma Angélica Ruiz

Por ser tan buena maestra en los cursos que nos impartió, por la paciencia y alegría, y por su amistad, por los consejos que surgían entre las pláticas y sin duda por el apoyo de este proyecto.

A mis familiares

Ing. Edgar Mosqueda, Ana Alcalá, Martin Mosqueda Alcalá.

Por esta etapa que logramos juntos (Edgar) que el 03-08-2013 llegamos a saltillo sin siquiera saber que pasaría, y que, gracias a nuestra familia y nuestro esfuerzo, culminamos una etapa de la vida con éxito, que gracias a ustedes obtuvimos una motivación extra, y siempre estando al pendiente de nuestras necesidades como estudiantes. GRACIAS.

A mis compañeros

Isis Reyes, Alma López Córdova, Edith Kakuris, Alejandra Ochoa.

Gracias por la amistad, comunicación, alegrías (carcajadas de Isis), sin duda es un privilegio el poder coincidir con ustedes en la vida, les agradezco todo el apoyo, paciencia que me tuvieron, siempre tendrán un lugar en mi corazón, realmente algunas personas en nuestras vidas pasan por un tiempo, pero ustedes quedan siempre en mis pensamientos y mi corazón.

Al Ing. Francisco Mendieta y Lic. Ale Daniel.

Compadre, mucho que agradecer, es un amigo, compadre y compañero excelente, que sin duda se distingue por su manera de ser tan educada y responsable, gracias por las enseñanzas del campo, oficina y consejos personales y sin duda a lado suyo una mujer quien no dudo es una excelente persona.

A mis amigos de toda la vida.

Ing. Julián Manzano, Lic. Cassandra Sandoval, Arq. Ángel burgos Lara, Lic Erick Arredondo.

Amigos, sin duda es un gusto que desde niños nos encontramos en esta vida, cada quien, con diferente personalidad, carácter, pero al mismo tiempo creciendo juntos, les deseo siempre el mejor de los éxitos siempre, los quiero sin condiciones.

Al contador Román y señora Lilian.

Realmente dentro y fuera de lo laboral son ustedes personas muy únicas, con mucho potencial y mucho liderazgo, gracias por el apoyo siempre a cada uno de mis compañeros y principalmente al apoyo que me brindaron, la confianza que me dieron para permanecer dentro de la compañía, a la señora Lilian por su distinguida alegría y buenos consejos y platicas. Ojalá personas como ustedes fueran eternas.

DEDICATORIA

A Dios.

Por la fuerza que me has dado para continuar, por el buen camino que me has dibujado y yo poderlo seguir, sin ti nada sería en esta vida, por darme a una hermana que siempre quise, y que por ella derivo todas mis ganas de seguir adelante (**Miranda**).

A mi hija

María Regina Salas Galeana.

Hija, el hecho de llegar a mi vida a significado mucho, tus travesuras, tu alegría y tu hermosura han sido por ende la pieza clave para seguir echándole ganas a la vida, por ti las cosas son mejores aun, te amo con toda mi vida y alma.

A mi ALMA TERRA MATER

Por darme todas las herramientas, buenos maestros y una familia, por ser la casa de estudios más importante y mejor del país.

A mi esposa la Ingeniero:

Laura María Galeana Negrete

Quiero que sepas que a donde vayas, yo iré contigo, a donde vaya te llevaré, porque en cada rincón de nuestro mundo existe un te amo muy profundo en mi ser, le pido a Dios que seamos eternos en esta vida y las por venir. Gracias por el apoyo y por la familia que hemos formado, Gracias por creer en mí, porque yo, siempre creeré en ti. GRACIAS por darme una hija tan bonita como tú y uno/a que viene en camino que amaré como a ustedes. Las amo.

INDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	X
RESUMEN.....	XI
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo General	2
Objetivos Específicos	2
HIPÓTESIS	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Nanotecnología	3
Aplicaciones de la nanotecnología	3
Medicina	3
Industria	3
Agronomía	4
Control de enfermedades en plantas con NPs	5
Nanotecnología en semillas	5
Nanopartículas de plata (NPAg)	6
Nanopartículas de plata en semillas	6
MATERIALES Y MÉTODOS	7
Ubicación del sitio experimental	7
Material Genético	7
Prueba de Germinación	7
Evaluación del bioensayo	9
Variables evaluadas	9
Metodología de variables evaluadas	9
a) Porcentaje de vigor de germinación	9
b) Porcentaje de germinación	9
c) Plántulas con alto vigor (AV)	9
d) Plántulas con bajo vigor (BV)	10
e) Plántulas anormales (PA)	10
f) Semilla sin germinar (SSG)	10
g) Longitud de plúmula y de radícula (LP) y (LR)	10

h) Peso seco de plántula (PS)	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
CONCLUSIONES.....	16
LITERATURA CITADA.....	17

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas y crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), tratadas con nanopartículas de plata (NPsAg).

Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas y crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), tratadas con nanopartículas de plata (NPsAg).

RESUMEN

Comparación de los efectos de diferentes dosis de nanopartículas de plata sobre parámetros fisiológicos de la germinación y el vigor en semilla de tomate (*Solanum lycopersicum*), variedad Río Grande.

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Crecimiento en Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Saltillo, Coahuila México, con el objetivo de evaluar mediante un bioensayo en laboratorio, el efecto de las nanopartículas de plata (NPsAg) en suspensión, a diferentes concentraciones, en la germinación y el vigor en semillas y plántulas de tomate Var. Río Grande, y determinar si promueven o inhiben la germinación, el vigor y el crecimiento de las plántulas.

El experimento consistió en un bioensayo, en el cual se sometieron semillas de tomate a distintas dosis de NpsAg con un diámetro de 40 a 80 nm, con el objetivo de evaluar sus efectos en la germinación, el vigor y el crecimiento de las plántulas. Se establecieron 12 tratamientos (0 ppm, 1.20 ppm, 2.01 ppm, 3.35 ppm, 5.59 ppm, 9.33 ppm, 15.55 ppm, 25.92 ppm, 43.2 ppm, 72 ppm, 120 ppm y 200 ppm), con 4 repeticiones de 25 semillas cada uno.

Para la preparación de los tratamientos, se pesaron 10 mg de NPsAg en una balanza analítica (AND modelo HR-200), se depositaron en un tubo tipo Falcón con tapa de rosca, aforando con agua destilada a 50 ml. Se colocó el tubo durante 15 minutos en un sonicador Branson para dispensar las nanopartículas y obtener una solución stock. Se tomaron los mililitros requeridos para preparar las diferentes concentraciones con una micropipeta, se colocaron en un tubo tipo Falcón, aforando con agua destilada a 50 ml, se colocó cada tubo durante 15 minutos en el sonicador Branson (AS20608) para obtener una máxima suspensión de las NPs.

Después se colocaron 100 semillas en una caja de Petri por tratamiento, se aplicó la suspensión correspondiente de NPsAg, cubriendo las semillas a fin de iniciar la imbibición, se taparon las cajas de Petri y se colocaron por un periodo de 24 horas en una cámara bioclimática marca LAB-LINE Biotronette, a una temperatura de 25 ± 2 °C, con una humedad relativa de 50% y un fotoperiodo de 16/8 h luz/oscuridad.

A las 24 horas se estableció el bioensayo de germinación, con unas pinzas de disección esterilizadas, se realizó la siembra entre papel Anchor, humedecido con agua destilada, se colocaron 25 semillas a lo largo de la hoja de papel en dirección horizontal con el embrión hacia abajo, se cubrió con otra hoja de papel Anchor humedecido y se enrollaron en formar de “taco”. Así se hizo en las 4 repeticiones por tratamiento.

Una vez obtenidos los 48 tacos, se pusieron de 4 en 4 en bolsas de polietileno transparente para evitar la pérdida de humedad, colocándonos enseguida en contenedores de plástico, que fueron introducidos en una cámara bioclimática marca LAB-LINE Biotronette, a una temperatura de 25 ± 2 °C, con una humedad relativa de 50% y fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad.

Cinco días posterior a la siembra se evaluó el vigor de germinación, y a los catorce se determinó el porcentaje de germinación, plántulas con alto y bajo vigor, peso seco de plántula, y longitud de plúmula y de radícula.

Los resultados obtenidos indicaron que las plántulas expresan más vigor, mayor porcentaje de germinación de la semilla, plántulas y radículas más vigorosas, y a su vez existe menor porcentaje de plantas anormales, a una concentración de 15.55 ppm de NPsAg.

Esta investigación deja como posibilidad usar más las NPs, para optimizar la expresión de variables en diversos cultivos, ya que, haciendo uso de dosis específicas, se puede mejorar caracteres fisiológicos desde etapas tempranas, como lo es la germinación de las semillas y el crecimiento de plántulas.

Palabras clave: nanopartículas, plata, vigor, germinación, radícula, plúmula.

INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, debido a su elevado contenido alimenticio (FAOSTAT, 2022); además, posee altos contenidos de licopeno, vitaminas C y A y flavonoides (Willcox *et al.*, 2003).

En situaciones donde se busca innovar y hacer eficientes los procesos agrícolas, la nanotecnología (NT) se presenta como una opción, haciendo uso de la aplicación de materiales a nanoescala (0-100 nanómetros), facilitando la calidad de vida a través de sus aplicaciones en campos relacionados con la agricultura (Buzea *et al.*, 2007; Walker y Bucher 2009). Las aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura incluyen fertilizantes que mejoran rendimientos en las plantas, pesticidas para manejo de plagas y enfermedades, y sensores para monitorear la calidad del suelo y la sanidad de las plantas (Servin *et al.*, 2015).

Ruiz *et al.* (2016) mencionan que la mayoría de los estudios con nanopartículas (NPs) metálicas aplicadas al crecimiento de plantas tienen un efecto positivo. De esta forma el uso responsable de estos materiales puede contribuir a asegurar la calidad y cantidad alimentaria, ya que su objetivo más importante es mejorar el crecimiento de las plantas y asegurar una mayor producción.

Es en este sentido, este trabajo de investigación evaluó el efecto de NPs de plata (NPsAg), a diferentes concentraciones, en la germinación, el crecimiento de plántulas y la acumulación de materia seca en tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río Grande.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la respuesta de los procesos relacionados con la germinación y el vigor de semillas y de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río Grande, tratadas con nanopartículas de plata (NPsAg).

Objetivos Específicos

1. Evaluar el efecto de la aplicación de NPsAg a diferentes concentraciones, durante la imbibición de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río Grande, en variables relacionadas con la germinación.
2. Evaluar el efecto de la aplicación de NPsAg a diferentes concentraciones, durante la imbibición de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río Grande, en el crecimiento de las plántulas y acumulación de materia seca.

HIPÓTESIS

Hi: La aplicación de NPsAg a semillas, mejora el proceso germinativo y el crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), variedad Río Grande.

Ho: La aplicación de NPsAg a semillas no mejora el proceso germinativo ni el crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), variedad Río Grande.

REVISIÓN DE LITERATURA

Nanotecnología

La nanotecnología (NT) se refiere al uso de partículas, materiales y equipos, con tamaño en un rango de 1 a 100 nanómetros, capaces de manipular propiedades físicas y químicas de sustancias a niveles moleculares (Prasad *et al.*, 2014). El uso de nanopartículas (NPs) (0-100 nanómetros), ha dado pauta a desarrollar investigación en diferentes áreas.

Aplicaciones de la nanotecnología

Medicina

Las NPs en la medicina se emplean en diagnósticos médicos, así como en fármacos para obtener tratamientos más efectivos y reducir los efectos secundarios (Echeverría, 2013). Para el caso de diagnóstico de enfermedades infecciosas, como el Virus de la Hepatitis C (VHC), la NT se presenta como una alternativa al basarse en el uso de NPs y otros nanomateriales en pruebas altamente sensibles y específicas, la mayoría dirigidas al genoma del patógeno (Arca *et al.*, 2019).

Industria

En la industria textil, se sintetizan NPs de peróxido de zinc (ZnO_2), para funcionalizar tejidos textiles de algodón, obteniendo textiles con propiedades antimicrobianas (Uribe *et al.*, 2016).

En la industria de los alimentos, las NPs tienen usos en áreas como los controles de calidad y la seguridad alimentaria, en el crecimiento de nuevos productos y su envasado, añadiendo propiedades funcionales mejoradas, por ejemplo, que alimentos con bajo contenido en sodio presenten sabor salado. La formulación con NPs, de

nanoemulsiones y nanocápsulas, hace posible optimizar el valor nutricional de los productos (Almengor, 2009).

Agronomía

En la agricultura, la nanotecnología se usa en la síntesis de fertilizantes para ampliar la eficiencia de estos, al aplicarlos con nanoarcillas y nanozeolitas, para mejorar la fertilidad del suelo al liberar nutrientes.

En invernaderos y cámaras de crecimiento, los requerimientos de un cultivo se diagnostican con base a sus necesidades, suministrando las cantidades requeridas en el momento y en el lugar correcto con la ayuda de nanosensores. Estos nanosensores y sistemas de suministro inteligentes son algunas de las aplicaciones de la NT en la agricultura, los cuales también pueden combatir patógenos presentes en los cultivos, disminuyendo las pérdidas de nutrientes al fertilizar, mejorando la productividad a través de la optimización del uso del agua y nutrientes (Dubey y Mailapalli, 2016; Rameshaiah y Pallavi, 2015).

En la irrigación la NT se utiliza para mejorar la calidad del agua al hacerla nanoactiva a través filtros membranosos provenientes de nanotubos de carbono. Cerámica nanoporosa y nanopartículas magnéticas, además de luz UV son frecuentes en el tratamiento de agua tradicional (Hillie y Hlophe, 2007).

Por otra parte, las malezas representan uno de los principales problemas en los cultivos agrícolas, para lo cual se están desarrollando nanoherbicidas para abordar este problema junto con el basto banco de semillas de malezas existente en los suelos. La disminución en la contaminación ambiental provocada por los pesticidas, fertilizantes y residuos es factible con el uso de nanopartículas metálicas al reducir las dosis (Chinnamuthu y Boopathi, 2009).

Control de enfermedades en plantas con NPs

Algunas NPs que se han introducido al control de enfermedades son nanoformas de carbono, plata, sílice y aluminosilicatos. Estos materiales son preferidos por la comunidad científica, dado que, a nivel nano, muestran distintas propiedades. Tal es el caso de las nanopartículas de plata que se usan como agentes antimicrobianos, de esta manera se reducen los costos de producción (Prasad *et al.*, 2014).

Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y de óxido de magnesio (MgO) se presentan como agentes antimicrobianos (Shah y Towkeer, 2010). La fácil dispersión, transparencia óptica y suavidad vuelven a este nanomaterial un ingrediente antibacteriano en muchos productos. Ambos materiales también se han sugerido como conservantes antimicrobianos para madera o productos alimenticios (Aruoja *et al.*, 2009; Huang *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2009).

Nanotecnología en semillas

Se sabe que se puede insertar nuevos genes en plantas con el fin de potenciar las características de estas. Con la nanotecnología, se puede hacer un seguimiento de estas semillas vendidas en el mercado, a través, de nanocódigos de barras (Nicewarner-Pena *et al.*, 2001). Son codificables, legibles por máquina, de larga duración y tiene tarjetas de tamaño submicrónico. De esta manera se tiene una mejor información de la procedencia.

Chinnamuthu y Boopathi (2009) mencionan que la propagación de enfermedades en semillas almacenadas es un problema muy común, diversos factores intervienen, humedad relativa, temperatura, etc. Existen los nanorecubrimientos de semillas, los cuales usan formas elementales de zinc, manganeso, oro, protactinio o platino, que protegen las semillas de patógenos.

Nanopartículas de plata (NPAg)

Las nanopartículas de plata funcionan como agentes antimicrobianos, las cuales son más utilizadas a medida que avanza la tecnología; debido a que presentan diferentes modos de acción inhibitoria hacia los microorganismos (Young, 2009). Actualmente se puede reducir el tamaño a nanopartículas (NPsAg) menor a 100 nm. Entre menor sea el tamaño de la plata, ésta aumenta y potencializa sus propiedades (Hernández *et al.*, 2021).

Nanopartículas de plata en semillas

Abbasi *et al.* (2016) estudiaron la promoción de germinación de semillas de *Thymus kotschyanus* bajo tratamientos de nanopartículas de plata (NPsAg) y sílice (NPsSi). Las semillas tratadas con NPsAg resultaron favorecidas en comparación con las tratadas con NPsSi y el testigo, demostrando valores más altos en germinación de hasta el 20%. Sin embargo, al aumentar la concentración de NPsSi mejoró el porcentaje de germinación, mientras que al aumentar la concentración de NPsAg, el porcentaje de la germinación disminuyó.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del sitio experimental

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Crecimiento en Tecnología de Semillas (CCDTS), 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.

Material Genético

El material genético consistió en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Río Grande.

Prueba de Germinación

El experimento consistió en establecer un bioensayo, en el cual se sometieron semillas de tomate a distintas dosis de NpsAg con un diámetro de 40 a 80 nm, con el objetivo de evaluar sus efectos en la germinación, el vigor y el crecimiento de las plántulas. Se establecieron 12 tratamientos (0 ppm, 1.20 ppm, 2.01 ppm, 3.35 ppm, 5.59 ppm, 9.33 ppm, 15.55 ppm, 25.92 ppm, 43.2 ppm, 72 ppm, 120 ppm y 200 ppm), con 4 repeticiones de 25 semillas cada uno.

Para la preparación de los tratamientos, se pesaron 10 mg de NPsAg en una balanza analítica (AND modelo HR-200), posteriormente se depositaron en un tubo tipo Falcón con tapa de rosca, aforando con agua destilada a 50 ml. Después se colocó el tubo durante 15 minutos en un sonicador Brandon (AS20608) para dispensar las nanopartículas y obtener una solución stock. De esta solución se tomaron los mililitros requeridos para preparar las diferentes concentraciones de cada tratamiento con la ayuda de una micropipeta, se colocaron en un tubo tipo Falcón, aforando con agua

destilada a 50 ml, seguidamente se colocó cada tubo durante 15 minutos en el sonicador Branson (AS20608) para obtener una máxima dispersión en la suspensión.

Después se colocaron 100 semillas en una caja de Petri por tratamiento (0 ppm, 1.20 ppm, 2.01 ppm, 3.35 ppm, 5.59 ppm, 9.33 ppm, 15.55 ppm, 25.92 ppm, 43.2 ppm, 72 ppm, 120 ppm y 200 ppm), enseguida se aplicó la suspensión de NpsAg de acuerdo con las diferentes dosis, cubriendo las semillas por completo a fin de iniciar la imbibición de estas, posteriormente se taparon las cajas de Petri y se colocaron por un periodo de 24 horas en una cámara bioclimática marca LAB-LINE Biotronette, a una temperatura de 25 ± 2 °C, con una humedad relativa de 50% y un fotoperiodo de 16/8 h luz/oscuridad.

Al concluir las 24 horas se estableció la prueba de germinación, apoyándose con unas pinzas de disección esterilizadas, se realizó la siembra de las semillas entre papel Anchor, previamente humedecido con agua destilada, en donde se colocaron 25 semillas a lo largo de toda la hoja de papel en dirección horizontal con el embrión hacia abajo, luego se cubrió con otra hoja de papel Anchor con las mismas características y se enrollaron para formar un "taco". Así se hizo en las 4 repeticiones por tratamiento.

Una vez obtenidos los 48 tacos, se pusieron de 4 en 4 en bolsas de polietileno transparente para evitar la pérdida de humedad, colocándose enseguida en contenedores de plástico, que fueron introducidos en una cámara bioclimática marca LAB-LINE Biotronette, a una temperatura de 25 ± 2 °C, con una humedad relativa de 50% y fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad.

Evaluación del bioensayo

Variables evaluadas

Se evaluaron las siguientes variables: vigor de germinación (%), germinación (%), plántulas con alto vigor (%), plántulas con bajo vigor (%), plántulas anormales (%), semillas sin germinar (%), longitud de plúmula (cm), longitud de radícula (cm), y peso de materia seca (mg/plántula).

Metodología de variables evaluadas.

a) Porcentaje de vigor de germinación

A los cinco días después de la siembra, se llevó a cabo el primer conteo de las plántulas normales (raíz y plúmula bien desarrolladas), los datos se expresaron en porciento. Al finalizar el conteo se volvió a colocar los tacos en la cámara bioclimática.

b) Porcentaje de germinación

Se evaluó en un segundo conteo que se realizó catorce días después de la siembra, se consideraron todas aquellas plántulas que presentaron una raíz primaria vigorosa, con raíces adventicias, y con la plúmula verde y vigorosa, y el resultado fue expresado en porciento.

c) Plántulas con alto vigor (AV)

Se consideró una plántula con alto vigor a aquella que mostraron raíz y plúmula bien desarrolladas, el resultado se expresó en porciento.

d) Plántulas con bajo vigor (BV)

Se consideró una plántula con bajo vigor a aquella que mostró una raíz muy corta o poco desarrollada, así como una plúmula corta y desproporcionada a su raíz, el resultado se expresó en porciento.

e) Plántulas anormales (PA)

Se tomó como plántulas anormales a aquellas que presentaron raíz o plúmula dañada, poco desarrollada, sin vigor y/o deformada. El resultado se expresó en porciento.

f) Semilla sin germinar (SSG)

Se consideró a aquellas semillas que no mostraron ningún signo de emergencia de radícula, el resultado fue expresado en porciento.

g) Longitud de plúmula y de radícula (LP) y (LR)

Se tomaron en cuenta todas las plántulas normales para evaluar esta variable, es decir, aquellas que no presentaron ninguna anomalía o deformidad en sus estructuras. La medición de cada estructura se llevó a cabo con la ayuda de una hoja milimétrica. Los resultados se expresaron en centímetros.

h) Peso seco de plántula (PS)

Se depositaron todas las plántulas normales (PN) de cada repetición en una bolsa de papel estraza, la cual estaba perforada e identificada con cada tratamiento y repetición; posteriormente se colocaron en una estufa de secado marca RIOSA modelo H-24, a temperatura de 72°C durante 24 horas para deshidratar las plántulas. Una vez transcurrido este lapso se retiraron las muestras de la estufa y se colocaron rápidamente en un desecador con el objetivo evitar que las plántulas absorbieran humedad del ambiente. Una vez colocadas las muestras se fueron pesando en una

balanza analítica (AND modelo HR-200), para determinar el valor del peso seco. El resultado se expresó en mg/plántula.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de varianza (Cuadro 1), del bioensayo de semillas de tomate Var. Río Grande, tratadas con diferentes dosis de NPsAg, los resultados indican diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para las variables porcentaje vigor de germinación, porcentaje de plántulas con alto vigor, plántulas anormales, y para las longitudes de plúmula y de radícula. Por otra parte, la variable porcentaje de plántulas con bajo vigor presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

La imbibición de la semilla es un proceso físico con una duración variable según la especie considerada. Por ejemplo, las semillas de chícharo se imbiben durante las tres primeras horas, mientras que, en apio, la entrada de agua se completa en unos 30 minutos. En otras especies, como es el caso de muchas leguminosas, la entrada de agua está dificultada por las cubiertas seminales, siendo necesario que éstas se alteren mecánicamente para que la imbibición tenga lugar (Pita y Pérez, 1998).

Una vez que la semilla se ha hidratado, comienzan a activarse toda una serie de procesos metabólicos que son esenciales para que tengan lugar las etapas de la germinación (Doria, 2010).

Al realizar la comparación de medias por concentración (Cuadro 2), se evidencio que al aplicar NPsAg se generó una modificación en la respuesta fisiológica, para las variables porcentaje de vigor de germinación, porcentaje de germinación, porcentaje de plántulas con alto vigor, longitud de plúmula, longitud de radícula, identificando diferencias estadísticas entre tratamientos evaluados.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas y crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), tratadas con nanopartículas de plata (NpsAg).

FV	GL	VIGOR (%)	GERMINACIÓN (%)	PAV (%)	PBV (%)	PA (%)	SSG (%)	PS (mg/p)	LP (cm)	LR (cm)
TRAT	11	535.39**	863.35**	51.27**	6.02*	805.17**	90.62	0.094	17.627**	114.66**
ERROR	24	77.77	170.22	15.58	2.33	169.33	76.44	0.035	2.569	18.16
CV (%)		13.70	24.06	38.20	47.40	41.23	61.96	13.19	33.223	58.04

**= Significativos $P \leq 0.01$; *= Significativos $P \leq 0.05$; NS= No significativo; FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; Vigor = Vigor de germinación; PAV= Plántulas con alto vigor; PBV= Plántulas con bajo vigor; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántula; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; mg/p = mg/plántula; CV= Coeficiente de variación.

En el caso del porcentaje de vigor de germinación, se encontró que el suministro de NPsAg en concentraciones de 1.2, 9.33, 15.55, 9.33 y 43.2 ppm, generaron una respuesta significativa ($P \leq 0.01$), ya que mostraron en todos los casos valores superiores a la media (64.3 %), en comparación con el valor del testigo, que obtuvo 33 %. Sobresaliendo los tratamientos con 15.55 y 43.2 ppm, que obtuvieron 77 y 78 %, respectivamente.

En la variable porcentaje de germinación, se encontró que la aplicación de NPsAg en concentraciones de 9.33 a 43.2 ppm, produjeron una respuesta altamente significativa, con respecto al testigo, que presentó 48 %. Sin embargo, la mejor respuesta se observó al imbibir las semillas con NPsAg a 15.55 ppm, con 77 %.

Estos resultados demuestran que el uso de NPsAg inducen un incremento en la germinación y en el vigor de la semilla, incluso disminuyen las anomalías que pueda sufrir una plántula al emerger, como es el caso donde se imbibieron semillas en una suspensión con 15.55 ppm, obteniendo únicamente 9 % de plántulas anormales; mientras que el testigo (0 ppm), mostró 35 %, esto es, de plántulas dañadas, deformes o con estructuras esenciales muy pequeñas y débiles. Asimismo, al clasificar las plántulas normales en con alto y con bajo vigor, se observó que la concentración de 15.55 ppm tuvo un efecto positivo, ya que incrementó la respuesta de la variable plántulas con alto vigor (62 %) y, por ende, redujo el porcentaje de plántulas con bajo vigor, lo cual es de interés e importancia.

Los resultados anteriores indican que, al imbibir las semillas en una suspensión con NPsAg, a una concentración de 15.55 ppm, se mejora el vigor de germinación, el porcentaje de germinación y de plántulas con alto vigor, e incluso usando esta concentración se reduce significativamente el porcentaje de plántulas anormales y de semillas sin germinar.

Cuadro 2. Comparación de medias de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas y crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*), tratadas con nanopartículas de plata (NPsAg).

TRAT (ppm)	VIGOR (%)	GERMINACIÓN (%)	PAV (%)	PBV (%)	PA (%)	SSG (%)	PS (mg/p)	LP (cm)	LR (cm)
0	33 b	48 ab	33 ab	15 ab	35 ab	17 a	1.464 a	3.79 cd	6.64 bcd
1.2	70 a	40 b	26 ab	14 ab	50 a	10 a	1.133 a	5.17 ab	5.29 cd
2.01	58 ab	41 b	36 ab	5 b	43 ab	16 a	1.476 a	4.82 abc	7.73 abc
3.35	63 a	38 b	26 ab	12 ab	50 a	12 a	1.426 a	5.22 ab	5.89 bcd
5.59	59 ab	53 ab	45 ab	8 ab	30 ab	17 a	1.527 a	5.25 ab	7.89 abc
9.33	69 a	70 ab	48 ab	22 a	21 ab	9 a	1.423 a	4.95 ab	7.1 abc
15.55	77 a	77 a	62 a	15 ab	9 b	14 a	1.438 a	4.75 abc	9.6 a
25.92	69 a	69 ab	53 ab	16 ab	16 ab	15 a	1.321 a	5.12 ab	7.96 abc
43.2	78 a	66 ab	55 ab	11 ab	19 ab	15 a	1.415 a	5.19 ab	7.41 abc
72	51 ab	39 b	31 ab	8 ab	43 ab	18 a	1.487 a	5.57 a	6.9 abc
120	53 ab	38 b	17 b	21 ab	40 ab	22 a	1.180 a	3.32 d	3.79 d
200	57 abc	71 ab	62 a	9 ab	12 b	17 a	1.456 a	4.31 bcd	8.6 ab
\bar{X}	64.333	54.167	10.25	3.167	31.667	14	1.333	4.75	7.167
TUKEY	25.964	38.410	11.622	4.497	38.310	25.74	0.556	1.091	2.902

Valores con la misma literal dentro de cada columna son estadísticamente iguales, Tukey ($P \leq 0.05$). Vigor = Vigor de germinación; PAV= Plántulas de alto vigor; PBV= Plántulas de bajo vigor; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PS= Peso seco de plántula; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula, mg/p = mag/plántula.

Para la variable peso seco de plántula no se observaron diferencias entre tratamientos, todos resultaron estadísticamente iguales. Respuesta diferente se observó en la variable longitud de plúmula, ya que los tratamientos con 1.2 a 72 ppm, resultaron estadísticamente superiores al resto, incluyendo el testigo. Obteniéndose plúmulas con mayor crecimiento (5.57 cm) con NPsAg a 72 ppm, mientras que el testigo obtuvo 3.79 cm.

La radícula se desarrolló mejor y estadísticamente superior con el tratamiento de 15.55 ppm (9.6 cm), en comparación con el testigo que presentó una longitud de 6.64 cm. De acuerdo con los resultados, las NPsAg tienen un efecto positivo en el crecimiento de la raíz y del tallo, posiblemente en la promoción de la división celular.

Tomando en cuenta los resultados anteriores, de los aspectos importantes que se han visto recientemente, es la utilización de la nanotecnología en la agricultura, como es el caso de las nanopartículas metálicas en las que se ha visto una mejor capacidad como fertilizante, promotor del crecimiento, estimulante en la germinación, así como una actividad antimicrobiana (Singh, 2021).

En el efecto biosida de las NPsAg, se ha observado que desestabilizan la membrana celular de las bacterias, causándoles modificaciones en la permeabilidad, una merma en el nivel de ATP que se refleja en una baja tasa de respiración, así como también consecuencias drásticas al ADN (Monge, 2009).

Las NPsAg tienen un gran dominio en el desarrollo fenológico y muy significativo en el proceso de germinación, elongación de raíz, desarrollo de plántulas, crecimiento y elongación de raíz, y a su vez, también participan en la inhibición de la senescencia (Shah y Belozerova, 2009).

El efecto de las NPsAg en la estimulación del crecimiento radicular se desconoce, sin embargo, en un estudio reciente se observó que la toxicidad incrementa al aumentar la concentración. Pero, el efecto negativo se reduce al aplicar hongos micorrícicos (Yang *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten confirmar que el uso de NPsAg a dosis bajas aplicadas a semillas de tomate var. Río Grande, a través de suspensiones durante la imbibición, impulsan procesos fisiológicos como lo son la germinación, el vigor, y el crecimiento de plúmula y de radícula.

Las NPsAg aplicadas a semillas durante el proceso de imbibición a una concentración de 15.55 ppm, aumentaron el vigor de germinación, el porcentaje de germinación, el porcentaje de plántulas con alto vigor y la longitud de la plúmula y de la radícula, y redujeron el porcentaje de semillas sin germinar y de plántulas anormales.

En general se observó que las NPsAg a dosis bajas promueven el vigor, la germinación, y el crecimiento, y reducen significativamente la expresión de plántulas anormales y de semillas sin germinar. El vigor es uno de los parámetros más importantes para el proceso de germinación y la calidad de las semillas.

LITERATURA CITADA

- Abbasi, M., A. Ghorbani, and M. Moameri. 2016. Effects of silica and silver nanoparticles on seed germination traits of *Thymus kotschyanus* in laboratory conditions. *Journal of Rangeland Science* 6(3):222-231.
- Arca L., S. P., I. Martínez Román, R. Mate Cano, V. Madrid. Briz. 2019. Nanotechnology: a reality for the diagnosis of infectious diseases by HCV. *Journal of infection*. 80 (1): 8-15.
- Almengor, L. 2009. Nanotecnología en la industria alimentaria. Facultad de Ingeniería. Universidad Rafael Landívar, Revista Electrónica No. 13. Guatemala.
- Aruoja, V., H. Ch. Dubourguier, K. Kasamets, A. Kahru. 2009. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Sci. Total Environ.* 407: 1461-1468.
- Buzea, C., I.I. Pacheco, K., and Robbie. 2007. Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases*, 2, MR17-MR71.
<https://doi.org/10.1116/1.2815690>
- Chinnamuthu, C.R., and M. Boopathi, P. 2009. Nanotechnology and agroecosystem. *Madras Agric. J.* 96(1-6): 17- 31.
- Doria, J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 2010, vol. 31(1), pp. 74-85.
- Dubey, A., and D. R. Mailapalli. 2016. Nanofertilizers, nanopesticides, nanosensors of pest and nanotoxicity in agriculture. *In* Lichtfouse, E. (ed.), *Sustainable Agriculture Reviews*. Springer International Publishing. pp. 307-330.
- Echeverría, F. 2013. Retos de este siglo: nanotecnología y salud. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2013; 29 (1):3-15.
- FAOSTAT. 2022. The state of food security and nutrition in the world. Disponible en line en: <https://www.fao.org/faostat/en/#home>. Fecha de consulta: 12 de agosto 2022.

Hernández Arteaga, L. O., D.A. García Flores, G. M. Loredó Becerra, H. J. Ojeda Galván, I. de Alba Montero, F. Ruiz. 2021. "Síntesis de nanopartículas de plata con extractos de cuatro plantas usadas en la medicina tradicional mexicana". Revista Intercyt. Interculturalidad, Ciencia y Tecnología. En línea: <https://www.eumed.net/es/revistas/intercyt/intercyt-enero-2021>.

Hillie, T. and M. Hlophe. 2007. Nanotechnology and the challenge of clean water. Nat. Nanotechnol. 2:663-664.

Huang L, L. Dian-Qing, W. Yan-Jun, G. Min David, E.D. Xue. 2005. Controllable preparation of nano-MgO and investigation of its bactericidal properties. J. Inorg. Biochem. 99:986-993.

Monge, M. 2009. Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. Anales de la Real Sociedad Española de Química, 105(1):33–41. Online: <https://bit.ly/3aZgMdZ>.

Nicewarner-Pena S.R., R.G. Freeman, B.D. Reiss, L. He L., D.J. Pena, I.D. Walton, R. Cromer, C.D. Keating, and M.J. Natan. 2001. Submicrometer metallic barcodes. Science 294: 137-41.

Pita V., J.M. y F. Pérez García. 1998. Germinación de semillas. Hojas Divulgadoras. Dpto. Biología Vegetal, E.U. Ingeniería Técnica Agrícola, Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid, España.

Prasad, R., V. Kumar, and K.S. Prasad. 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: present concerns and future aspects. African Journal of Biotechnology, 13(6), 705-713.

Rameshaiah, G. and Pallavi, J. 2015. Nano fertilizers and nano sensors—an attempt for developing smart agriculture. International Journal of Engineering Research and General Science, 3(1), 314-320.

Ruiz T., N.A, J.I. García López, R.H. Lira Saldivar, I. Vera Reyes, B. Méndez Arguello. 2016. Efecto de Nanopartículas Metálicas y Derivadas del Carbón en la Fisiología de Semillas. *Agronotecnología*. p. 43.

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.

Shah, V., and I. Belozerova. 2009. Influence of Metal Nanoparticles on the Soil Microbial Community and Germination of Lettuce Seeds. *Water Air Soil Pollut* 197, 143–148. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9797-6>

Shah, M. A. and A. Towkeer. 2010. Principles of nanoscience and nanotechnology. Narosa Publishing House, New Delhi.

Sharma V.K, R.A. Yngard, and Y. Lin. 2009. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv. Colloid Interface Sci.* 145:83-96.

Singh, R.P. R. Handa, M. Geetanjali. 2021. Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity, *Journal of Controlled Release*. Vol. 329, pp. 1234-1248, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.10.051>.

Uribe, C., E. Roca., M. Brañez., J. Álvarez., L. E. Román, D. Maurtua., J. L. Solís., and M. M. Gómez. 2016. Nanotecnología y producción de alimentos: impactos económicos, sociales y ambientales. *Revista de la sociedad química del Perú*. Vol. 82.

Walker, N., and J.R. Bucher. 2009. A 21st century paradigm for evaluating the health hazards of nanoscale materials? *Toxicol. Sci.* 110:251–254.

Willcox, J. K.; G.L. Catignani, G. L. and S. Lazarus. 2003. Tomatoes and cardiovascular health. *Crit. Rev. Food Sci.* 43(1):1-8.

Yang, D., L. Wang, L., F. Ma, G. Wang, and Y. You. 2022. Effects of Ag nanoparticles on plant growth, Ag bioaccumulation, and antioxidant enzyme activities in *Phragmites australis* as influenced by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Environ Sci Pollut Res*. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22540-9>

Young K. J. 2009. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. *Plant Disease*. 93(10):1037-1043.