

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Evaluación del Efecto de Nanopartículas Comerciales de Óxido de Zinc mediante  
Parámetros de Calidad Fisiológica en Semillas de Maíz (*Zea mays L.*)

Por:

**JOSUE FIGUEROA LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Evaluación del Efecto de Nanopartículas Comerciales de Óxido de Zinc mediante  
Parámetros de Calidad Fisiológica en Semillas de Maíz (*Zea mays L.*)

Por:

**JOSUE FIGUEROA LÓPEZ**

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. Neymar Camposeco Montejo  
Coasesor

  
Dr. Froylán Rincón Sánchez  
Coasesor

  
Dr. José Antonio González Fuentes  
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2022



### **Derechos de Autor y Declaración de no plagio**

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y 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, gráficas, 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 el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

Autor principal



---

Josue Figueroa López

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS**

*Por haberme permitido llegar hasta este punto, por acompañarme y haberme guiado para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor; por ello, con toda la humildad que mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi trabajo a DIOS.*

### **A MIS PADRES**

*Con cariño y amor a las dos personas más importantes en mi vida, a mis padres a los que admiro y quiero mucho, quienes me han brindado el tesoro más valioso que pueden darle a un hijo, quienes sin escatimar esfuerzo alguno han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme. Gracias por haber puesto su confianza en mí e impulsarme a seguir adelante.*

#### ***Daniel Figueroa López***

*A ti papá porque siempre estuviste dispuesto a apoyarme, en todos mis anhelos, por respetar siempre mis decisiones y luchar a mi lado para conseguir este sueño, por sentirte siempre orgulloso de mí y ser el súper héroe de mi vida, por tu confianza y entrega para sacarnos a mí y a mis hermanos siempre adelante, este logro también es tuyo porque sin ti no habría podido llegar tan lejos, eres mi orgullo y mi ejemplo a seguir hoy y siempre.*

#### ***Matilde López Gómez***

*A ti mamá por creer en mí y ser el ángel más grande que Dios pudo haber puesto en el camino, por ser mi mejor amiga, mi guerrera incansable, mi ejemplo a seguir adelante, mi valiente y fiel compañera en todas mis desgracias y mis aciertos, porque siempre has estado ahí para mí con los brazos abiertos cuando más lo necesito. Te dedico este logro que es también tuyo porque siempre me has acompañado en todo el camino, porque en ti encuentro la fuerza para levantarme ante mis tropiezos y porque eres la persona que más admiro en el mundo, infinitas gracias por tu entrega total e incondicional.*

## **A MIS HERMANOS**

*Por brindarme sus apoyos cuando los necesitaba para seguir adelante con mis estudios, porque son parte esencial en mi vida, gracias por estar conmigo siempre, con todo respeto y cariño este logro también son suyos.*

**Lilian Esther Figueroa López**

**Noé Figueroa López**

**Daniela Figueroa López**

**Dayma Esteysi Figueroa López**

**Emili Figueroa López**

## **A MI ESPOSA Yuliana Vázquez Diaz**

*Hemos llegado al final de este camino, te agradezco por el apoyo y animo brindado en todo momento, por compartir días de tristeza, y alegría, por contar contigo en todo momento, y por el amor que me demuestras cada día, por ser mi amiga, mi cómplice y la madre de mi hijo. Con mucho cariño puedo decirte que lo hemos logrado. ¡Gracias por todo!*

## **A MI HIJO Ian Josue Figueroa Vázquez**

*Con mucho cariño y amor te dedico este trabajo, eres mi orgullo y mi gran motivación, eres la razón de mi existir, tu afecto y cariño son detonantes de mi felicidad, de mi esfuerzo, de mis ganas de sobre salir y de darte lo mejor para ti.*

*A mis familiares y todos aquellos que creyeron en mí, a quienes a pesar de la distancia siempre supieron ser buenos amigos en las alegrías y en las penas, a todos los que formaron parte de este sueño. Al término de esta etapa de mi vida, quiero expresar un profundo agradecimiento a quienes con su apoyo y comprensión me exhortaron a lograr esta realidad.*

***¡por eso y más gracias!***

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A DIOS**

*Primeramente, me gustaría agradecerle a ti DIOS, por haberme acompañado y guiado a lo largo del camino, bendecirme y darme la maravillosa oportunidad de concluir mi carrera profesional que, durante años fue uno de los sueños más anhelados, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y dificultades, gracias por cruzar a gente excepcional en mi camino y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad. Gracias a ti nunca estuve solo por eso y más, Amen.*

### **A MIS PADRES**

#### ***Daniel Figueroa López y Matilde López Gómez***

*Por su amor incondicional y su incansable apoyo durante todas las etapas de este importante logro, por alentarme a luchar por mis sueños, por estar ahí siempre que más los necesité, por recordarme a cada momento que en la vida lo que más cuesta es lo que realmente vale la pena, por los valores que me han inculcado y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo, por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.*

### **A MIS HERMANOS: Lilian Esther, Daniela, Emili, Noé y Dayma Esteysi**

*Por ser parte importante de mi vida, por el apoyo incondicional brindado en momentos de necesidad, por la confianza puesta en mí, por sus consejos, ánimos, alegrías, etc. y que sin importar cuál sea la distancia, los hermanos siempre estarán para apoyarse en todo, gracias por representar la unidad familiar.*

### **A MI ESPOSA E HIJO**

*A Yuliana Vázquez Diaz por brindarme todo su apoyo, comprensión, su total confianza y amor, así como su paciencia para concluir con una meta más, así como todas las que nos faltan juntos, ¡Gracias! y a mi hijo Ian Josue Figueroa Vázquez por ser siempre mi inspiración, motivación y orgullo en la vida.*

*Con profundo agradecimiento a mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) “ALMA TERRA MATER” por abrirme las puertas y acogerme cálidamente*

*durante estos años haciéndome sentir en casa, por darme la oportunidad y la dicha de forjarme profesionalmente, por darme las herramientas necesarias que contribuyeron a mi formación, porque en ti tuve la dicha de conocer a personas extraordinarias, conocí a excelentes profesores que me brindaron sus enseñanzas y amigos que se convirtieron en mi familia, gracias por cada experiencia concedida. **¡Buitres por siempre!***

***A la Dra. Norma Angélica Ruiz Torres** por darme la oportunidad y la confianza de realizar este trabajo de investigación, por su amistad, por sus consejos, por el tiempo y esfuerzo que me dedico para lograr llevar acabo esta tesis hasta el final, mil gracias por haberme brindado su apoyo incondicional, quien, con sus conocimientos, experiencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.*

***A la Dra. Diana Jasso Cantú** le agradezco por todo el apoyo brindado a lo largo de la carrera, por su amistad, su amabilidad, consejos y por exhortarme siempre hacer las cosas con el corazón, por su vocación de servicio, gracias una y otra vez por su contribución y aprecio.*

*A mi tutor **El Dr. José Espinoza Velázquez** por ser parte fundamental de mi formación académica, por creer en mí y exhortarme a hacerle frente a las difíciles circunstancias que se fueron presentando en el camino con valor y confianza en mí mismo, gracias por sus sabios consejos y por todo el aprecio que siempre supo manifestar.*

***A mis amigos y compañeros de la generación** no me es posible nombrar a todos ya que cada uno de ustedes formaron parte de esta maravillosa experiencia que es la universidad, gracias por todo el apoyo brindado y vivencias inolvidables, son la familia que elegí.*

***A mis profesores** que durante toda mi carrera profesional han aportado con un granito de arena a mi formación moral y profesional con cada uno de sus conocimientos y experiencias compartidas. Gracias por sus amistad, apoyo y confianza.*

*Al igual, agradezco a todos aquellos que directa e indirectamente participaron en la culminación de una etapa más de mi desempeño como estudiante y profesionista.*

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS .....	ix
ÍNDICE DE ANEXOS .....	x
RESUMEN.....	xi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. OBJETIVOS.....	3
Objetivo general .....	3
Objetivos específicos .....	3
Hipótesis.....	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
La importancia del maíz.....	4
La Nanotecnología.....	4
Definición de nanopartículas.....	5
La nanotecnología en la agricultura.....	6
Importancia del Zinc en los cultivos.....	7
Deficiencia y toxicidad del zinc en las plantas .....	8
Nanopartículas de Óxido de Zinc (NPsZnO).....	9
Nanopartículas aplicadas en la germinación de semillas.....	10
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
4.1 Ubicación del sitio experimental .....	13
4.2 Preparación de suspensiones con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO).....	13
4.3 Material biológico .....	13
4.4 Establecimiento del bioensayo .....	13
4.4.1 Imbibición de las semillas.....	13
4.4.2 Siembra en papel anchor .....	14
4.5 Evaluación del bioensayo.....	14
4.5.1 Variables evaluadas .....	14
4.6 Metodología para la evaluación de las variables .....	15
4.7 Análisis estadístico del bioensayo .....	17
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
VI. CONCLUSIONES.....	30
VII. LITERATURA CITADA .....	32
VIII. ANEXOS .....	39



## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz ( <i>Zea mays L.</i> ), tratadas con NPsZnO en laboratorio.....	19
Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz ( <i>Zea mays L.</i> ), tratadas con NPsZnO en laboratorio.....	20
Cuadro 3. Comparación de medias de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz ( <i>Zea mays L.</i> ), tratadas con NPsZnO en laboratorio, en diferentes concentraciones.....	24
Cuadro 4. Comparación de medias de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz ( <i>Zea mays L.</i> ), tratadas con NPsZnO en laboratorio, en diferentes concentraciones.....	25
Cuadro 5. Coeficientes de correlación Pearson de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz ( <i>Zea mays L.</i> ), tratadas con NPsZnO en laboratorio, en diferentes concentraciones.....	28

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Peso seco de plúmula y peso seco de radícula (mg/plántula) por concentración en plántulas, obtenidas de las semillas de maíz ( <i>Zea mays</i> L.) tratadas con NPsZnO en el bioensayo de germinación. ....	39
Anexo 2. Longitud de plúmula y longitud de radícula (cm) por concentración en plántulas, obtenidas de las semillas de maíz ( <i>Zea mays</i> L.) tratadas con NPsZnO en el bioensayo de germinación. ....	39
Anexo 3. Contenido de clorofila (SPAD) por concentración en plántulas, obtenidas de las semillas de maíz ( <i>Zea mays</i> L.) tratadas con NPsZnO en el bioensayo de germinación. ....	40

## RESUMEN

### **Evaluación del Efecto de Nanopartículas Comerciales de Óxido de Zinc mediante Parámetros de Calidad Fisiológica en Semillas de Maíz (*Zea mays L.*)**

El presente trabajo fue desarrollado 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), Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, con el objetivo de evaluar mediante un bioensayo el efecto de la aplicación de las nanopartículas comerciales de óxido de zinc (NPsZnO), en el proceso germinativo de semillas de maíz (*Zea mays L.*), y analizar su respuesta en parámetros de calidad fisiológica.

El bioensayo consistió de ocho tratamientos de NPsZnO a diferentes concentraciones (0, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 ppm), cada tratamiento constó de 100 semillas fraccionadas en 4 repeticiones de 25 cada una.

El estudio se estableció en cajas de Petri, aplicando 30 ml de suspensión en cada caja según el tratamiento correspondiente, mientras que el testigo (0 ppm) consistió únicamente en agua destilada, las semillas se sometieron a un proceso de imbibición con dichas concentraciones en una cámara de germinación Thermo Scientific, por 24 horas a una temperatura de 25°C.

Una vez concluido el periodo de imbibición, se realizó la siembra utilizando el método de germinación entre papel, colocando las 25 semillas por repetición en una hilera horizontal, entre dos capas de papel Anchor previamente humedecidas con agua destilada, enrolladas en forma de “taco”, los cuales se introdujeron en bolsas de polietileno transparentes identificadas, y éstas en un contenedor ubicado dentro de una cámara de germinación Thermo Scientific, a una temperatura de 25°C por 8 días, y un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

Las variables evaluadas fueron: el porcentaje de vigor de germinación, el porcentaje de germinación que incluyó plántulas de alto (PAV) y de bajo vigor (PBV), plántulas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG), longitud de plúmula (LP) (cm), longitud de radícula (LR), peso seco de plúmula (PSP), peso seco de radícula (PSR), contenido relativo de clorofila (CLO). Para la evaluación de estas variables se realizaron dos conteos, a los 4 y 8 días después de la siembra.

Los datos de las variables evaluadas, se sometieron a un análisis de varianza, para determinar las diferencias estadísticas entre tratamientos y concentraciones. De manera adicional se llevó a cabo una comparación de medias utilizando la Prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), para establecer el orden de eficiencia de los tratamientos de las (NPsZnO). Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el paquete estadístico SAS (2004).

Los resultados obtenidos en este estudio indican que las plántulas mostraron una mejor respuesta fisiológica para la expresión del peso seco de plúmula y de radícula, longitud de plúmula y de radícula, y contenido de clorofila, además de disminuir el porcentaje de semillas sin germinar, al aplicar concentraciones de 200, 400 y 1000 ppm de NPsZnO, generando un efecto positivo en las variables evaluadas con respecto a los demás tratamientos. Esto indica que, a dosis altas moderadas se promueve un incremento notorio en estas variables, como resultado del estímulo que las NPsZnO generan durante los procesos de imbibición y de germinación de las semillas.

El porcentaje de vigor y de germinación no mostraron un mejor comportamiento al tratar las semillas con NPsZnO, puesto que no se observó diferencia estadística, sin embargo, su efecto se apreció posterior a la emergencia de la radícula, generando plántulas con raíces y tallos más largos.

Estos resultados manifestaron una correlación positiva significativa entre la variable vigor de germinación y las siguientes variables: porcentaje de germinación, plántulas de alto vigor, peso seco de radícula, longitud de plúmula y contenido de clorofila. En este estudio se aprecia la posibilidad de generar un incremento en la respuesta fisiológica de los diferentes cultivos, a través del efecto promotor que poseen las NPsZnO en diversas variables asociadas con la germinación y crecimiento de plántula durante el proceso de desarrollo, asumiendo que la concentración óptima depende del tipo de la especie vegetal en estudio.

**Palabras clave:** Nanopartículas (NPs), Óxido de Zinc (ZnO), Germinación, Plántulas, Radícula, Peso Seco, Fisiología de Semilla, Parámetros de Calidad.

## I. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays L.*), es una de las plantas de cultivo más importantes de México y del mundo, puesto a que es uno de los cereales y granos alimenticios considerado en la subsistencia de millones de personas, además, es la materia prima estratégica de la ganadería y la industria de alimentos. En la historia, el maíz y el ser humano han tenido una estrecha relación con la vida.

Sin embargo, las técnicas tradicionales para la producción de maíz no permiten que este cultivo exprese su potencial de rendimiento, es por ello que, a través de los años este cereal ha sido el objeto de varios estudios a nivel genético, molecular y sobre todo agronómico, para mejorar su potencial productivo, mediante el empleo de herramientas tecnológicas, así como la ingeniería genética y los métodos de mejoramiento convencionales.

Actualmente, la exigencia de alternativas inteligentes y practicas más razonables en la producción de alimentos es definitivo para confrontar el aumento constante de la población mundial, la demanda de alimentos y el agotamiento descuidado de los recursos globales.

Con lo anterior, existen herramientas del ramo de la ciencia y la tecnología, las cuales han adquirido un gran auge en los últimos tiempos, debido al impacto generado en trabajos experimentales de investigación científica, en las cuales sobresalen las nanociencias (NCs) y la nanotecnología (NT). En este sentido, la NT tiene la capacidad de revolucionar la industria agrícola y alimentaria con nanoherramientas novedosas, de forma que al operar con las partículas más pequeñas posibles da expectativas de corregir y eficientar significativamente la productividad agrícola al descubrir los problemas sin resolver de manera convencional.

En relación con lo mencionado, las nanopartículas (NPs) de óxidos metálicos ya sean puras o mezcladas, están siendo estudiadas globalmente por su potencial agrícola como promotores de crecimiento, nanofertilizantes y antimicrobiales en los diferentes cultivos. Tal es el caso de las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) en el sector agrícola, son estudiadas por su potencial como nanofertilizantes corrigiendo las deficiencias de zinc y promoviendo crecimiento y desarrollo en las plantas, dado que el zinc es un nutriente vital necesario para las plantas, los animales y los seres humanos.

Con la finalidad de encontrar beneficios de la aplicación de la NT en la agricultura, se considera necesario plantear y realizar investigaciones oportunas en las diferentes áreas, respecto a los efectos que las NPs promueven en la producción de los cultivos. La aplicación de NPs en semillas es una de las principales áreas por analizar, puesto que son la base fundamental para el aseguramiento de un cultivo productivo e insumo de mayor importancia en la agricultura.

Con base a lo anterior, en el presente trabajo se presentan los resultados de la evaluación de los efectos fisiológicos que tiene la aplicación de las nanopartículas comerciales de óxido de zinc (NPsZnO), a diferentes concentraciones, en el proceso de germinación en semillas de maíz (*Zea mays L.*), así como su respuesta en parámetros de calidad fisiológica.

## II. OBJETIVOS

### Objetivo general

- Evaluar la respuesta de la aplicación de las nanopartículas comerciales de óxido de zinc (NPsZnO), en el proceso germinativo de semillas de maíz y analizar su respuesta en parámetros de calidad fisiológica y de contenido de clorofila.

### Objetivos específicos

- Determinar las posibles diferencias de las respuestas del vigor y de la germinación de semillas de maíz, al ser tratadas con diferentes concentraciones de NPsZnO.
- Evaluar el efecto promotor o inhibidor del uso de las NPsZnO sobre el crecimiento y biomasa de plántulas de maíz.
- Conocer si el uso de NPsZnO en semillas de maíz tiene un efecto positivo o negativo sobre la síntesis de clorofila.

### Hipótesis

#### Hipótesis nula

- La aplicación de nanopartículas de óxido de zinc a bajas concentraciones en la etapa de imbibición estimula la germinación de las semillas, el vigor en plántulas, así como la síntesis de clorofila en *Zea mays L*, mientras que en altas concentraciones generan fitotoxicidad.

#### Hipótesis alterna

- El efecto de bajas concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc en la etapa de imbibición no promueve la germinación de las semillas, ni el vigor en plántulas, ni incrementa la síntesis de clorofila en *Zea mays L*, mientras que en altas concentraciones generan una mejor respuesta en las mismas.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### **La importancia del maíz**

El maíz (*Zea mays L.*), es uno de los granos alimenticios más antiguos y cultivados en el mundo, en el 2019 México obtuvo una producción de 27, 228,242 toneladas, colocándolo así en el 8<sup>vo</sup> productor a nivel mundial, una de las ventajas que tiene este cereal es que es el único que puede ser utilizado como alimento en cualquiera etapa de su desarrollo tanto para consumo humano y animal, el grano es una cariósida de forma aplasta teniendo un alto contenido de carbohidratos y proteínas siendo el cereal ideal, con un consumo anual per cápita de 335.8 kg (Strable y Scanlon, 2009; SIAP, 2020).

Las técnicas tradicionales para la producción de maíz, con solo la preparación del suelo y la siembra no permite que el cultivo exprese su potencial de rendimiento, es por ello que, a través de los años este cereal ha sido objeto de muchos estudios a nivel genético, molecular y sobre todo agronómico, esto para explorar su potencial productivo, por lo cual, se buscan nuevas tecnologías que ayuden a mejorar la producción del cultivo (Boada y Espinosa, 2016).

Con lo anterior, preexisten aplicaciones y herramientas del ramo de la ciencia y la tecnología donde convergen las diversas áreas del conocimiento, las cuales han alcanzado un gran apogeo en los últimos tiempos, esto se debe al efecto que ha generado en trabajos experimentales de investigación científica, dentro de las cuales sobresalen las nanociencias (NCs) y la nanotecnología (NT), la importancia de esta radica en que en el mundo nanométrico los materiales pueden adquirir o realzar propiedades diferentes a las que tienen a escala macroscópica (Mendoza y Rodríguez, 2007).

#### **La Nanotecnología**

La Nanotecnología (NT) no es algo inédito, ya que ha estado presente en la civilización desde la antigüedad, los orígenes de esta ciencia se remontan a las deducciones de investigación generados por el físico estadounidense Richard Phillips Feynman, quien se ha considerado como el padre de la nanotecnología moderna y ganador del premio Nobel de Física en 1965 (Hulla *et al.*, 2015).



El termino Nanotecnología lo otorgó el Prof. Norio Taniguchi de la Universidad de Ciencias de Tokio en el año de 1974 (Quintili, 2012). Este vocablo se (deriva del griego *nanno* que significa enano), ciencia la cual estudia, diseña, sintetiza, manipula y controla la materia en escala nanométrica o nanoestructuras en dimensiones entre 1 y 100 nm, las cuales esta a su vez están formadas por átomos y moléculas quienes dan origen a las nanopartículas, nanotubos, nanofibras, etc., debido a su tamaño estas nanoestructuras presentan propiedades físicas, químicas y biológicas mejoradas (Álvarez *et al.*, 2008).

En el campo prometedor de investigación, la NT es una de las ramas multidisciplinaria, ya que esta abre paso a una extensa gama de oportunidades en diversos campos como la medicina, los productos farmacéuticos, la electrónica, la ingeniería y la agricultura. El uso potencial y los beneficios de esta ciencia son enormes y considerables para revolucionar los sectores de la salud, la industria textil, los materiales, la tecnología de información y comunicación, la industria agrícola y alimentaria con aplicaciones novedosas en la agricultura como un enfoque moderno (Prasad *et al.*, 2014).

### **Definición de nanopartículas**

El termino Nanopartícula es genérico y está referido a estructuras nanoscopicas con un diámetro en el rango 1 y 100 nm. Estas partículas incluyen nanocristales, dendrímeros y puntos cuánticos, pueden ser nanoesferas o nanocápsulas dependiendo del método de preparación (Álvarez *et al.*, 2009). El interés que presentan las NPs se basa en la reducción del tamaño, la cual lleva consigo nuevas propiedades no presentes normalmente a escala macroscópica, estas características les otorga la capacidad de translocarse y modificarse bioquímicamente en vivo (Peng *et al.*, 2015).

Las NPs tienden a liberar de manera controlada los agroquímicos y disponer específicamente el sitio de diferentes macromoléculas que demanden un uso eficiente de los nutrientes, mejorando la resistencia a las enfermedades y lograr el crecimiento de las plantas, técnicas como la nanoencapsulación exponen el beneficio de un uso más eficiente y una administración más positiva de los plaguicidas, funguicidas, herbicidas y fertilizantes, con una menor exposición al medio ambiente (Nair *et al.*, 2010).

Ruffini y Cremonini (2009) señalan que las nanopartículas pueden elaborarse a partir de una gran diversidad de materiales a granel, el tamaño, forma y su constitución química es de suma importancia para definir su comportamiento efectivo o dañino en las plantas, esto explica las acciones en la reactividad y la toxicidad de las NP, tomando en cuenta estos aspectos, no es sorprendente descubrir efectos positivos o negativos de las nanopartículas.

Por otro lado, Ma *et al.* (2010) consideran que los impactos de estos nanocompuestos en las plantas cambian según la composición, concentración, tamaño y otras propiedades físico-químicas de las mismas, e inclusive de la especie vegetal de estudio. Por lo que se han documentado efectos de incremento e inhibición con el uso de las NPs en las plantas de cultivo, estas variaciones se deben según la especie de planta, las etapas de crecimiento, las condiciones de crecimiento, el método, la dosis, y la duración de la exposición a las NPs junto con otros factores (Rizwan *et al.*, 2016).

Todas las nanopartículas de óxidos metálicos (Zn, Cu, Ag, Ce, Ti, etc.) intervienen en el crecimiento y desarrollo de las plantas. En general, mejoran o reducen la germinación de semillas, el crecimiento de brotes/raíces, la producción de biomasa y las actividades fisiológicas y bioquímicas. La absorción y translocación de nanopartículas metálicas en diferentes partes de la planta depende de su biodisponibilidad, concentración, solubilidad y tiempo de exposición (Siddiqi y Husen, 2017).

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

Sekhon (2014) menciona que la agricultura es la columna vertebral de la mayoría de los países que se encuentran en desarrollo y proporciona alimentos a la población humana y animal, directa e indirectamente. Sin embargo, en la actualidad estos sistemas agrícolas mundiales, se afrontan a numerosos desafíos sin precedentes, como la disminución en la producción de los cultivos debido al estrés biótico y abiótico, incluida la deficiencia de nutrientes y la contaminación ambiental por la agricultura convencional, entre otros (Shang *et al.*, 2019).

La exigencia de alternativas inteligentes y practicas más razonables en la producción de alimentos es decisivo para confrontar el aumento constante de la población mundial y el

agotamiento descuidado de los recursos globales (Sameh *et al.*, 2021). Por lo tanto, las aplicaciones de la nanotecnología (NT) en el sector agroalimentario y en los sistemas agrícolas son numerosas y son los campos de más rápido desarrollo en la nano-investigación, de forma que al operar con las partículas más pequeñas posibles da expectativas de corregir y eficientar significativamente la productividad agrícola al descubrir los problemas sin resolver de manera convencional (Lira *et al.*, 2018; Chinnamuthu y Murugesu, 2009).

En este contexto, la nanotecnología posee la capacidad de revolucionar la industria agrícola y alimentaria con nanoherramientas novedosas para el manejo de la biología molecular y celular, administración y detección rápida de enfermedades, reparando así la capacidad de las plantas para absorber los nutrientes o pesticidas, etc. Además, la NT puede mejorar nuestra comprensión de la biología de los distintos cultivos y, por lo tanto, se puede recuperar potencialmente los rendimientos o valores nutricionales, al igual que desarrollar sistemas mejorados para monitorear las condiciones ambientales brindando rutas hacia cultivos de valor agregado o remediación ambiental (Tarafdar *et al.*, 2013).

La implementación de esta tecnología en la agricultura incluyen: 1) nanoformulaciones de agroquímicos para la aplicación de pesticidas y fertilizantes para el mejoramiento de cultivos; 2) la aplicación de nanosensores / nanobiosensores en la protección de cultivos para la identificación de enfermedades y residuos de agroquímicos; 3) nanodispositivos para la manipulación genética de plantas; 4) diagnóstico de enfermedades de las plantas; 5) salud animal, cría de animales, producción avícola; y 6) manejo poscosecha (Sekhon, 2014).

En la agricultura moderna de precisión y en aspectos vinculados con la producción de alimentos las nanopartículas metálicas como cobre, zinc, hierro y plata; y las derivadas del carbono poseen considerables efectos fisiológicos y bioquímicos en las plantas, por lo que también pudiesen tener aplicaciones en los empaques para recubrimientos de alimentos para extender la vida de anaquel (Lira *et al.*, 2018).

### **Importancia del Zinc en los cultivos**

La esencialidad del Zn en las plantas se demostró por primera vez en el cultivo de maíz por Maze en 1915 y posteriormente estudiados en la cebada y el girasol enano (Sommer y Lipman, 1926).

EL zinc (Zn) es un elemento utilizado por los cultivos en pequeñas cantidades, clasificándolo como un micronutriente, sin embargo, es esencial para el crecimiento normal y desarrollo saludable de las plantas, esto a su vez puede convertirse en un elemento tóxico cuando se encuentra en exceso (Amezcuca y Lara, 2017).

Marschner (1995) también hace mención, que este elemento se demanda en pequeñas proporciones para posibilitar el funcionamiento normal de varias vías fisiológicas clave de la planta, así como para garantizar la integridad estructural y funcional de las membranas. Dado a esto, el Zn tiene funciones importantes en la regulación del crecimiento, la activación de enzimas, la expresión y regulación de genes, la actividad de fitohormonas, la síntesis de proteínas, la fotosíntesis, el metabolismo de carbohidratos, la fertilidad, la producción de semillas y la defensa contra enfermedades.

Cabe señalar que el equilibrio adecuado de Zinc en las plantas da lugar a un crecimiento normal y un rendimiento óptimo en las mismas. Por lo que el micronutriente Zinc juega un papel importante en las plantas, el interés en este elemento ha aumentado en los últimos 10 años, debido a que el estrés por la deficiencia de Zn es amplio en muchas áreas en el sector agrícola, lo que podría causar bajas en la producción de los cultivos y disminuir también la calidad nutricional alimentaria (Sadeghzadeh, 2013). El zinc es un nutriente vital necesario para las plantas, los animales y los seres humanos.

### **Deficiencia y toxicidad del zinc en las plantas**

La deficiencia de zinc (Zn) es la carencia de micronutrientes más extendida en la amplia gama de tipos de suelos agrícolas de todo el mundo, esto afecta a gran cantidad de cultivos provocando reducciones en el rendimiento y disminución en la calidad nutricional de los productos agrícolas, algunos de ellos son los cereales, leguminosas, algodón y tabaco (Layam *et al.*, 2016). Debido a esta deficiencia se pueden tener mermas de hasta un 30 % en la producción de cereales de grano como lo es el maíz, el trigo o el arroz, sin la aparición de síntomas visibles de estrés en la planta e incluso mayores pérdidas cuando hay un déficit extremo (Almendros *et al.*, 2008).

La deficiencia de este micronutriente en la planta es uno de los más comunes, y causa severos problemas, como una serie de alteraciones fisiológicas en las células deficientes en Zn, que

provocan la inhibición del crecimiento, la diferenciación y el desarrollo de las plantas, asimismo afecta las propiedades de los productos cosechados, incrementa la susceptibilidad de lesiones por la alta densidad de luz o temperatura, e infecciones por hongos (Cakmak, 2000).

La toxicidad del zinc en los cultivos está mucho menos extendida y afectada, en comparación de la deficiencia (Broadley *et al.*, 2007). Al igual que los demás micronutrientes de las plantas el Zn puede limitar el crecimiento cuando está presente tanto en concentraciones bajas como en concentraciones excesivas, por deficiencia y toxicidad la cual depende del pH, que controla la concentración de zinc en la solución (Alloway, 2008; Rout y Das, 2009).

Los síntomas asociados con la toxicidad del zinc en las plantas comprenden rendimientos reducidos, retardo en el crecimiento y exportación limitada de fotoasimilados de las hojas a las raíces (Ruano *et al.*, 1988). Por otro lado, Rout y Das (2009) comentan que los síntomas generales son retraso en el crecimiento de los brotes, enrollamiento y enrollamiento de las hojas jóvenes, muerte de las puntas de las hojas y clorosis.

### **Nanopartículas de Óxido de Zinc (NPsZnO)**

Las NPs de óxido de zinc (NPsZnO) en el sector agrícola son estudiadas por su actividad antimicrobial (Fang *et al.*, 2013; Sabir *et al.*, 2014), además por su potencial como nanofertilizante, corrigiendo las deficiencias de zinc en las plantas, promoviendo el crecimiento y desarrollo (Raskar y Laware, 2014; Dimkpa *et al.*, 2015).

Algunos estudios revelan que concentraciones elevadas ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) causan fitotoxicidad e inhibición de la germinación (Kyung-Seok y Kong, 2014; Zhang *et al.*, 2015); mientras que dosis bajas ( $< 50 \text{ mg L}^{-1}$ ) han demostrado efectos significativos en el crecimiento y desarrollo (Prasad *et al.*, 2012; Xing & Lin, 2007; Núñez *et al.*, 2017), obteniendo una mayor acumulación de biomasa seca y área foliar.

## **Nanopartículas aplicadas en la germinación de semillas**

Autores (Hashemi y Mousa, 2013; Ulla y Arshad, 2014) aluden a que las semillas tratadas con elementos a nanoescala, ocasionan un cambio en la dinámica de la germinación, divisiéndose un incremento en el porcentaje de germinación y del índice de velocidad de emergencia. El periodo de germinación de las semillas se acelera debido a la mayor disponibilidad de agua, y el porcentaje de germinación final se incrementa, mejorando la longitud y el peso de las plántulas, la clave para el aumento de la tasa final de germinación de las semillas es la penetración de nanomateriales en la semilla (Lahiani *et al.*, 2013; Ratnikova *et al.*, 2015).

Tal es el caso de un estudio realizado por Estrada Urbina (2018), donde se evaluaron nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) sobre la mejora de la calidad fisiológica y sanitaria de una raza mexicana de maíz nativo rojo, en pruebas de germinación estándar (GE) y de envejecimiento acelerado (EA), como resultado en la calidad fisiológica, se encontró un incremento significativo en la germinación de las semillas en ambas pruebas con el uso de las (NPsZnO), sobresaliendo en el EA con un (90 %) en comparación con el grupo testigo (68 %). Adicionalmente, las nanopartículas de óxido de zinc mejoraron de manera significativa algunas características de la plántula de maíz como la longitud de la plúmula, el diámetro de la plúmula, la longitud de la raíz, y el número de raíces secundarias.

Arias y De La Rosa (2015) reportan que al aplicar 2.5 ml de una solución de NPsZnO a 200 ppm en semillas de girasol, el porcentaje de germinación obtenido fue de 94.44 %, comparándolo con el porcentaje conseguido en semillas tratadas con la misma solución a 1600 ppm fue de 74.44 %, con base a los resultados, se considera que a altas concentraciones el efecto en el crecimiento resultante es negativo y que afecta considerablemente la germinación de la semilla.

Aportaciones de Zhang *et al.* (2015), dan a conocer los impactos de las NPsZnO en la germinación de semillas y la elongación radicular en maíz (*Zea mays L.*) y en pepino (*Cucumis sativus L.*). Las NPsZnO (1000 mg L<sup>-1</sup>) disminuyeron significativamente la longitud de la raíz del maíz y el pepino en un 17% y 51% respectivamente, pero no mostraron efectos en la germinación.

En este sentido Lin y Xing (2007), evaluaron los efectos de cinco tipos de nanopartículas (nanotubos de carbono, aluminio, alúmina, zinc y óxido de zinc) en la germinación de semillas y crecimiento de radículas de seis especies de plantas superiores rábano (*Raphanus sativus*), colza (*Brassica napus*), ryegrass (*Lolium perenne*), lechuga (*Lactuca sativa*), maíz (*Zea mays* L.) y pepino (*Cucumis sativus*). Se determinó que la germinación de las semillas de *Lolium perenne* y *Zea mays* fue inhibida por la solución del zinc a nanoescala (nano-Zn) y el óxido de zinc (nano-ZnO), a una concentración de 2000 mg/L.

Por otra parte, Siddiqui y Whaibi (2014) obtuvieron resultados en la aplicación de NPsSiO<sub>2</sub> con volumen de 12 nm, la cual mejoró significativamente la germinación en las semillas de tomate con una concentración de 8 gL<sup>-1</sup> del nanomaterial, generando incrementos en el porcentaje de germinación de semillas (22.16 %), el período medio de germinación en (3.98 %), así como en el índice de vigor y de biomasa fresca.

De esta manera, estudios reportados por Ruiz *et al.* (2016) en semillas de tomate, en las cuales se aplicaron tratamientos NPsCu y MPsCuSO<sub>4</sub> en concentraciones de 0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 y 50 ppm, en cajas de Petri y sobre papel filtro, por un periodo de 24 horas, muestran que las NPsCu a 5 y 10 ppm promovieron el vigor de germinación de las semillas, sobrepasaron estadísticamente al testigo en ambos tratamientos. En otro estudio similar, realizado en semillas de chile ancho, el tratamiento correspondiente a 5 ppm NPsCu, demostró mayor vigor de germinación y longitud de radícula, que el resto de los tratamientos, superando al testigo en 45.8 % en vigor de germinación.

En el trabajo elaborado por Anandaraj y Natarajan (2017), donde se evaluaron semillas de cebolla tratadas con NPsZnO en concentraciones cada una a 750, 1000, 1250 y 1500 mg kg<sup>-1</sup>, presentó que la dosis de 1000 mg kg<sup>-1</sup> mejoró en la germinación con un (72 %), la longitud de los brotes (7.5 cm), la longitud de la raíz (6.4 cm) y un índice de vigor de (998), en comparación con el tratamiento testigo que obtuvo 60 %, 6.0 cm, 5.4 cm y 692, respectivamente.

Mientras que Almutariri y Alharbi (2015), examinaron el efecto de las NPsAg en el porcentaje de germinación, tasa de germinación, tiempo promedio de germinación, así como, la longitud de las radículas, peso fresco y peso seco de las plántulas, en maíz, sandía y calabací). Evaluaron siete concentraciones (0, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 mg / ml) de

AgNPs, durante el proceso de germinación de estas semillas. Las tres especies reaccionaron de forma diferente a las dosis de AgNPs, en las semillas tratadas de sandía y calabacín se mostró un incremento en el porcentaje de germinación, en comparación con las semillas no tratadas. Las NPsAg expresaron un efecto tóxico en el desarrollo de la raíz del maíz, mientras que en sandía y calabacita el efecto fue en el crecimiento de las plántulas en ciertas concentraciones de AgNPs. Estudios como estos demuestran que se pueden presentar efectos positivos o negativos en la germinación y crecimiento de las plantas.

Investigaciones realizadas en diversas especies de plantas confirman que las NPs promueven la germinación y el crecimiento de plántulas, mejorando el rendimiento de cultivos hasta un 16 %, con cantidades adecuadas, sin embargo, el nivel de respuesta en cuanto a germinación y vigor depende del tipo de nanomaterial, del suministro potencial y del genotipo (Siddiqui *et al.*, 2015; Ngo *et al.*, 2014).

En este trabajo se determinó el efecto fisiológico que tiene la aplicación de las nanopartículas comerciales de óxido de zinc (NPsZnO) a diferentes concentraciones, en el proceso de germinación en semillas de maíz (*Zea mays L.*), así como su respuesta en parámetros de calidad fisiológica.



## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Ubicación del sitio experimental**

El presente trabajo 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), ubicada en las coordenadas 25°21'13"N, 101°01'56"W, Buenavista, a 6 km al sur de Saltillo, Coahuila, México. Este trabajo se realizó durante los meses de mayo- junio del 2021.

### **4.2 Preparación de suspensiones con nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO)**

Las suspensiones de NPsZnO se prepararon mediante la mezcla de 50 ml agua destilada con NPs a diferentes concentraciones de 0 (agua destilada/ testigo) y (50, 100, 200, 300, 400, 500 y 1000 ppm). Posteriormente se sometieron a un sonicador ultrasónico de marca Autoscience modelo AS2060B Ultrasonic Cleaner durante 10 minutos, para asegurar una dispersión homogénea en las suspensiones.

Las NPs comerciales fueron proporcionados por el Laboratorio de la UAAAN, las cuales son elaboradas a base de óxido de zinc (NPsZnO), tipo comercial, con un tamaño de 200 nanómetros.

### **4.3 Material biológico**

El material biológico vegetal utilizado en este trabajo es de un híbrido comercial de maíz mejorado, adaptado para ambientes de temporal y riego en regiones de Chihuahua, el color de esta semilla es marrillo, con fines de usos para forraje y grano, el material para este estudio fue proporcionada por el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas, de la UAAAN.

### **4.4 Establecimiento del bioensayo**

#### **4.4.1 Imbibición de las semillas**

Para determinar el efecto que tiene la aplicación de las NPs en el proceso de germinación de semillas de maíz (*Zea mays L.*), se estableció un bioensayo en laboratorio, que constaron de 8 tratamientos, incluyendo el testigo, cada tratamiento con 4 repeticiones de 25 semillas cada uno.

Para la aplicación de las suspensiones con NPs se utilizaron ocho cajas de Petri, las cuales fueron esterilizadas de manera previa, donde con apoyo de unas pinzas estériles se distribuyeron 100 semillas de maíz en cada una. En seguida, se agregaron cada una de las suspensiones con ayuda de una probeta graduada, aplicando 30 ml en cada caja de Petri según el tratamiento correspondiente y realizando una aspersión uniforme sobre las semillas, después de tratarlas, se sometieron a un proceso de imbibición con dichas concentraciones en una cámara de germinación (ambiente controlado) Thermo Scientific por 24 horas, a una temperatura de 25°C.

#### **4.4.2 Siembra en papel anchor**

Una vez concluido el periodo de imbibición, se procedió a realizar la siembra utilizando el método de la prueba de germinación “estándar entre papel”. La cual consistió en colocar 25 semillas por repetición sobre papel anchor humedecido con agua destilada, en una hilera horizontal con distribución homogénea a lo largo del papel (el embrión de la semilla estaba orientada hacia abajo), esto con ayuda de unas pinzas de disección esterilizadas. En seguida se cubrieron las semillas con otra hoja de papel Anchor previamente humedecido, enrollando ambas hojas en forma de “tacos”. Esta acción procedió para los cuatros repeticiones de cada tratamiento.

Una vez realizado el proceso de siembra se acomodaron los tacos en bolsas de polietileno transparentes, utilizando una bolsa por cada tratamiento. Las ocho bolsas obtenidas fueron identificadas y ubicadas dentro de 2 contenedores de plástico, estos contenedores se colocaron nuevamente a la cámara de germinación a una temperatura de 25°C.

### **4.5 Evaluación del bioensayo**

#### **4.5.1 Variables evaluadas**

Las variables evaluadas fueron el porcentaje de vigor de germinación (%), el porcentaje de germinación (PAV y PBV), plántulas anormales (PA) (%), semillas sin germinar (SSG) (%), longitud de plúmula (LP) (cm), longitud de radícula (LR) (cm), peso seco de plúmula (PSP) (mg/plántula), peso seco de radícula (PSR) (mg/plántula), contenido relativo de clorofila (CLO) (S).

#### **4.6 Metodología para la evaluación de las variables**

##### **a) Porcentaje de vigor de germinación**

Para la evaluación de esta variable se realizó un primer conteo a los cuatro días después de la siembra, en las cuales se identificaron detalladamente las plántulas normales (plántulas con radícula y tallo desarrollado, considerando el tamaño de cada una de sus estructuras por lo menos dos veces más grande que el tamaño de la semilla), con esta evaluación se determinó el vigor de germinación, la cual fue expresada en porciento, indicando el potencial biológico que posee la semilla para germinar y favorecer el establecimiento rápido y uniforme bajo condiciones de campo. En seguida se humedecieron nuevamente los tacos evaluados, se colocaron en los contenedores y se llevaron una vez mas a la cámara de germinadora con la misma temperatura de 25°C y un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, para seguir con el proceso de desarrollo y producción de clorofila en las plántulas.

##### **b) Contenido relativo de clorofila**

Tres días después de haber realizado el primer conteo, se prosiguió a determinar el contenido relativo de clorofila en las plántulas, esto con la ayuda de un SPAD 502 PLUS, colocando dentro de la cámara medidora (sensor) una hoja desarrollada de cada planta, presionando por unos segundos, e inmediatamente se mostraba el resultado. Se tomaron 5 plántulas por cada una de las repeticiones en sus respectivos tratamientos. Posteriormente se humedecieron nuevamente los tacos con agua destilada y se llevaron una vez más a la cámara de germinadora.

##### **c) Porcentaje de germinación**

Esta variable se evaluó ocho días después de la siembra y consistió en un segundo conteo de plántulas normales, plántulas anormales y el número de semillas sin germinar. El porciento

de plántulas normales (alto y bajo vigor sin ninguna anomalía visible) se consideró como el dato útil para estimar el porcentaje de germinación. En este caso se clasificaron en plántulas de alto vigor aquellas que presentaron un mayor porte, el sistema radicular y plúmula bien definido y desarrollado, para las plántulas de bajo vigor las características fueron todo lo contrario, un desarrollo menor en las raíces y tamaño de plúmula (hojas semidesarrolladas).

#### **d) Plántulas anormales**

Para esta variable se consideraron como plántulas anormales, todas aquellas que mostraron deformaciones en el desarrollo en alguna de sus estructuras morfológicas (plúmula o radícula), o bien que carecían de las mismas, el resultado se expresó en porcentaje.

#### **e) Semillas sin germinar**

Dentro del conteo se apreciaron semillas muertas, aquellas que no manifestaron la capacidad de poder germinar, las cuales se contabilizaron para el resultado de esta variable en porcentaje.

#### **f) Longitud de plúmula y de radícula**

Para la estimación de la longitud de plúmula y de radícula, se tomaron todas las plántulas normales de cada tratamiento y repetición, con las cuales se midieron de la base de la plántula hasta la yema apical para la longitud de plúmula y de la base de la planta hasta el ápice de la raíz principal para la longitud de radícula, utilizando tablas de medición con hojas milimétricas enumeradas. Los resultados obtenidos se expresaron en cm.

#### **g) Peso seco de plúmula y de radícula**

Una vez determinadas todas las variables anteriores, se prosiguió con retirar la cariósida de todas las plántulas normales de cada tratamiento y repeticiones, con ayuda de una navaja de micrótopo se le hizo un corte, separando así el tallo y radícula, las cuales fueron colocadas en bolsas de papel estraza con perforaciones previamente hechas, enseguida se pasaron a una estufa de secado (Riossa H-48), a una temperatura de 70-72°C por un lapso de 24 horas. Transcurrido el tiempo de las muestras dentro de la estufa de secado, se extrajeron y fueron

situadas en un desecador con el fin de evitar que tomaran la humedad del ambiente. Enseguida se pesó cada una de las muestras sobre una balanza analítica AND-HR200 calibrada, para determinar el peso de materia seca expresado en mg/plántula.

#### **4.7 Análisis estadístico del bioensayo**

Los datos de las variables evaluadas en este bioensayo se sometieron a un análisis de varianza, para poder determinar las posibles diferencias estadísticas entre tratamientos y concentraciones. De manera adicional se llevó a cabo una comparación de medias utilizando la Prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), para establecer el orden de eficiencia de los tratamientos de las (NPsZnO). Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando paquete estadístico SAS (2004).

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de varianza (Cuadro 1 y 2) del bioensayo de germinación de semillas de maíz, sometidas a diferentes concentraciones de NPsZnO tipo comercial, se observó que, en la fuente de variación concentración de nanopartículas para las variables porcentaje de vigor, germinación y plántulas anormales no se mostraron diferencias estadísticas, por el contrario, el porcentaje de plántulas de alto vigor, plántulas de bajo vigor y semillas sin germinar, mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

Para el caso de las variables peso seco de plúmula, peso seco de radícula, longitud de plúmula, longitud de radícula y contenido relativo de clorofila, en la fuente de variación concentración de nanopartículas, tuvieron respuestas significativas ( $P \leq 0.01$ ) (Cuadro 1 y 2).

En relación a lo anterior, se puede hacer referencia de forma clara, a que el tipo de nanopartícula y la concentración son factores esenciales que intervienen en la expresión de algunas de las variables fisiológicas relacionadas con la germinación de semillas y que fueron evaluadas en este estudio. Méndez *et al.* (2016) mencionan que otro factor que puede favorecer a los efectos positivos de las NPs aplicadas, es su tamaño micrométrico, ya que el tamaño nano les permite la entrada fácilmente a través de las paredes y membranas celulares, incidiendo así de manera más directa en los diferentes organelos de las células.

Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con lo mencionado por Saeid y Hojjat (2016), quienes demostraron que la aplicación de NPs de plata entre los distintos tratamientos no presentaron diferencias significativas en el porcentaje de germinación de semillas de genotipos de lentejas.

Al efectuar la comparación de medias por concentración (Cuadro 3 y 4), se demostró que la aplicación de NPsZnO en las semillas, generó modificaciones en la respuesta fisiológica para las variables evaluadas en el bioensayo, identificándose algunas diferencias estadísticas en los tratamientos empleados.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz (*Zea mays L.*), tratadas con NPsZnO en laboratorio.

<b>F.V</b>	<b>GL</b>	<b>VIGOR</b> (%)	<b>GER</b> (%)	<b>PAV</b> (%)	<b>PBV</b> (%)	<b>PA</b> (%)	<b>SSG</b> (%)	<b>PSP</b> (mg/plántula)	<b>PSR</b> (mg/plántula)
<b>Concent</b>	7	20.5 <sup>NS</sup>	11.14 <sup>NS</sup>	258.2*	174.78*	9.14 <sup>NS</sup>	7.71*	49.64**	30.14**
<b>Error</b>	24	9.16	13.33	82.83	70.50	11.66	2.33	4.80	1.56
<b>CV (%)</b>		3.16	3.77	12.40	35.92	136.62	203.67	5.49	4.68

NS= Diferencias no significativas; \*= Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); \*\*= Diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ); F. V= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; VIGOR= Plántulas normales al primer conteo; GER= Plántulas normales al segundo conteo; PAV= Plántulas de alto vigor; PBV=Plántulas de bajo vigor; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PSP= Peso seco de plúmula; PSR= Peso seco de radícula; Concent= Concentración; CV (%) = Coeficiente de variación.

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz (*Zea mays L.*), tratadas con NPsZnO en laboratorio.

<b>F.V.</b>	<b>GL</b>	<b>LP</b> <b>(cm)</b>	<b>LR</b> <b>(cm)</b>	<b>F.V.</b>	<b>GL</b>	<b>CLO</b> <b>(SPAD)</b>
<b>Concent</b>	7	35.30**	70.93**	<b>Concent</b>	7	91.80**
<b>Error</b>	766	9.57	10.09	<b>Error</b>	152	21.09
<b>CV (%)</b>		22.16	15.69	<b>CV (%)</b>		16.41

NS= Diferencias no significativas; \*= Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); \*\*= Diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ); F. V= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; CLO = Contenido relativo de clorofila; Concent = Concentración; CV (%) = Coeficiente de variación.



Para las variables porcentaje de vigor, germinación y plántulas anormales, se encontró que el suministro de NPsZnO en concentraciones de 0 a 1000 ppm durante la imbibición, generó el mismo efecto, ya que estadísticamente son iguales. Sin embargo, se aprecia que, para vigor a una concentración de 200 ppm, da una respuesta de un 99 %, comparado con la concentración testigo, el cual mostró ser un 6 % superior (Cuadros 3 y 4).

De igual manera para la variable porcentaje de germinación, en el análisis de comparación de medias por concentración se observó un 99 % de germinación, al tratar las semillas con 200 ppm y 1000 ppm, aunque no son estadísticamente diferente al resto de los tratamientos, ya que todos se ubicaron dentro del mismo grupo estadístico. Aun así, se expresó un incremento comparado con el tratamiento control.

Mientras que, para plántulas de alto vigor, se manifestó que, en el suministro de una dosis de 500 ppm, generó un efecto de inhibición en el desarrollo, ya que mostró un menor porcentaje de vigor, en comparación a los otros tratamientos, e incluso del testigo. Así, en plántulas de bajo vigor y longitud de plúmula se observó que, en 1000 ppm, se generó el mismo efecto negativo, ya que se obtuvieron valores más bajos, en comparación a los otros tratamientos, e inclusive del testigo (Cuadros 3, 4 y Anexo 2).

En lo que respecta al porcentaje de plántulas anormales, se determinó que la aplicación de NPsZnO a una concentración de 300 ppm, aumentó el número de plántulas, en comparación con el testigo; a diferencia con el porcentaje de semillas sin germinar, variable en la que se comprobó, que la aplicación de NPsZnO en las diferentes concentraciones redujo el número, en comparación con el testigo.

No obstante, respecto a las variables peso seco de plúmula y peso seco de radícula, se notó un cambio favorable con la aplicación de NPsZnO a una concentración de 1000 ppm, mostrando un mayor peso seco con 44.43 mg/plántula para plúmula, y 29.79 mg/plántula de radícula (Cuadro 3 y Anexo 1).

Con relación a las variables longitud de radícula y contenido relativo de clorofila, se definió que, para obtener una mayor prolongación de raíces y mayor contenido relativo de clorofila en las plántulas de maíz, se debe aplicar una concentración de 400 ppm de las NPsZnO en el

proceso de imbibición de la semilla, como se mencionó antes la longitud media de la radícula es de 21.41 cm y el contenido de clorofila de 31.14 S (Cuadro 4 y Anexo 3).

Estos resultados revelan que la aplicación de NPsZnO en las diferentes concentraciones, favorece el crecimiento y desarrollo de plántulas, habiéndose observado un incremento en los valores obtenidos en las variables peso seco de plúmula y radícula, longitud de plúmula y de radícula e contenido de clorofila.

A pesar de estos resultados positivos, no se observó diferencias estadísticas en las variables vigor y porcentaje de germinación, contraponiéndose con lo reportado por Khodakovskaya, *et al.* (2009), quienes reportaron promoción de la germinación drásticamente alta en semillas de tomate, indicando que la respuesta depende del genotipo.

El aumento longitudinal de la plúmula y de la radícula de las plántulas de maíz en este bioensayo, podría deberse a los efectos benefactores de las NPsZnO, a las que se les atribuye una mayor producción de enzimas responsables de las reacciones metabólicas. Por otra parte, podrían incrementar los niveles de ácido indolacético (AIA), en las raíces y brotes, que a su vez pueden aumentar el vigor de las semillas y por ende el crecimiento de las plántulas (Pandey *et al.*, 2010).

En este sentido, en el trabajo reportado por Méndez *et al.* (2016), señalan que en plantas de chile *Capsicum annum*, expuestas a la aplicación de NPsZnO + Ag al 2.5% en peso, tuvieron significativamente mayor crecimiento y producción de biomasa seca total (59.5 %), en comparación con el testigo, atribuyendo el efecto promotor del crecimiento a la actividad del zinc como precursor de la producción de auxinas que generan la elongación celular.

Los resultados derivados del presente bioensayo concuerdan con lo reportado por Panwar *et al.* (2012) quienes lograron un incremento en el crecimiento y producción de biomasa seca en plántulas de tomate cuando aplicaron 20 mg L<sup>-1</sup> en el follaje en comparación con las plantas testigo; reafirmando el efecto positivo de las NPsZnO en el sistema vegetal.

Por otra parte, Anusuya y Nibiya (2016) trabajaron con otro tipo de NPs (sintetizada) y hacen mención que la aplicación de NPs de quitosano-plata (Ag-CS) en semillas de garbanzo (*Cicer arietinum*), manifestó un efecto promotor sustancial del crecimiento sobre la germinación,

longitud de plúmula y de radícula, además de una mayor acumulación de peso fresco y de peso seco, al igual un notable aumento de clorofila.

Concertando con otros estudios realizados por Prasad *et al.* (2012), los cuales revelan que en semillas y plantas de cacahuete (*Arachis hypogaea*), a una concentración de 1000 mgL<sup>-1</sup> de NPsZnO promovió efectos significativos en la germinación, así como mayor elongación de raíz y tallo, mostrando un rápido establecimiento en campo. Mientras que Zhang *et al.* (2015), dieron a conocer que los efectos de las NPsZnO en la germinación de semillas y la elongación radicular en maíz y en pepino a concentración de (1000 mg L<sup>-1</sup>), disminuyeron significativamente la longitud de la raíz de estas, pero no mostraron efectos en la germinación.

Un estudio desarrollado por Zhao *et al.* (2013), donde hacen mención que, en plantas de pepino cultivados en maceta, alcanzaron incrementos significativos en longitud y biomasa seca de raíz con la incorporación de NPsZnO al suelo de 400 y 800 mg kg<sup>-1</sup>, estos autores señalan que a concentraciones mayores no tuvieron efectos negativos en las plantas.

Por su parte Tarafdar *et al.* (2014), señalan que, mediante un trabajo experimental con NPsZnO como nanofertilizante encontraron efecto positivo en el crecimiento (longitud de brotes y de raíz), el contenido de clorofila y biomasa seca en plantas de mijo perla (*Pennisetum americanum L.*), indicando que las mejores respuestas obtenidas con la aplicación de NPsZnO se deben a que intervienen en la síntesis de enzimas como la fitasa y fosfatasa.

Karunakaran *et al.* (2016) evaluaron el comportamiento de NPs y micropartículas de óxido metálicos seleccionados en función de la germinación de semillas de maíz y la elongación de raíces en diferentes condiciones de crecimiento (caja de Petri, algodón y suelo) y obtuvieron como resultado que todas las condiciones de crecimiento muestran efectos similares. Las nanopartículas de aluminio (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) y titanio (TiO<sub>2</sub>) redujeron significativamente el porcentaje de germinación, mientras que las NPs y MPs de sílice (SiO<sub>2</sub>) mejoraron la misma. La elongación de la raíz se fortalece por medio del tratamiento con NPs y MPs de SiO<sub>2</sub>, mientras que las NPs y MPs de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y TiO<sub>2</sub> lo inhiben. Los óxidos metálicos probados penetraron en las semillas a nanoescala en comparación con la microescala. Este estudio destaca el impacto de las NPs en el medio ambiente y los sistemas agrícolas.

Cuadro 3. Comparación de medias de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz (*Zea mays L.*), tratadas con NPsZnO en laboratorio, en diferentes concentraciones.

<b>CONC</b> <b>(ppm)</b>	<b>VIGOR</b> <b>(%)</b>	<b>GER</b> <b>(%)</b>	<b>PAV</b> <b>(%)</b>	<b>PBV</b> <b>(%)</b>	<b>PA</b> <b>(%)</b>	<b>SSG</b> <b>(%)</b>	<b>PSP</b> <b>(mg/plántula)</b>	<b>PSR</b> <b>(mg/plántula)</b>
<b>0</b>	93 a	95 a	70 a b	25 a b	1 a	4 a	39.26 b	27.35 a
<b>50</b>	95 a	96 a	69 a b	27 a b	3 a	1 a b	39.13 b	24.10 b
<b>100</b>	98 a	96 a	74 a b	22 a b	4 a	0 b	32.73 c	28.38 a
<b>200</b>	99 a	99 a	83 a b	16 a b	1 a	0 b	39.73 a b	29.26 a
<b>300</b>	94 a	95 a	66 a b	29 a b	5 a	0 b	43.22 a b	22.85 b
<b>400</b>	97 a	98 a	76 a b	22 a b	2 a	0 b	41.37 a b	28.48 a
<b>500</b>	96 a	96 a	63 b	33 a	3 a	1 a b	39.09 b	23.76 b
<b>1000</b>	93 a	99 a	86 a	13 b	1 a	0 b	44.43 a	29.79 a
<b>MEDIA</b>	96	97	73	23	2	1	40	27
<b>TUKEY (<math>\alpha= 0.05</math>)</b>	7.09	8.55	21.31	19.66	7.99	3.57	5.13	2.93

MEDIA= Valores con la misma literal en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey,  $P \leq 0.05$ ); CONC: Concentración de nanopartículas (Partes por millón); VIGOR: Plántulas normales al primer conteo; GER= Plántulas normales al segundo conteo; PAV= Plántulas de alto vigor; PBV= Plántulas de bajo vigor; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PSP= Peso seco de plúmula; PSR= Peso seco de radícula.

Cuadro 4. Comparación de medias de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz (*Zea mays* L.), tratadas con NPsZnO en laboratorio, en diferentes concentraciones.

<b>CONC</b> <b>(ppm)</b>	<b>LP</b> <b>(cm)</b>	<b>LR</b> <b>(cm)</b>	<b>CLO</b> <b>(SPAD)</b>
<b>0</b>	14.48 a	20.71 a b c	25.98 b c
<b>50</b>	14.66 a	20.17 a b c d	24.82 c
<b>100</b>	13.66 a b	19.96 b c d	26.97 a b c
<b>200</b>	14.56 a	21.32 a b	28.71 a b c
<b>300</b>	14.09 a b	19.09 d	29.53 a b
<b>400</b>	13.42 a b	21.41 a	31.14 a
<b>500</b>	13.84 a b	19.45 c d	29.75 a b
<b>1000</b>	12.96 b	19.69 c d	26.95 a b c
<b>MEDIA</b>	14	20	28
<b>TUKEY (<math>\alpha= 0.05</math>)</b>	1.35	1.38	4.46

MEDIA= Valores con la misma literal en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey,  $P \leq 0.05$ ); CONC: Concentración de nanopartículas (Partes por millón); LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; CLO= Contenido relativo de clorofila.

En base a lo anterior, se calcularon coeficientes de correlación de Pearson para las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz con NPsZnO (Cuadro 5).

Los resultados obtenidos mostraron correlación positiva significativa entre las variables vigor de germinación con porcentaje de germinación ( $r=0.4022^*$ ), plántulas de alto vigor ( $r=0.1094^*$ ), peso seco de radícula ( $r=0.2811^*$ ), longitud de plúmula ( $r=0.1741^*$ ), longitud de radícula ( $r=0.4748^{**}$ ) y la variable contenido relativo de clorofila ( $r=0.2759^*$ ).

La correlación entre la variable germinación y plántulas de alto vigor ( $r=0.5199^{**}$ ) resultó positiva y significativa; habiendo una correlación negativa significativa en plántulas anormales ( $r=-0.8540^{**}$ ); en cambio, para las variables plántulas de bajo vigor ( $r=-0.2237^*$ ) y semillas sin germinar ( $r=-0.3919^*$ ) presentaron una correlación negativa significativa; en las demás variables como peso seco de plúmula ( $r=0.1925^*$ ), peso seco de radícula ( $r=0.3300^*$ ) y contenido relativo de clorofila ( $r=0.2436^*$ ) se observaron correlaciones positivas significativas, por el contrario las variables longitud de plúmula y longitud de radícula no presentaron correlación significativa con la variable germinación.

Se mostraron un par de correlaciones negativas significativas entre la variable plántulas de alto vigor con plántulas de bajo vigor ( $r=-0.9488^{**}$ ), y plántulas anormales ( $r=0.5023^{**}$ ); en cuanto a semillas sin germinar, longitud de plúmula y clorofila no presentan correlación significativa con la variable plántulas de alto vigor; pero, la variable peso seco de radícula ( $r=0.5733^{**}$ ) tuvo una correlación positiva significativa. En las variables peso seco de plúmula ( $r=0.2494^*$ ) y longitud de radícula ( $r=0.1588^*$ ) se manifestó una correlación positiva significativa con la variable porcentaje de plántulas de alto vigor.

La variable porcentaje de plántulas de bajo vigor expresó una correlación negativa significativa con la variable peso seco de radícula ( $r=-0.5322^{**}$ ) y una relación negativa significativa con el peso seco de plúmula ( $r=-0.2134^*$ ) y longitud de radícula ( $r=-0.1592^*$ ); en cambio, las demás variables restantes no presentaron correlaciones significativas con la variable plántulas de bajo vigor.

De igual manera, los resultados revelaron una correlación negativa significativa entre la variable plántulas anormales y peso seco de radícula ( $r=0.3242^{**}$ ).

Respecto a la variable peso seco de plúmula se observaron correlaciones positivas significativas con la longitud de plúmula ( $r=0.1871^*$ ) y contenido relativo clorofila ( $r=0.3501^*$ ); las variables como peso seco de radícula y longitud de radícula no presentaron correlación significativa con la variable peso seco de plúmula.

En cambio, con la variable peso seco de radícula se mostró una correlación positiva significativa con longitud de radícula ( $r=0.5344^{**}$ ) y una correlación negativa significativa con la longitud de plúmula ( $r=-0.1235^*$ ), para la variable contenido de clorofila no se obtuvo correlación estadística con el peso de radícula. La longitud de plúmula presentó un par de correlaciones positivas significativas, con longitud de radícula ( $r=0.1966^*$ ) y con la variable contenido de clorofila ( $r=0.2146^*$ ).

Por último, respecto al bioensayo con semillas de maíz la longitud de radícula manifestó una correlación positiva significativa con la variable contenido de clorofila ( $r=0.1694^*$ ).

Cuadro 5. Coeficientes de correlación Pearson de las variables evaluadas en el bioensayo de germinación de semillas de maíz (*Zea mays* L.), tratadas con NPsZnO en laboratorio, en diferentes concentraciones.

<b>VARIA- BLES</b>	<b>GER (%)</b>	<b>PAV (%)</b>	<b>PBV (%)</b>	<b>PA (%)</b>	<b>SSG (%)</b>	<b>PSP (mg/plántula)</b>	<b>PSR (mg/plántula)</b>	<b>LP (cm)</b>	<b>LR (cm)</b>	<b>CLO (SPAD)</b>
<b>VIGOR</b>	0.4022*	0.1094*	0.0238 <sup>NS</sup>	-0.2771*	-0.2750*	-0.2202*	0.2811*	0.1741*	0.4749**	0.2759*
<b>GER</b>		0.5199**	-0.2237*	-0.8540**	-0.3919*	0.1925*	0.3300*	0.0199 <sup>NS</sup>	0.0595 <sup>NS</sup>	0.2436*
<b>PAV</b>			-0.9488**	-0.5023**	-0.1006 <sup>NS</sup>	0.2494*	0.5733**	0.0881 <sup>NS</sup>	0.1588*	0.0181 <sup>NS</sup>
<b>PBV</b>				0.2576 <sup>NS</sup>	-0.0300 <sup>NS</sup>	-0.2134*	-0.5322**	-0.0932 <sup>NS</sup>	-0.1592*	0.0693 <sup>NS</sup>
<b>PA</b>					-0.1439*	-0.2326*	-0.3242**	-0.2761*	-0.1424*	-0.1708*
<b>SSG</b>						0.0452*	-0.0545 <sup>NS</sup>	0.4504**	0.1387*	-0.1614*
<b>PSP</b>							-0.0025 <sup>NS</sup>	0.1871*	-0.0282 <sup>NS</sup>	0.3501*
<b>PSR</b>								-0.1235*	0.5344**	0.0859 <sup>NS</sup>
<b>LP</b>									0.1966*	0.2146*
<b>LR</b>										0.1694*

NS= Diferencias no significativas; \*= Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); \*\*= Diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ); VIGOR= Plántulas normales al primer conteo; GER= Plántulas normales al segundo conteo; PAV= Plántulas de alto vigor; PBV=Plántulas de bajo vigor; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; PSP= Peso seco de plúmula; PSR= Peso seco de radícula; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; CLO= Contenido relativo de clorofila.



Aunque las implicaciones de estos nanomateriales en la producción de los cultivos y calidad de los alimentos aún no están totalmente determinadas, existen numerosos estudios que han demostrado que las NPs metálicas y de óxido metálico influyen directamente en el crecimiento, rendimiento y calidad de los cultivos agrícolas. Lo cual respalda Rico *et al.* (2014), aludiendo que las NPs alteran algunas características agronómicas como el crecimiento de plantas, producción de biomasa y contenido de clorofila, entre otras variables, lo cual influyen sobre el rendimiento y la calidad de estos.

Considerando la información y los resultados obtenidos en este bioensayo con una especie agrícola (*Zea mays L.*), se puede señalar que el uso de la NT y su aplicación en el sector agropecuario puede aportar innovación necesaria para optimizar los procesos de producción, que contribuyan a la obtención de mayores producciones y de alta calidad, así como aumentar la competitividad y desarrollo del sector agropecuario.

En el presente trabajo se demostró que la aplicación de las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) durante la fase de imbibición de las semillas de maíz (*Zea mays L.*), por un periodo de 24 horas, mejoraron la expresión de algunas variables evaluadas durante la germinación, incrementando significativamente el peso seco de plúmula y de radícula, longitud de plúmula y de radícula y contenido de clorofila, además de disminuir el porcentaje de semillas sin germinar. El nivel de respuesta depende del tipo de nanopartícula, concentración y genotipo.

Ya se ha señalado que la concentración óptima de cualquier tipo de NPs por aplicar depende de la especie en estudio. No obstante, el estudio efectuado en este bioensayo, revela que las NPsZnO genera un incremento y mejores respuestas fisiológicas en las variables evaluadas a concentraciones de 200, 400 y 1000 ppm. Permitiendo sugerir que estas NPs poseen efectos positivos, como (incremento de biomasa, de contenido de clorofila, y la promoción de crecimiento y desarrollo vegetativo) al aplicarse a los cultivos, utilizando la dosis adecuada para evitar problemas de fitotoxicidad.

## VI. CONCLUSIONES

Las propiedades de las nanopartículas dependen del tamaño, la forma y la dispersión de estas.

Las NPsZnO aplicadas a las semillas de maíz (*Zea mays L.*) a través de suspensiones durante el proceso de imbibición, demuestran tener potencial como promotores de crecimiento, puesto que incrementaron significativamente el peso seco de plúmula y de radícula, longitud de plúmula y de radícula, y contenido de clorofila, además de disminuir el porcentaje de semillas sin germinar, estas respuestas se deben posiblemente al incremento en la división y elongación celular.

El porcentaje de vigor y germinación no mejoró por mucho al tratar la semilla con NPsZnO, puesto que no se observó diferencia estadística, sin embargo, su efecto se apreció posterior a la emergencia de la radícula, generando plántulas con raíces y tallos más largos.

Estos resultados mostraron una correlación positiva significativa entre la variable vigor de germinación y las siguientes variables: porcentaje de germinación, plántulas de alto vigor, peso seco de radícula, longitud de plúmula y contenido de clorofila.

No obstante, el estudio efectuado revela que las mejores respuestas fisiológicas en el proceso de germinación se dieron al imbibir semillas a concentraciones de 200, 400 y 1000 ppm de NPsZnO, generando una expresión positiva en las variables evaluadas con respecto a los demás tratamientos, esto indica que, a dosis altas moderadas se promueve un incremento notorio de estas variables.

Considerando los resultados obtenidos en este bioensayo, se sustentan las observaciones realizadas en estudios previos, los cuales demuestran efectos positivos en el proceso de imbibición de las semillas, en la emergencia y desarrollo de plántulas al someterlas a concentraciones de NPsZnO.

El empleo de NPsZnO puede fomentarse para uso en los diversos sistemas de producción agrícola en dosis adecuadas, esto para reducir el impacto ambiental producido por el uso excesivo de fertilizantes empleados para proveer la demanda de este y otros elementos esenciales en los diferentes cultivos, para una óptima nutrición y desarrollo de estas.

Las NPsZnO al ser aplicadas al sector agrícola, pudiesen fortalecer los sistemas de producción para obtener una mejor respuesta en el crecimiento de las especies vegetales en sus diferentes etapas de desarrollo, con el fin de incrementar al máximo la productividad, el rendimiento y la calidad nutricional de cada una de las especies en particular, además de ser eficiente en el suministro de estos elementos en las planta y suelo.

## VII. LITERATURA CITADA

Alloway, B. J. 2008. Zinc in soils and crop nutrition. international zinc association and international fertilizer industry association. 40-50.

Almendros García, P., Selas, R., M. Isabel., López Valdivia, L. M., Álvarez Álvarez., y José Manuel. 2008. Deficiencia de zinc en los cultivos y correctores de carencia del micronutriente. Vida Rural. 19 (280):12-16.

Almutairi, Z. M., and Alharbi, A. 2015. Effect of silver nanoparticles on seed germination of crop plants. International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering. 9 (6):586-590.

Álvarez, Villarraga, J. D., Arbeláez, Echeverri, P., Acevedo González, J. C., y Feo Lee, O. 2009. Nanotecnología. Revista Oficial de la Asociación Colombiana para el Estudio del Dolor. 14(1):77-93.

Álvarez-Villarraga, J. D., Hernández, C., y Cantaño, J. G. 2008. Nanotecnología avances y expectativas en urología. Revista Urología Colombiana. 18(2):41-48.

Amezcuca, Romero, J. C., y Lara Flores, M. 2017. El zinc en las plantas. Ciencia. 68 (3):28-35.

Anandaraj, K., and Natarajan, N. 2017. Effect of nanoparticles for seed quality enhancement in onion [*Allium cepa* (Linn) cv. CO (On)] 5. Int.J. Curr. Microbiol. App. Sci. 6 (11):3714-3724.

Anusuya, S., and Nibiya Banu, K. 2016. Silver-chitosan nanoparticles induced biochemical variations of chickpea (*Cicer arietinum L.*). Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 8: 39-44.

Arias, García, F. I., y De La Rosa Álvarez, M. G. 2015. Toxicidad de nanopartículas metálicas en maíz y girasol, especies de interés económico y alimentario de la región del bajo. Jóvenes En La Ciencia, 1 (2):424-428.

- Boada, R., y Espinosa, J. 2016. Factores que limitan el potencial de rendimiento del maíz de polinización abierta en campos de pequeños productores de la Sierra de Ecuador. *siembra*. 3(1):1-10.
- Broadley, R. M., J. Blanco, F., Hammond, J. P., Zelko, I., and Lux, A. 2007. Zinc in plants. *New Phytologist*. 173 (4):677-702.
- Cakmak, I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist*. 146 (2):185-205.
- Chinnamuthu, C. R., and Murugesu, Boopathi, P. 2009. Nanotechnology and agroecosystem. *Madras Agric. J.* 96 (1-6):17-31.
- Dimkpa, C. O., McLean, J. E., Britt, D. W., and Anderson, A. J. 2015. Nano-CuO and interaction with nano-ZnO or soil bacterium provide evidence for the interference of nanoparticles in metal nutrition of plants. *Ecotoxicology*. 24 (1):119-29.
- Estrada Urbina, J. 2018. Influencia de las nanopartículas de óxido de zinc sobre la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla de maíz nativo (*Zea mays L.*). Universidad Autónoma de Guerrero. pp 1-62.
- Fang, T., Jean-Luc, W., Goodmana, J., Dimkpa, C.O., Martineau, N., Das, S., McLean, J. E., Britt, D. W., and Anderson, A. J. 2013. Does doping with aluminum alter the effects of ZnO nanoparticles on the metabolism of soil pseudomonads? *Microbiological Research*. 168 (2):91-98.
- Hashemi, E. H., and Mosavi, M. 2013. Effect of anatase nanoparticles (TiO<sub>2</sub>) on parsley seed germination (*Petroselinum crispum*) in vitro. *Biol Trace Elem Res* 155:283–286.
- Hulla, J. E., Sahu, S. C., and Hayes, A. W. 2015. Nanotechnology: history and future. *Human & Experimental Toxicology*. 34(12):1318- 1321.
- Karunakaran G., Suriyaprabha, R., Rajendran, V., and Kannan, N. 2016. Influence of ZrO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and TiO<sub>2</sub> nanoparticles on maize seed germination under different growth conditions. *IET Nanobiotechnol.* 10 (4):171-7.

- Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F., & Biris, A. S. 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS nano*. 3 (10):3221-3227.
- Ko, K. S., and Kong, I. C. 2014. Toxic effects of nanoparticles on bioluminescence activity, seed germination, and gene mutation. *Appl Microbiol Biotechnol*. 98:3295–3303.
- Lahiani, M. H., Dervish, E., Chen, J., Nima, Z., Gaume, A., Biris, A. S., and Khodakovskaya, M. V. 2013. Impact of carbon nanotube exposure to seeds of valuable crops. *ACS Appl Mater Interfaces*. 5 (16):7965-73.
- Layam, A., Sai, Bramari, G., and Kalpana, P. 2016. Effect of supplementation of spirulina platensis to enhance the zinc status in plants of *Amaranthus gangeticus*, *Phaseolus aureus* and tomato. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 7 (6):289-299.
- Lin, D., and Xing, B. 2007. phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*. 150 (2):243-250.
- Lira, Saldívar, R. H., Méndez, Argüello, B., De los Santos, Villareal, G., y Vera, Reyes, I. 2018. Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*. 28 (2):9-24.
- Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., and Kolmakov, A. 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of The Total Environment*. 408 (16):3053-3061.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd edition. Academic Press, London.
- Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L. A., Puente-Urbina, B. A., y Lira-Saldívar, R. H. 2016. Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annuum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Nova Scientia*, 8 (17):140-156.
- Mendoza, U. G., y Rodríguez- López, J.L. 2007. La nanociencia y la nanotecnología: una nueva revolución en curso. *Perfiles Latinoamericanos*. 14 (29): 161-186.
- Nair, R., Hanna V. S., Nair, G. B., Maekawa, T., Yoshida, Y., and Sakthi K. D. 2010. Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant Science*. 179 (3):154-163.

- Ngo, B. Q., Dao, T. H., Nguyen, H. C., Tran, X. T., Nguyen, T. V., Khuu, T. D., and Huynh, T.H. 2014. Effects of nanocrystalline powders (Fe, Co and Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese species DT-51). *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. 5 (1):1-8.
- Núñez-Ramírez, F., Grijalva-Contreras, R. L., Robles-Contreras, F., Macías-Duarte, R., Escobosa-García, M. I., y Santillano C. J. 2017. Influencia de la fertirrigación nitrogenada en la concentración de nitratos en el extracto celular de peciolo, el rendimiento y la calidad de tomate de invernadero. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 49 (2):93-103.
- Pandey, A. C., Sanjay, S. S., and Yadav, R. S. 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum*. *Journal of Experimental Nanoscience*. 5 (6):488-497.
- Panwar, J., Navin, N., Bhargava, A., Sayeed, M. A., and Yeoung-Sang, Y. 2012. Positive effect of zinc oxide nanoparticles on tomato plants: a step towards developing “nano-fertilizers”. *International Conference on Environmental Research and Technology (ICERT)*. pp. 348-352.
- Peng, C., Duan, D., Xu, C., Chen, Y., Sun, L., Zhang, H., Yuan, X., Zheng, L., Yang, Y., Yang, J., Zhen, X., Chen, Y., and Shi, J. 2015. Translocation and biotransformation of CuO nanoparticles in rice (*Oryza sativa L.*) plants. *Environmental Pollution*. 197:99-107.
- Prasad, R., Kumar, V., and Prasad, K. S. 2014. Nanotechnology in sustainable agriculture: Present concerns and future aspects. *African Journal of Biotechnology*. 13(6):705-713
- Prasad, TNVKV., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R., Sreeprasad, T. S., Sajanlal, P. R., and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth, and yield of *Peanut*. *Journal of Plant Nutrition*. 35 (6): 905-927.
- Quintili, M., 2012. Nanociencia y nanotecnología...un mundo pequeño. *Centro de Estudios en Diseño y Comunicación*. 42(42):125-154.

- Raskar, S. V., and Lawre, S. L. 2014. Effect of zinc oxide nanoparticles on cytology and seed germination in onion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 3 (2):467-473.
- Ratnikova, T. A., Podila, R., Rao, A. M., and Taylor, A. G. 2015. Tomato seed coat permeability to selected carbon nanomaterials and enhancement of germination and seedling growth. *Scientific World Journal*. 2015:1-9.
- Rico C. M., Lee S. C., Rubenecia, R., Mukherjee, A., Hong, J., Peralta V., J. R., and Gardea-Torresdey, J. L. 2014. Cerium oxide nanoparticles impact yield and modify nutritional parameters in wheat (*Triticum aestivum L.*). *J Agric Food Chem*. 62 (40):9669-9675.
- Rizwan, M., Ali, S., Farooq Qayyum, M., Sik Ok, Y., Adrees, M., Ibrahim, M., Zia-Ur Rehman, M., Farid, M., Abbas, F. 2017. Effect of metal and metal oxide nanoparticles on growth and physiology of globally important food crops: A critical review. *Journal of Hazardous Materials*. 322:2-16.
- Rout, G. R., and Das, P. 2009. Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: i. zinc. Springer, Dordrecht. 873-884.
- Ruano, A., Poschenrieder, C. H., and Barceló, J. 1988. Growth and biomass partitioning in zinc-toxic bush beans. *Plant Nutr*. 11 (5):577-588.
- Ruffini, C.M., and Cremonini, R. 2009. Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*. 62 (2):161-165.
- 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 Semillas. In Lira Saldívar, R. H., y Méndez Arguello, B. *Agronano Tecnología Nueva Frontera de la Revolución Verde*, Saltillo, Coah. UAAAN. pp 442-60.
- Sabir, S., Arshad, M., and Chaudhari, S. K. 2014. Zinc oxide nanoparticles for revolutionizing agriculture: synthesis and applications. *The Scientific World Journal*. 2014 (1):1-8.
- Sadeghzadeh, B. 2013. A review of zinc nutrition and plant breeding. *Journal of soil science and plant nutrition*, 13 (4), 905-927.



- Saeid, H., and Hojjat, H. 2016. Effects of silver nanoparticle exposure on germination of Lentil (*Lens culinaris Medik.*). International Journal of Farming and Allied Sciences. 5 (3):248-252.
- Sameh, S. A., Tohamy, A. R., Koutra, E., Moawad, M. S., Kornaros, M., Mustafa, M. A., Mahmoud, A. G. Y., Badr, A., Osman, E. H. M., Elsamahy, D., Jiao, H., and Sun, J. 2021. Nanobiotechnological advancements in agriculture and food industry: applications, nanotoxicity, and future perspectives. Science of The Total Environment. 792:148359.
- Sekhon, S. B. 2014. Nanotechnology in agri-food production: an overview. Nanotecnología, Dove Press. 7:31-53.
- Shang, Y., Hasan, M. K., Ahammed, G. J., Li, M., Yin, H., and Zhou, J. 2019. Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: a review. Molecules. 24(14):2558.
- SIAP. 2020. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf>. (Consulta: diciembre 2021).
- Siddiqi, K. S., and Husen, A. 2017. Plant response to engineered metal oxide nanoparticles. Nanoscale Research Letters. 12 (92).
- Siddiqui, M. H., Al-Wahaibi, M. H., Firoz, M., and Al-Khaishany M. Y. 2015. Role of nanoparticles in plants. *En: Nanotechnology and Plant Sciences*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-14502-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-14502-0_2).
- Siddiqui, M. H., and Al-Wahaibi, M. H. 2014. Role of nano-SiO<sub>2</sub> in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum seeds Mill.*). Saudi Journal of Biological Sciences. 21 (1):13-17.
- Sommer, A. L., and Lipman, C. B. 1926. Evidence on the indispensable nature of zinc and boron for higher green plants. Plant physiology. 1 (3):231–249.
- Strable, J., and Scanlon, M. J. 2009. Maize (*Zea mays*): a model organism for basic and applied research in plant biology. Cold Spring Harb Protoc. 4:1-10.
- Tarafdar J. C, Sharma, S., and Raliya, R. 2013. Nanotechnology: interdisciplinary science of applications. African Journal of Biotechnology. 12 (3):219-226.

Tarafdar, J. C., Raliya, H. R., Mahawar, H., and Rathore, I. 2014. Development of zinc nanofertilizer to enhance crop production in pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Agricultural Research*. 3:257-262.

Ullah, S., and Arshad, M. 2014. Exposure-response of *Triticum aestivum* to titanium dioxide nanoparticles application: seedling vigor index and micronuclei formation. *Comsats – science vision*. 20 (1):57-61.

Xing, B., and Lin, D. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution*. 10:31.

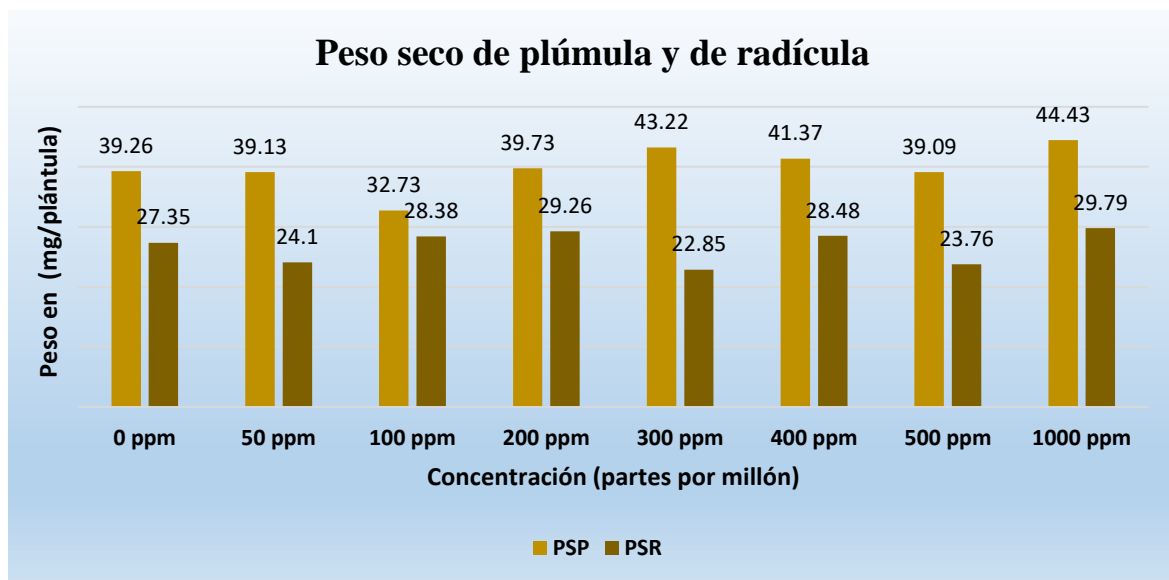
Zhang, D., Hua, T., Xiao, F., Chen, C., Gersberg, R. M., Liu, Y., Stuckey, D., Ng, W. J; and Tan, S. K. 2015. Phytotoxicity and bioaccumulation of zno nanoparticles in *Schoenoplectus tabernaemontani*. *Chemosphere*. 120: 211-219.

Zhang, R., Zhang, H., Tu, C., Hu, X., Li, L., Luo, Y., and Christie, P. 2015. Phytotoxicity of zno nanoparticles and the released Zn (II) ion to corn (*Zea mays L.*) and cucumber (*Cucumis sativus L.*) during germination. *Environ Sci Pollut Res Int*. 22 (14):11109-11117.

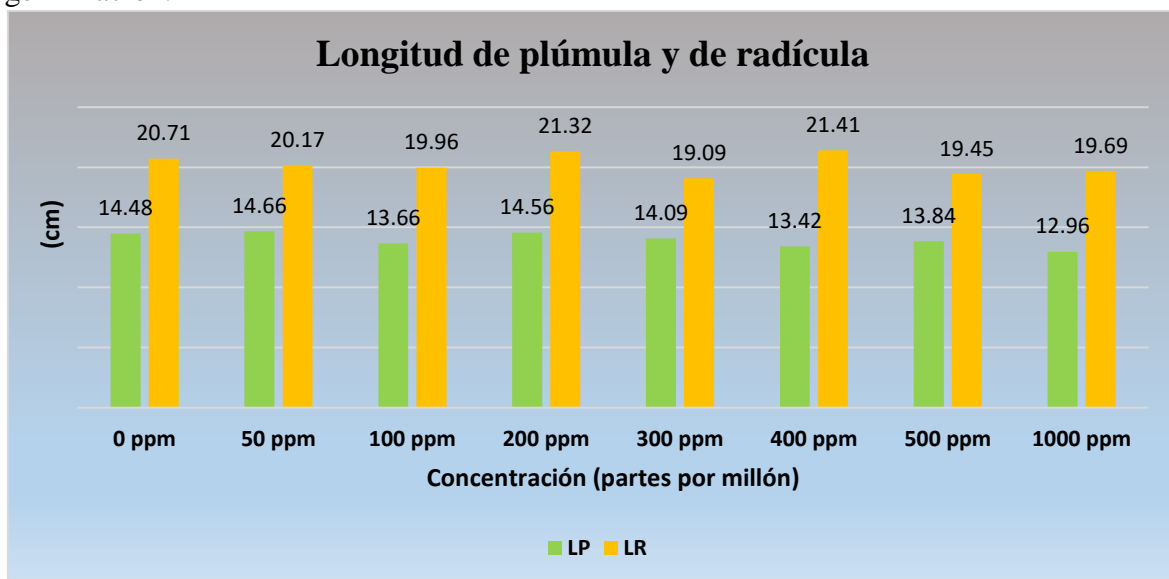
Zhao L., Sun, Y., Hernandez-Viezcas, J. A., Servin, A. D., Hong, J., Niu, G., Peralta-Videa, J. R., Duarte-Gardea, M., and Gardea-Torresdey, J. L. 2013. Influence of CeO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles on cucumber physiological markers and bioaccumulation of Ce and Zn: a life cycle study. *J. Agric Food Chem*. 61 (49):11945-11951.

## VIII. ANEXOS

Anexo 1. Peso seco de plúmula y peso seco de radícula (mg/plántula) por concentración en plántulas, obtenidas de las semillas de maíz (*Zea mays L.*) tratadas con NPsZnO en el bioensayo de germinación.



Anexo 2. Longitud de plúmula y longitud de radícula (cm) por concentración en plántulas, obtenidas de las semillas de maíz (*Zea mays L.*) tratadas con NPsZnO en el bioensayo de germinación.



Anexo 3. Contenido de clorofila (SPAD) por concentración en plántulas, obtenidas de las semillas de maíz (*Zea mays L.*) tratadas con NPsZnO en el bioensayo de germinación.

