

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Estudio del Efecto de las Nanopartículas de Magnesio en Parámetros Fisiológicos de la Germinación y en la Acumulación de Betacianinas en Betabel (*Beta vulgaris*)

Por:

LUIS ÁNGEL GONZÁLEZ AGUIRRE

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México.

Enero 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Estudio del Efecto de las Nanopartículas de Magnesio en Parámetros Fisiológicos de la Germinación y en la Acumulación de Betacianinas en Betabel (*Beta vulgaris*)

Por:

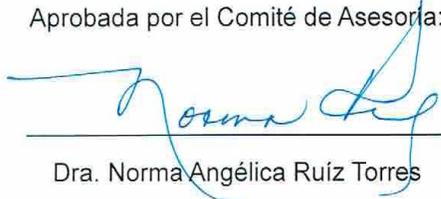
LUIS ÁNGEL GONZÁLEZ AGUIRRE

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:



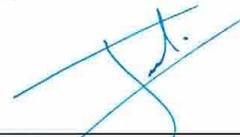
Dra. Norma Angélica Ruíz Torres

Asesor Principal



Dr. José Luis Velasco López

Coasesor



Dr. Josué Israel García López

Coasesor



Dr. Alberto Sandoval Rangel

Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México.

Enero 2024

Saltillo, Coah. Enero de 2024

Carta de no plagio

Por medio del presente documento, yo Luis Ángel González Aguirre, hago constar que la tesis titulada "*Estudio del efecto de las Nanopartículas de Magnesio en Parámetros Fisiológicos de la Germinación y en la Acumulación de Betacianinas en Betabel (Beta vulgaris)*" ha sido desarrollada de mi trabajo personal, en el cual no he utilizado citas, artículos, cuadros o graficas de otros trabajos.

Así mismo dejo constancia que las citas de otros autores han sido identificadas en el trabajo, por lo cual no han sido asumidas como propias.

Sin mas por el agradezco sus finas atenciones, saludos.

Atentamente



Luis Ángel González Aguirre

DEDICATORIA

A mis padres, Porfirio González Gutiérrez y Angelina Aguirre Zertuche, más que a nadie les dedico este trabajo, con el que concluyo una de las etapas más importantes de mi vida, mi preparación como Ingeniero. No hay palabras para agradecerles por todo su apoyo, su confianza, los sacrificios que hicieron para darme siempre lo mejor, sus consejos sobre cómo guiarme para lograr esta etapa y tenerlos como ejemplo a seguir.

A mis hermanos Carlos Javier González Aguirre y José Antonio González Aguirre por su compañía, amistad y cariño,

A mis abuelos Carlos Raúl González Morales y María del Carmen Gutiérrez Aguirre, Jesús Javier Aguirre Silva y Lidia del Consuelo Zertuche González, por ellos tener el gusto al campo y a los animales.

A toda la familia, tíos, tías, primos que de una o de otra forma me apoyaron en algún momento para seguir adelante y lograr esta meta.

AGRADECIMIENTOS

A Dios que me acompañó durante mi etapa académica, y que me cuidó.

A mis padres por su apoyo en cada momento.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) por brindarme un lugar como institución y como una segunda casa, por proporcionarme todas las herramientas necesarias para ejercer como un agrónomo y formar parte de ella teniendo un gran prestigio agronómico en México y en el extranjero y enseñarme a cómo ayudar al campo mexicano.

A la Dra. Norma Angélica Ruiz Torres, por el todo el apoyo brindado y paciencia que me tuvo en el salón de clases durante dos semestres y por su entusiasmo a explicarme hasta que entendiera los temas vistos, por compartir su experiencia y sus conocimientos, por la asesoría brindada en este proyecto y por darme la oportunidad de trabajar junto a ella, ampliando mis aprendizajes, por darme las herramientas necesarias para poder entrar a una etapa laboral bien preparado.

Al Dr. Josué Israel García López, por su apoyo en este proyecto de investigación, por sus asesorías en todo el experimento, por su apoyo incondicional al permitirme trabajar a su lado, motivándome a ser una persona responsable y dedicada a esta tesis.

Al Dr. José Manuel Morales Gil, por su apoyo incondicional y estar pendiente de mí, desde el primer día en la universidad hasta el final, ser un amigo y las gorditas que compartíamos en el almuerzo.

RESUMEN

En plantas, el magnesio (Mg^{++}) participa en varias funciones, como la síntesis de proteínas, formación de clorofila, fijación de CO_2 , y síntesis de ATP. La nanotecnología (NT) es una ciencia de investigación interdisciplinaria, que genera oportunidades en campos como la agricultura. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la absorción de nanopartículas de óxido de magnesio (NPsMgO) durante la fase de imbibición, en el vigor de germinación, en la capacidad germinativa, en el crecimiento y acumulación de materia seca en plántula, así como en el contenido de betacianinas en plántulas de betabel (*Beta vulgaris*). Se utilizaron semillas de la variedad Detroit Dark R, y se establecieron siete tratamientos (0, 50, 100, 150, 200, 250 y 500 ppm), con cuatro repeticiones de 25 semillas cada uno. Previo a la siembra, las semillas se imbibieron en cajas de Petri (60 x 15 mm), en donde se aplicó 10 ml de cada suspensión de acuerdo con el tratamiento. Cada caja de Petri contenía 105 semillas por tratamiento. Las cajas de Petri con las semillas inmersas en la suspensión fueron colocadas en una cámara bioclimática a una temperatura de 25°C y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad, por 20 h. Posteriormente, la siembra se realizó entre dos capas de papel Anchor, humedecido en agua destilada, colocando las semillas en forma horizontal, y enrolando en forma de taco. Los “tacos” se mantuvieron dentro de una bolsa de polietileno transparente, contenidos en un recipiente de plástico en una cámara bioclimática. El experimento se estableció en un diseño completamente al azar, se evaluaron las siguientes variables: porcentaje de vigor de germinación, porcentaje de 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). También se determinó el contenido de betacianinas a través de absorbancia en muestras maceradas de plántulas de cada uno de los tratamientos. Los resultados indican que, al imbibir las semillas en suspensiones con 15 ppm NPsMgO, se incrementó el porcentaje de germinación de 86 (testigo) a 92 %. También se incrementó significativamente el porcentaje de plántulas con alto vigor con el

tratamiento con 500 ppm. Mayor longitud de plúmula y de radícula se observó al tratar semillas con 200 ppm NPsMgO. Para la variable materia seca de plántula, el mejor resultado se obtuvo con 150 ppm. Tratar las semillas con 100 ppm de NPsMgO incrementó considerablemente la concentración de Betacianinas con respecto al testigo (de 2.99 a 14.04 gC3GE /100). Además, se presentó una correlación positiva y significativa entre el porcentaje de germinación y el peso seco de plántula ($r = 0.5671^{**}$), y entre las variables plántulas con alto vigor y longitud de plúmula ($r = 0.5591^{**}$). Los resultados indican que las NPsMgO son una opción para mejorar algunos parámetros de calidad en plántula.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
RESUMEN	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
INTRODUCCIÓN	9
HIPÓTESIS	10
REVISIÓN DE LITERATURA	11
Magnesio	11
Nanotecnología	11
Germinación de semillas	12
Proceso de germinación	13
Nanopartículas en la germinación de semillas	14
Óxido de magnesio y su efecto en los cultivos	14
Pigmentos presentes en <i>Beta vulgaris</i>	15
MATERIALES Y MÉTODOS	17
Germinación de semillas	17
VARIABLES EVALUADAS	18
Metodología de variables evaluadas	18
1. Porcentaje de vigor de germinación (VIGOR)	18
2. Porcentaje de germinación (GER)	18
3. Plántulas con alto vigor (PAV)	18
4. Plántulas con bajo vigor (BV)	18
5. Plántulas anormales (PA)	19
6. Semillas sin germinar (SSG)	19
7. Longitud de plúmula y de radícula (LP) y (LR)	19

8. Peso seco de plántula (PS)	19
Extracción y Cuantificación de Betacianinas	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables evaluadas en laboratorio con la aplicación de NPsMgO.....	22
Cuadro 3. Comparación de medias por tratamiento de las variables evaluadas en laboratorio.	23
Cuadro 4. Comparación de medias por tratamientos de las variables evaluadas en laboratorio.....	25
Cuadro 5. Coeficientes de correlación de Pearson entre variables evaluadas en laboratorio en plántulas de betabel.....	27
CONCLUSIONES	28
BIBIOGRAFÍA	29

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología (NT) se orienta a la caracterización, elaboración y aplicación de materiales de dimensiones nanométricas, esto es, entre 1-100 nanómetros (Ali *et al.*, 2014). En la agricultura se ha estado evaluando la aplicación de diferentes nanopartículas (NPs) metálicas (ZnO, CuO, y MgO), como una alternativa ante el uso indiscriminado de fertilizantes, que ha incrementado la degradación de suelos, y afectado negativamente la diversidad biológica y la calidad del agua (De Long *et al.*, 2016). Por lo anterior, la aplicación de la NT en la agricultura puede convertir las prácticas agrícolas con la perspectiva de ser amigables con el ambiente, y que se usen como una forma de liberación lenta de agroquímicos, promoviendo la utilización eficiente (Singh y Jajpura, 2016). La liberación controlada de nanofertilizantes permite dar solución a la absorción de macro y micronutrientes en los cultivos, consiguiendo incrementar la producción. Algunos autores han reportado que las NPs de ZnO (NPsZnO) incrementan el porcentaje de germinación y el contenido de compuestos antioxidantes, principalmente grupos polifenólicos en plántulas de chile habanero (García-López *et al.*, 2019), además indican que se promueve la germinación y la actividad de enzimas antioxidantes.

El empleo de NPs estimula la germinación y el vigor de semillas, puede mejorar el rendimiento de los cultivos con una dosis adecuada, sin embargo, el nivel de respuesta depende del tipo de nanomaterial y del genotipo. Desde este punto de vista, es recomendable no solo evaluar la respuesta de diversos genotipos a la aplicación de NPs durante la germinación, sino ir más allá para conocer la capacidad de estos en etapas subsecuentes (Buu *et al.*, 2014).

A pesar de una infinidad de trabajos de investigación que se han publicado en temas relacionados con NPs, la literatura actual reporta pocos estudios en donde se haya evaluado el efecto de las NPsMgO en variables asociadas con la germinación, el vigor de plántulas, y acumulación de betacianinas. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la aplicación de NPsMgO en el vigor, la germinación, el crecimiento de plántulas, la concentración de betacianinas, y la acumulación de materia seca en betabel (*Beta vulgaris*).

OBJETIVO

Estudiar el efecto de la absorción de NPsMgO durante la fase de imbibición, en la respuesta de la capacidad germinativa, el vigor de germinación, el crecimiento y acumulación de materia seca, y en el contenido de betacianinas, en plántulas de betabel (*Beta vulgaris*).

HIPÓTESIS

Hi: La imbibición de NPsMgO en bajas concentraciones durante las primeras fases del proceso germinativo, aumenta el vigor de germinación, mejora la capacidad germinativa, así como el crecimiento de plántula, además de incrementar la concentración de betacianinas, en plántulas de betabel (*Beta vulgaris*).

Ho: La imbibición de NPsMgO en bajas concentraciones durante las primeras fases del proceso germinativo, no modifica la capacidad germinativa, ni aumenta el vigor de germinación, ni promueve el crecimiento de plántula, ni la concentración de betacianinas en plántulas betabel (*Beta vulgaris*).

REVISIÓN DE LITERATURA

Magnesio

El Mg^{++} participa en varias funciones clave en las plantas, como la síntesis de proteínas, formación de clorofila, fijación de bióxido de carbono, fotofosforilación (formación de ATP), y en la fotooxidación en las hojas (Marschner, 1995). La absorción de Mg^{++} es afectada por la cantidad del elemento disponible en la solución del suelo, el pH, el tipo de suelo, y la capacidad de intercambio catiónico. Las pérdidas de Mg^{++} en el suelo se dan por la lixiviación, por absorción de los microorganismos, por baja retención de cationes del suelo, y por precipitación.

Hermans *et al.* (2004) cultivaron betabel con baja y adecuada concentración de Mg^{++} , evaluó la tasa de crecimiento vegetal, fotosíntesis, fijación de CO_2 , concentración de clorofila, transporte de electrones fotosintéticos, y la concentración de sacarosa en las hojas. Los resultados obtenidos mostraron que antes de que los síntomas de deficiencia de Mg^{++} se hicieran presentes en las hojas, ya mostraban alta concentración de sacarosa. Esto comparado con plantas con buen suministro, fue 4 veces mayor, indicando una inhibición del transporte de la sacarosa fuera de las hojas deficientes. Los cultivos que más demandan Mg son la papa, el maíz, la caña de azúcar y la remolacha.

Nanotecnología

La nanotecnología (NT) es una ciencia de investigación interdisciplinaria, que genera una gama de oportunidades en campos como la medicina, la industria farmacéutica, la electrónica, y la agricultura (Prasad *et al.*, 2014). La NT es asimismo una ciencia de investigación para estudiar fenómenos que ocurren a nivel atómico y molecular. Es de importancia, ya que se pueden revisar y manipular propiedades de materiales a escala microscópica (Mendoza y Rodríguez, 2007).

Saborin y Ayande (2015) indicaron que la NT podría mejorar las posibilidades de desarrollo de los recursos agroindustriales, con el potencial de impactar positivamente en el sector agrícola, la ingeniería ambiental, los recursos hídricos, y la conversión de energía, además de otras áreas de interés. La NT ofrece además ayuda al estudio de fenómenos que ocurren en la naturaleza, proporcionando información científica que contribuye a los procesos de producción y al desarrollo económico y social (Guzmán y Toledo, 2009).

El uso de la NT en la agricultura comenzó con la idea de que las tecnologías agrícolas convencionales no eran capaces de lograr una productividad más elevada de los cultivos, y que con la aplicación de nuevas tecnologías se lograría mejorar el rendimiento (Muckhopadhyay, 2014).

Solanki *et al.* (2015) mencionan que una de las aplicaciones de las NPs en la agricultura es como nanofertilizantes, ya que mejoran la solubilidad y la dispersión, incrementan la eficiencia y la absorción, se controla mejor su dispersión, se pueden encapsular en polímeros y ceras. Además, las formulaciones nanoestructuradas pueden extender su eficiencia y reducir la pérdida por escurrimiento. Se pueden usar en cultivos hidropónicos e *in vitro*, así como en aplicaciones foliares, reduciendo el tiempo de absorción. Sin embargo, la absorción, la traslocación y la acumulación de NPs depende de la especie de la planta, la edad, el ambiente, tamaño de las NPs y las propiedades fisicoquímicas.

Germinación de semillas

La germinación se da cuando se observa la emergencia y desarrollo de las estructuras esenciales como la radícula y la plúmula que provienen del embrión, y que son manifestaciones de la habilidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables en el suelo o en algún sustrato (Moreno, 1976).

Desde el punto de vista morfológico, la germinación de la semilla se define como la reanudación del crecimiento en partes del embrión, lo cual induce la ruptura de

los tegumentos seminales y el brote de la nueva planta (Mayer Poliakoff-Mayber, 1982).

Para que inicie el proceso de germinación, deben tener ciertas condiciones las semillas:

Primero la semilla debe ser viable, debe estar bien constituida, deben existir suficientes sustancias de reserva. Segundo, las condiciones internas de la semilla deben ser favorables para la germinación, esto es, que no presenten algún tipo de latencia, que las barreras físicas (testa dura, impermeable, gruesa), fisiológicas y químicas (embrión rudimentario, inmaduro, presencia de sustancias inhibitoras), deben de haber desaparecido. Tercero, la semilla debe encontrarse en las condiciones ambientales apropiadas, tener un suministro de agua y de oxígeno apropiados, así como temperatura y en ocasiones luz (Hartman y Kester, 1982).

Proceso de germinación

Una vez que se presentan las condiciones favorables, inicia el proceso de germinación con un aumento en su actividad metabólica, e inicia la formación y crecimiento de una plántula nueva (Mayer y Poliakoff-Mayber, 1982).

La mayoría de las semillas siguen una secuencia de eventos durante la germinación: la imbibición, la actividad de las enzimas, la iniciación del crecimiento del embrión, la ruptura de la testa de la semilla y la emergencia de la radícula y el tallo (Copeland y McDonald, 1985).

Taiz y Zeiger (2007) mencionan que a la par se da la movilización de nutrientes de las semillas, en el cual las reservas, principalmente almidón y compuestos proteicos son convertidos en azúcares simples y aminoácidos que son transportados y oxidados para nutrir el crecimiento y la elongación de la plántula.

Nanopartículas en la germinación de semillas

Algunas NPs ayudan a eliminar los microorganismos no deseados de suelos y de los sistemas hidropónicos, además se están utilizando como aerosol para prevenir hongos, podredumbre y moho, así como estimulador del crecimiento de las plantas. Actualmente, los avances en la NT giran en torno a la germinación de semillas (Hojjat y Kamyab, 2017). Por ejemplo, se ha informado que las NPs que contienen óxido de cobre (CuO), óxido de zinc (ZnO) y óxido de titanio (TiO₂), mejoran la germinación de semillas de avena, maíz, mostaza negra y pepino (Baz *et al.*, 2020).

Uno de los usos para la germinación, es el recubrimiento de semillas con NPs, de modo que, tiene el potencial de mejorar la emergencia y el crecimiento de las plántulas y la productividad de los cultivos, debido a que las semillas tratadas germinan más rápido y de forma más sincronizada que las semillas no tratadas (Duran *et al.*, 2017), lo cual, puede deberse a que funcionan como transportadores de nutrientes, creando una alta actividad, estabilidad y efectividad en la entrega de nutrientes, mejorando la germinación y el crecimiento (Liu *et al.*, 2016), por lo que, puede ser más viable y rentable en comparación con la fertilización del suelo (Duran *et al.*, 2017).

Óxido de magnesio y su efecto en los cultivos

El óxido de magnesio (MgO) disponible en el suelo, es un material que contiene Mg⁺⁺ en una concentración de 60%. Es una fuente excelente de Mg en suelos ácidos que frecuentemente tienen deficiencia de este nutriente (Espinosa *et al.*, 1999).

El Mg⁺⁺ es un elemento esencial para el desarrollo de cualquier cultivo, influenciando directamente su productividad, llegando a presentar hasta un 3 % de materia seca. Como elemento central de la molécula de clorofila, el Mg está ligado a la producción de energía, volviendo todas las demás funciones metabólicas dependientes de su actuación. El Mg⁺⁺ por ser fundamental en la fotosíntesis,

asiste indirectamente en el llenado de granos y de frutos, además favorece la absorción del fósforo y participa como activador enzimático. El Mg^{++} es muy móvil en el suelo, llega hasta la raíz principalmente por difusión, pero también por flujo en masa. La planta lo absorbe como Mg^{++} (Sequi, 2004).

Pigmentos presentes en *Beta vulgaris*

El betabel, contiene un grupo de pigmentos llamados betalaínas y le confieren el color rojo púrpura, específicamente del grupo de las betacianinas, llamadas Betaninas. Son compuestos que contienen nitrógeno y son solubles en agua. Además de dar coloración poseen actividad antioxidante. Las betalaínas participan en la inducción de la quinona reductasa, enzima de detoxificación en la quimio prevención del cáncer (Azeredo, 2009). Dichos compuestos son derivados del Ácido Betalámico, que son los responsables de su coloración roja. Su color se atribuye a los dobles enlaces conjugados, en donde el máximo de absorción de luz a 480 nm es para las betacianinas amarillas, y si se desplaza a 540 nm este es característico de las betacianinas rojas. Las Betacianinas son pigmentos hidrosolubles y existen como sales en las vacuolas de las células vegetales. En el área de alimentos han sido empleados principalmente como colorantes naturales (Chiu *et al.*, 2011). Las betalaínas pueden ser encapsuladas para aumentar su estabilidad. Los factores más importantes para considerar durante la encapsulación de los compuestos betalámicos son el proceso empleado (liofilización, extrusión, secado por atomización, etc.), la temperatura y el agente encapsulante, encontrándose resultados óptimos cuando se emplean mezclas de agentes encapsulantes tales como maltodextrina y goma xantana, y se emplea liofilización (Flores *et al.*, 2019).

En los últimos años se han estudiado las propiedades saludables de estos compuestos, entre las que se pueden destacar su actividad antioxidante, antidiabética, antiinflamatoria y anticancerígena (Mikolajczyk-Bator y Pawlak, 2016).

Las betalaínas también se concentran en el fruto de la pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H.), con un alto poder antioxidante (García *et al.*, 2012).

En la actualidad, el uso comercial de los pigmentos del betabel (betalaínas) está limitado por su inestabilidad, que responde a factores como la temperatura, la presencia de luz, de oxígeno y el pH, entre otros factores, sin embargo, el uso de técnicas de encapsulación aumenta su estabilidad, de esta manera estos compuestos puedan utilizarse para la elaboración de productos alimenticios.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnologías de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicada a 6 km al sur de Saltillo, Coahuila, México.

Germinación de semillas

Para ver el efecto de la aplicación de NPsMgO en betabel variedad Detroit Dark R, se utilizaron semillas y se establecieron siete tratamientos (0, 50,100,150, 200, 250 y 500 ppm), con cuatro repeticiones de 25 semillas cada uno.

Previo a la siembra, las semillas se imbibieron en cajas de Petri (60 x 15 mm), en donde se aplicó 10 ml de cada suspensión de acuerdo con el tratamiento. Cada caja de Petri contenía 105 semillas por tratamiento (cinco semillas de más por si alguna presentaba algún signo de deterioro).

Las cajas de Petri con las semillas inmersas en la suspensión fueron colocadas en una cámara bioclimática marca Thermo Scientific, a una temperatura de 25°C y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad, por 20 h. Posteriormente, la siembra se realizó entre dos capas de papel tipo Anchor, humedecido en agua destilada, colocando en forma horizontal las semillas, y enrolando en forma de taco. Los “tacos” se mantuvieron dentro de una bolsa de polietileno transparente de acuerdo con el diseño experimental, y estas se acomodaron en un contenedor de plástico. Enseguida los contenedores fueron introducidos en la cámara bioclimática. Se realizaron dos conteos, uno al cuarto día y otro al décimo día.

El bioensayo se estableció en un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento.

Variables evaluadas

Se evaluaron las siguientes variables: porcentaje de vigor de germinación (%), porcentaje de germinación (%), plántulas con alto vigor (%), plántulas con bajo vigor (%), porcentaje de plántulas anormales (%), porcentaje de semillas sin germinar (%), longitud de plúmula (cm), longitud de radícula (cm), y peso de materia seca (mg/plántula). Se determinó también el contenido de betacianinas en plántulas (mgC3GE /100 g).

Metodología de variables evaluadas

1. Porcentaje de vigor de germinación (VIGOR)

A los cuatro días después de la siembra entre papel Anchor, se llevó a cabo el primer conteo de las plántulas normales (raíz y plúmula bien desarrolladas), los datos se expresaron en porcentaje. Al finalizar el conteo, nuevamente se colocaron los tacos en la cámara bioclimática. Se consideraron como plántulas normales, aquellas que presentaron el potencial para continuar su desarrollo como plantas productivas, bajo condiciones adecuadas de luz, temperatura y humedad.

2. Porcentaje de germinación (GER)

Se evaluó en un segundo conteo que se realizó diez días después de la siembra entre papel, se consideraron todas aquellas plántulas que presentaron una raíz primaria vigorosa, y con la plúmula bien formada y desarrollada, y el resultado se expresó en porcentaje.

3. Plántulas con alto vigor (PAV)

Se consideraron plántulas con alto vigor a aquellas que mostraron raíz y plúmula bien desarrolladas, el resultado se expresó en porcentaje.

4. Plántulas con bajo vigor (BV)

Se consideraron como plántulas con bajo vigor a aquellas que mostraron una raíz muy corta o poco desarrollada, así como una plúmula corta y desproporcionada a su raíz, el resultado se expresó en porcentaje.

5. 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 por ciento.

6. Semillas sin germinar (SSG)

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

7. Longitud de plúmula y de radícula (LP) y (LR)

Se tomaron en cuenta todas las plántulas normales para evaluar estas variables, 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.

8. Peso seco de plántula (PS)

Para determinar esta variable, 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 de materia seca. El resultado se expresó en mg/plántula.

Extracción y Cuantificación de Betacianinas

Al finalizar el bioensayo de germinación, la repetición conservada intacta, se secó en una estufa por 24 horas a 70°C, enseguida se utilizó para determinación de betacianinas.

Para ello, las plántulas se maceraron en un mortero. A continuación, se utilizaron 200 mg de muestra macerada y se añadieron 10 mL de etanol – HCl 1 N (85:15 v/v, pH 1, 4 ° C), se purgó por 30 segundos con argón y se agitó durante 30 min a 200 rpm. Posteriormente, la muestra se centrifugó a 5000 rpm (4°C, 15 min) y finalmente, se midieron 3.5 mL de muestra a 536 nm. El contenido de betacianinas se expresó en miligramos de equivalentes de cianidina-3-glucósido (C3GE) por cien gramos de muestra (mgC3GE /100 g), como sigue: $C = (A/\epsilon) * (V/1000) * MW * (1 / \text{peso de muestra}) * 10^6$, donde: C = concentración en mgC3GE / L, A = absorbancia de la muestra, ϵ = absortividad molar (mgC3GE = 26,965 1 / cm 1 / mol), V = volumen de muestra, MW = peso molecular de C3G (449.2 g/mol).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presentan los cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en laboratorio, en los cuales se observó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para porcentaje de germinación, plántulas con alto vigor y plántulas con bajo vigor. Las variables porcentaje de vigor de germinación, plántulas anormales y semillas sin germinar no presentaron diferencias estadísticas en la fuente de variación tratamientos.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables evaluadas en laboratorio con la aplicación de NPsMgO.

F. V	G. L.	VIGOR (%)	GER (%)	PAV (%)	PBV (%)	PA (%)	SSG (%)
TRAT.	6	103.49NS	324.92**	272.39**	437.42**	13.39NS	5.65NS
ERROR	21	65.10	70.46	48.73	63.24	12.79	5.72
C.V. (%)		17.14	10.36	13.45	27.32	69.08	157.69

** = Significativo $P \leq 0.01$; * = Significativo $P \leq 0.05$; F.V. = Fuente de variación; G.L. = grados de libertad; GER = Germinación; PAV = Plántulas con alto vigor; PBV = Plántulas con bajo vigor; PA = Plántulas anormales; SSG = Semilla sin germinar.

El análisis de varianza para las variables relacionadas con el vigor de las plántulas y el contenido de Betacianinas se presenta en el Cuadro 2, la fuente de variación tratamientos resultó significativo ($P \leq 0.01$) para las variables longitud de plúmula y el peso seco de plúmula, mientras que, para la longitud de radícula, el peso seco de la radícula y el contenido de betacianinas resultaron significativas ($P \leq 0.05$). Las diferencias estadísticas se atribuyen a la respuesta a las NPsMgO absorbidas durante la primera fase del proceso de germinación.

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para variables evaluadas en laboratorio con la aplicación de NPsMgO.

F. V	GL	LP (cm)	LR (cm)	PSP (mg/planta)	PSR (mg/planta)	BETA (mgC3GE /100 g)
TRAT	6	0.4989**	0.3093*	0.0051**	0.0229*	40.9592*
ERROR	21	0.0572	0.0922	0.0019	0.01694	1.5551
C.V. (%)		6.57	8.99	15.22	14.54	15.62

** Significativo ($P \leq 0.01$); * Significativo ($P \leq 0.05$); NS= No significativo; F.V.= Fuente de variación; G.L.= Grados de libertad; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; PSP= Peso seco de plúmula; PSR= Peso seco de radícula; BETA= Betacianinas.

La comparación de medias para las variables relacionadas con la germinación y la calidad fisiológica de las semillas de betabel se presenta en el Cuadro 3, se observó para la variable porcentaje de vigor de germinación una respuesta en un rango de 39 (tratamiento de 50 ppm) a 53 % (150 ppm), sin embargo, no se detectaron diferencias estadísticas significativas.

Para la variable porcentaje de germinación se observó que, al tratar las semillas durante la imbibición con 150 ppm, se obtuvo un 92 %, mientras que con 200 ppm se redujo a 68%, siendo estadísticamente diferentes. Pero, al incrementar a 500 ppm hubo un repunte con 90 % de germinación. Esto se puede deber a que, al incrementar la dosis de las NPsMgO, se activó algún mecanismo fisiológico dentro de las semillas, reflejándose en una mejor respuesta de esta variable, sin embargo, ambos tratamientos (150 y 500 ppm) resultaron estadísticamente iguales.

Por otra parte, para la variable plántulas con alto vigor se observó una mejor respuesta (67%) con el tratamiento de 500 ppm de NPsMgO, siendo estadísticamente superior al resto de los tratamientos. En esta variable se presentó un valor medio de 51.57 %, por otra parte, para la variable plántulas de bajo vigor se presentó el valor más bajo (12 %) en el tratamiento con 200 ppm, pero estadísticamente igual a los tratamientos con 250 y 500 ppm. De acuerdo con Sequi (2004), el Mg se une a compuestos como la fitina, esta molécula es parte de

las reservas en las semillas, que participa en la nutrición del embrión durante la germinación. Además, el Mg es esencial para la síntesis de proteínas, que son fundamentales en el proceso germinativo.

Las variables porcentaje de plántulas anormales y de semillas sin germinar no presentaron diferencias estadísticas significativas, lo cual concuerda con el análisis de varianza.

Cuadro 3. Comparación de medias por tratamiento de las variables evaluadas en laboratorio.

Tratamiento	VIGOR	GER	PAV	PBV	PA	SSG
ppm	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
0	49 a	86 abc	48 b	38 ab	12 a	2 A
50	39 a	80 abc	45 b	35 ab	16 a	4 A
100	44 a	71 bc	42 b	29 abc	27 a	2 A
150	53 a	92 a	49 b	43 a	7 a	1 A
200	43 a	68 c	56 ab	12 c	25 a	7 A
250	52 a	78 abc	56 ab	22 bc	20 a	2 A
500	48 a	90 bc	67 a	23 bc	8 a	1 A
\bar{x}	46.8	80.7	51.85	28.85	16.5	2.72
Tukey	18.1	19.2	16.1	18.3	8.23	5.5

F.V.= Fuente de variación; VIGOR= Vigor de germinación; GER = germinación PAV = plántulas con alto vigor, PBV= plántulas con bajo vigor, PA= plántulas anormales, SSG= semillas sin germinar.

De acuerdo con los resultados anteriores, se observó que tratar a las semillas durante la inhibición con 150 ppm, mejora sustancialmente la capacidad germinativa. En este sentido, en las semillas con buena calidad fisiológica, se favorece a la germinación y el desarrollo de plántulas normales.

El incremento en el porcentaje del vigor podría atribuirse a la penetración de NPsMgO en las semillas, que permitió aumentar la imbibición de agua y micronutrientes, acelerando la degradación de reservas, beneficiando a las primeras etapas del proceso germinativo (Ruiz *et al.*, 2016). El vigor de la semilla

involucra la energía (ATP y NADPH) y compuestos metabólicos como carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Bewley, 1996), que se obtienen de las reservas de las semillas.

En el Cuadro 4 se presenta la comparación de medias por tratamientos para variables relacionadas con el vigor de plántula y con el contenido de betacianinas, se observó lo siguiente, para las variables longitud de plúmula y longitud de radícula se obtuvieron valores estadísticamente superiores de 4.2 y 3.84 cm respectivamente, con el tratamiento con 200 ppm NPsMgO. Mientras que los valores más bajos se observaron para LP con 150 ppm y para LR con 50 ppm de NPsMgO. La diferencia observada entre tratamientos es resultado de la división celular de los meristemas, principalmente. Además, el magnesio se requiere para la estabilidad de la membrana y la activación enzimática (Guo *et al.*, 2016).

Peretti (1994) menciona que el crecimiento de plántulas (radicular y vástago), se considera como dato de velocidad de crecimiento, es un atributo importante del vigor de las semillas, por lo que la evaluación de estas variables permite determinar la velocidad de crecimiento con respecto al testigo, en un periodo determinado.

En la variable peso seco de la plúmula, al tratar las semillas con 150 ppm, se obtuvo la mayor acumulación de materia seca, con 0.36 mg/plántula. Sin embargo, este tratamiento fue únicamente estadísticamente superior a 50 ppm, ya que el resto de los tratamientos resultaron ser estadísticamente igual, incluyendo al testigo.

No se observaron efectos de las NPsMgO en la variable peso seco de la radícula, ya que todos los tratamientos resultaron estadísticamente iguales al testigo. Lo anterior tiene sentido, ya que el magnesio forma parte de la molécula de la clorofila, dejando ver sus efectos principalmente en el peso seco de la plúmula, esto es, la parte verde de la plántula.

Con la relación a la cantidad de betacianinas, los resultados indican que imbibir las semillas con 100 ppm de NPsMgO, mejora significativamente su contenido, presentando 14.04mgC3ge/100 g.

Por otra parte, los tratamientos que presentan menor contenido de betacianinas fueron el testigo (0 ppm) y 50 ppm, ya que se redujo a 2.99 y 4.86 unidades de Mgc3/100 g, respectivamente.

Cuadro 4. Comparación de medias por tratamientos de las variables evaluadas en laboratorio.

Tratamiento (ppm)	LP (cm)		LR (cm)		PSP (mg/planta)		PSR (mg/ planta)		BETA (mgC3GE /100 g)	
0	3.71	abc	3.66	ab	0.29	ab	0.95	a	2.99	e
50	3.42	bc	3.08	b	0.23	b	0.75	a	4.86	e
100	3.31	bc	3.36	ab	0.28	ab	0.92	a	14.04	a
150	3.21	c	3.36	ab	0.36	a	0.79	a	8.98	bc
200	4.22	a	3.84	a	0.25	ab	0.89	a	6.39	cd
250	3.84	ab	3.14	ab	0.29	ab	0.97	a	10.65	b
500	3.78	ab	3.29	ab	0.32	ab	0.976	a	7.93	bcd
\bar{x}	3.14		3.37		0.28		0.89		7.97	
Tukey	0.55		0.69		0.12		0.36		3.38	

F.V.= Fuentes de variación, LP= Longitud de plúmula, LR= Longitud de plúmula, PSP= Peso seco de plúmula, PSR= Peso seco de radícula, BETA= Betacianinas, cm= Centímetro, mg= Miligramo, ppm= Partes por millón.

En el Cuadro 5 se presentan los coeficientes de correlación de Pearson para las variables evaluadas en plántula de betabel, se observó correlación negativa y significativa entre porcentaje de germinación y el porcentaje de plántulas de bajo vigor con $r = -0.6415^{**}$, mientras que la correlación con peso seco de plántula resulto positiva ($r = 0.5671^{**}$). Otra correlación importante se encontró entre el porcentaje de vigor de germinación y la variable porcentaje de plántulas con alto

vigor, con un valor de $r = 0.3690^*$. La correlación positiva y significativa que se dio entre las variables plántulas de alto vigor y longitud de plúmula ($r = 0.5591^{**}$), indica que la longitud de plúmula depende en gran medida del vigor de la plántula, esto es, de la parte metabólica de la planta. Por otra parte, se encontró una correlación negativa y significativa entre plántulas de alto vigor y plántulas de bajo vigor ($r = -0.4907^{**}$), lo cual es lógico ya que, al incrementarse el porcentaje de plántulas con bajo vigor, se reduce el porcentaje de plántula con alto vigor. Finalmente, se observó una correlación positiva y significativa entre la variable longitud de plúmula y la variable longitud de radícula ($r = 0.4338^*$). Es conocido que la relación del crecimiento del tallo y raíz varía durante el ciclo vegetativo, y que además es modificada por factores externos.

No se presentaron correlaciones significativas entre las variables fisiológicas y el contenido de betacianinas.

Cuadro 5. Coeficientes de correlación de Pearson entre variables evaluadas en laboratorio en plántulas de betabel.

	VIGOR (%)	PAV (%)	PBV (%)	PAP (%)	SSG (%)	PSP (mg/pl)	PSR (mg/pl)	LP (cm)	LR (cm)	BETA (mgC3GE /100 g)
GER	0.2847	0.3534	-0.6415**	0.0640	-0.1863	0.5671**	0.3083	-0.1305	-0.0977	-0.2263
VIGOR		0.3690*	-0.0374	-0.0873	-0.2027	0.2897	0.0677	0.0422	0.2084	0.0478
PAV			-0.4907**	0.2238	-0.2416	0.2614	0.0987	0.5591**	0.1383	-0.1225
PBV				-0.1238	0.0245	0.3475	0.3817	-0.5801**	-0.2045	-0.1172
PAP					0.0750	0.1152	0.2926	0.1096	-0.1845	-0.0755
SSG						-0.4390*	0.0242	-0.0988	-0.3523	-0.0425
PSP							0.0979	-0.1572	0.1949	0.2454
PSR								0.2603	0.2139	-0.1218
LP									0.4338*	-0.2811
LR										-0.3088

** Significativo $P \leq 0.01$; * Significativo $P \leq 0.05$; GER = Germinación; Vigor = Vigor de germinación; PAV= Plántulas con alto vigor; PBV= Plántulas con bajo vigor; PAP= Plántulas anormales; SSG= Semilla sin germinar; PSP= Peso seco de plúmula; PSR= Peso seco de radícula; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; BETA= Betacianinas.

CONCLUSIONES

Imbibir las semillas en suspensiones con NPsMgO, tuvo efectos positivos en las variables relacionadas con el vigor de las semillas y de plántulas.

El porcentaje de germinación se incrementó de 86 (0 ppm) a 92 %, al imbibir semillas con 150 ppm NPsMgO.

El efecto de las NPsMgO se observó también en la variable porcentaje de plántulas con alto vigor, ya que el tratamiento con 500 ppm superó estadísticamente al testigo en un 19 %.

Mayor longitud de plúmula y de radícula se observó al tratar semillas con 200 ppm NPsMgO.

En la acumulación de materia seca de plántula, 150 ppm obtuvo el valor más alto con 0.36 mg/plántula, aunque estadísticamente igual al testigo que obtuvo 0.29 mg/plántula.

Tratar las semillas con 100 ppm de NPsMgO incrementó considerablemente la concentración de Betacianinas con respecto al testigo (2.99 a 14.04 gC3GE /100 g).

Se presentó una correlación positiva y significativa entre el porcentaje de germinación y el peso seco de plántula ($r = 0.5671^{**}$), y correlación positiva entre las variables plántulas con alto vigor y longitud de plúmula ($r = 0.5591^{**}$).

BIBIOGRAFÍA

- Azeredo H., M. C. 2009. Betalains: properties, sources, applications, and stability- a review. *Int. J. Food Sci. Tech.* 44:2365-2376.
- Ali, M.A., Rehman, I., Iqbal, A., Din, S., Rao, A.Q., Latif, A., Samiullah, T.R., Azman, S., and Husain T. 2014. Nanotechnology: A new frontier in agriculture. *Advancements in Life Sciences.* 1(3): 129-138.
- Baz, H., Creech, M., Chen, J., Gong, H., Bradford, K., and Huo, H. 2020. Water-soluble carbon nanoparticles improve seed germination and post-germination growth of lettuce under salinity stress. *Agronomy*, 10(8), 1192. <https://doi.org/10.3390/agronomy10081192>
- Bewley, J. D. 1986. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration in seed storage. *Food and Agriculture Organization of the United Nations.* p. 22
- Buu, Q., Hien, T., Chau, H., Tin, X., Van, T., Duong, T., and Ha, T. 2014. Effects of nano crystalline powders (Fe, Co, and Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese species DT-51). *Vietnam Academy of Science and Technology* 5:1-7.
- Chiu Z., R., Marañón R., V.F., y Rizo de la Torre, L. del C. 2011. Caracterización de las propiedades ópticas de Betacianinas y Betaxantinas por espectroscopía Uv-Vis y barrido en Z. *Superficies y Vacío* 24(4):113-120.
- Copeland L.O., and McDonlad M.B. 1985. *Principles of seed Science and Technology.* 2a. Edition McMillan Publishing Company. New York. N.Y.
- De Longe, M.S., Miles, A. and Carlisle, L. 2016. Investing in the transition to sustainable agriculture. *Environmental Science y Policy*, 55, 266-273. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.aasci.2016.05.013>.
- Duran, N. M., Savassa, S. M., Lima, R. G. de, de Almeida, E., Linhares, F. S., van Gestel C., A. M., and Pereira de Carvalho, H. W. 2017. *X-ray Spectroscopy Uncovering the Effects of Cu Based Nanoparticle Concentration and Structure on Phaseolus vulgaris Germination and Seedling Development.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(36), 7874–7884. doi:10.1021/acs.jafc.7b03014.
- Espinosa, J. y Molina, E. 1999 *Acidez y encalado de suelos.* International Plant Nutrition Institute International Plant Nutrition Institute. San José de Costa Rica. 46 p.
- Flores M., M. A., A.L. Rentería Monterrubio, R. Sánchez Vega, A. Chávez Martínez. 2019. Estructura y estabilidad de las betalaínas. *Interciencia* Vol. 44 (6). pp. 318-325.

- García C., L., M. Y. Salinas M., y S. Valle G. 2012. Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H.). *Rev. Fitotec. Mex* [online]. 2012, vol.35, pp. 01-05. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000500003&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0187-7380.
- García L., J., Ruiz T., N.A., Lira S., R.H. Vera Reyes, I., Méndez Arguello, B. 2019. Técnicas para evaluar germinación, vigor y calidad fisiológica de semillas sometidas a dosis de nanopartículas. 2º Simposio Agronotecnología. Saltillo, Coah. México.
- Guo, W., Nazim, H., Liang, Z., and Yang, D. 2016. Magnesium deficiency in plants: An urgent realistic problem. En: *The Crop Journal* 4.2, 83-91. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2015.11.003>.
- Guzmán, A. y Toledo O., A. 2009. Las nanotecnologías: un paradigma tecnológico emergente. Dinámica y especialización en la innovación de las tecnologías. Razón y palabra. Vol. 68. pp.1-32.
- Hartmann, H.T. y Kester, D.E. 1982. Propagación de plantas. Ed. C.E.C. S.A. México. 693 p.
- Hermans C., Johnson, G.N., Strasser, R.J. and Verbruggen, N. 2004. Physiological characterization of magnesium deficiency in sugar beet: acclimation to low magnesium differentially affects photosystems I and II. *Planta* 220 (2):344–355.
- Hojjat, S. S., and Kamyab, M. 2017. The effect of silver nanoparticle on Fenugreek seed germination under salinity levels. *Russian agricultural sciences*, 43(1), 61-65. DOI: 10.3103/S1068367417010189
- Liu, R., Zhang, H., and Lal, R. 2016. Effects of stabilized nanoparticles of copper, zinc, manganese, and iron oxides in low concentrations on lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination: Nanotoxicants or Nanonutrients? *Water, Air, & Soil Pollution*, 227(1). doi:10.1007/s11270-015-2738-2.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. New York: Academic Press. USA.
- Mayer, A.M. Poliakoff-Mayber, A. 1982. The germination of Seeds. 2nd Edition. Pergamon Press.
- Mendoza Uribe, G. y Rodríguez López, J.L. 2007. La nanociencia y la nanotecnología: una revolución en curso. *Perf. Latinoam.* vol.14(29), México.
- Mikolajczyk-Bator, K., and Pawlak, S. 2016. The effect of thermal treatment on antioxidant capacity and pigment contents in separated betalain fractions. *Acta Sci. Pol. Technol. Alim.* 15: 257-265. xford, N.Y. 192 p.

- Moreno M.E. 1976. Manual Para el Análisis de Semillas. Productora Nacional de Semillas PRONASE, México, D.F.
- Muckhpopadhyay, S. 2014. Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints. J. Nanotechnology, Science and Applications. 7(1):63-71.
- Peretti A., 1994. Manual para análisis de semillas. Ed. Hemisferio Sur. INTA. 1ª Ed. Argentina. 281 p.
- Prasad, R., Kumar, V., and Suranjit Prasad, K. 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: Present concerns and future aspects. African Journal of Biotechnology. 13(6):705-713.
- Ruiz T., N.A., García L., J. I., Lira S., R. H., Vera R., I., y Méndez A., B. 2016. Efecto de nanopartículas metálicas y derivadas del carbón en la fisiología de semilla. Agronanotecnología, nueva frontera de la revolución verde. 2o Simposio Internacional de Agro Bio Nanotecnología. Saltillo, Coah., México.
- 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.
- Sequi, P. 2004. Los microelementos en la nutrición vegetal. 3a (Ed.). Ediciones Mundi Prensa. Italia. 78 p.
- Singh, B., y Jajpura L. 2016. Sustainable Agriculture: A Key to the Healthy Food and Better Environment, Economic Prosperity for Farmers, and a Step towards Sustainable Development. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 5(1), 148-156.
- Solanki, P., Bhargava, A., H. Chhipa, Jain, N. and Panwar, J. 2015. Nano-fertilizers and their smart delivery system. *In: Nanotechnologies in food and agriculture*. M. Rai *et al.* (eds.). pp. 81-101.
- Taiz L., and Zeiger, E. 2103. Plant physiology. Ed. Sinauer Associates. 782 p.