

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO DE SEMILLAS Y PLANTAS DE *Capsicum annuum* POR EFECTO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO.

Tesis

Que presenta ENRIQUE ANTONIO ADAME LEÓN
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

Saltillo, Coahuila

Junio 2018


COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO DE SEMILLAS Y PLANTAS DE *Capsicum*
annuum POR EFECTO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO

Tesis

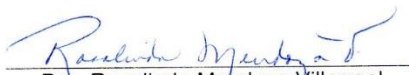
Elaborada por ENRIQUE ANTONIO ADAME LEÓN como requisito parcial para
obtener el grado de Maestro en Tecnología de Granos y Semillas con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría


Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Asesor Principal


Dr. Celestino Flores López
Asesor


Dr. Ricardo Hugo Lira Saldivar
Asesor


Dra. Ileana Vera Reyes
Asesor


Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal
Subdirectora de Postgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Junio 2018

Agradecimientos

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por darme la oportunidad de formar parte de ella durante mis estudios de postgrado, apoyando incondicionalmente en mi formación profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia Y Tecnología (**CONACYT**) por el apoyo económico brindado para realizar los estudios de postgrado.

A la **Ph. D. Norma Angélica Ruiz Torres** por ser parte de esta formación académica y formar parte del comité de asesoría.

Al **Ph. D. Ricardo Hugo Lira Saldívar** por su valiosa aportación en el desarrollo de este proyecto de tesis además de darme la oportunidad de realizar la estancia académica dentro de las instalaciones del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA).

Al **Dr. Celestino Flores López** por su valiosa aportación en desarrollo de este proyecto de investigación.

A la **Dra. Ileana Vera Reyes** por su valiosa colaboración y asesoramiento en el desarrollo de esta investigación.

Al **Dr. Mario Ernesto Vásquez Badillo** por su apoyo dentro del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (CCDTS).

Al Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (CCDTS) y al CONACYT por el apoyo financiero brindado a través del proyecto 268 de Fronteras de la Ciencia, del cual es Responsable Técnico el Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar.

Dedicatorias

A MIS PADRES:

C. María Eloísa León Morales e Ing. Enrique Adame Martínez

Por el apoyo y la confianza incondicional que me han brindado, además de ser un gran ejemplo a seguir a lo largo de mi vida, por formar parte de un logro más en mi formación profesional ya que si sus enseñanzas esto no sería posible. Gracias.

A MI FAMILIA:

Por ser pacientes a lo largo de esta formación, ya que forman una parte esencial en mi vida y sin su apoyo, parte de estos logros, no serían posibles.

Índice General

	Página
Agradecimientos	ii
Dedicatorias.....	iv
Lista de Cuadros	vi
Lista de Figuras	vi
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo General	2
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Nanotecnología	7
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
Ensayos Preliminares.....	12
Estudio I. Ensayo de germinación con la aplicación de nanopartículas de óxido de hierro y micropartículas de sulfato de hierro, en altas y bajas concentraciones, a semillas de <i>Capsicum annuum</i>	14
Estudio II. Aplicación de nanopartículas de óxido de hierro y micropartículas de sulfato de hierro, en altas y bajas concentraciones, para el desarrollo de la planta en casa sombra.	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
Ensayos preliminares	19
Estudio I. Ensayo de germinación con la aplicación de nanopartículas de óxido de hierro y micropartículas de sulfato de hierro, en altas y bajas concentraciones, a semillas de <i>Capsicum annuum</i>	20
Estudio II. Aplicación de nanopartículas de óxido de hierro y micropartículas de sulfato de hierro, en altas y bajas concentraciones, para el desarrollo de la planta en casa sombra.	31
CONCLUSIONES.....	44
BIBLIOGRAFÍA.....	¡Error! Marcador no definido.

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Calidad fisiológica de las semillas de chile poblano.....	20
Cuadro 2. Cuadros medios del análisis de varianza para el ensayo de germinación de semillas de chile poblano tratadas con diferentes niveles de NPs Fe_2O_3 y MPs FeSO_4 durante el proceso de imbibición.....	23
Cuadro 3. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de chile poblano imbibidas en suspensiones de NPs Fe_2O_3 y de MPs FeSO_4	25
Cuadro 4. Cuadros medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el ensayo de invernadero en plantas de <i>Capsicum annuum</i>	33
Cuadro 5. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de invernadero, así como el número de mediciones con diferentes niveles de NPs Fe_2O_3 y MPs FeO_4 en plantas de <i>Capsicum annuum</i>	38
Cuadro 6. Cuadros medios del análisis de varianza de las variables fisiológicas evaluadas en casa sombra.....	41
Cuadro 7. Comparación de medias de las variables fisiológicas evaluadas en casa sombra.....	42

Lista de Figuras

Figura 1. Curva de imbibición en la semilla de chile poblano usada en el trabajo de investigación.....	21
Figura 2. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la variable porcentaje de germinación.....	28
Figura 3. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la variable porcentaje vigor de germinación.....	29
Figura 4. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la variable peso seco de plántula.....	30

Figura 5. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la variable longitud media de radícula.....30

Figura 6. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la longitud media de vástago.....31

RESUMEN

COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO DE SEMILLAS Y PLANTAS DE *Capsicum annuum* POR EFECTO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE HIERRO.

POR:

ENRIQUE ANTONIO ADAME LEÓN

MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DRA. NORMA ANGÉLICA RUIZ TORRES – ASESOR –

Saltillo, Coahuila

Junio 2018

El uso de las nanopartículas (NPs) en la agricultura es una opción para aplicar compuestos en pequeñas cantidades sin afectar el ambiente. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de las NPs de óxido de hierro (NPsFe₂O₃) y micropartículas de sulfato de hierro (MPsFeSO₄), en la fisiología de la germinación y en el desarrollo de plantas de chile poblano (*Capsicum annuum*). Los objetivos específicos son: 1) Evaluar el efecto de diferentes dosis de NPsFe₂O₃, en semillas de chile poblano (*Capsicum annuum*), para determinar su acción como promotor o inhibidor (fitotoxicidad) en la germinación y desarrollo de plántulas, 2) Comparar la respuesta a la aplicación de MPsFeSO₄ con las NPsFe₂O₃, para dilucidar si el efecto es causado por el tamaño de partícula, 3) Caracterizar las respuestas morfofisiológicas del cultivo de chile poblano a la aplicación de NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄, bajo condiciones de casa sombra (altura de planta, fecha de floración, tasa fotosintética, conductancia estomática, tasa de transpiración y CO₂ intercelular). Las NPsFe₂O₃ fueron proporcionadas por el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Se realizaron estudios preliminares para determinar la calidad fisiológica del material genético en estudio. Se obtuvo además una curva de imbibición, para determinar el periodo de imbibición. Posteriormente se realizaron dos estudios: 1) Estudio I. Ensayo de germinación con la aplicación de NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄, en altas y bajas concentraciones, a semillas de *Capsicum annuum*. 2) Estudio II. Aplicación de NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄, en altas y bajas concentraciones, para el desarrollo de la planta en casa sombra. Se obtuvieron los resultados siguientes: Estudio I. Se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la variable peso seco de plántula, longitud media de vástago y longitud media de radícula, así como diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en las variables vigor de germinación y porcentaje de germinación. Se obtuvo un vigor de germinación superior estadísticamente con las NPsFe₂O₃ (47%) en comparación con las MPsFeSO₄ (38%), el porcentaje de germinación presentado por el efecto de las NPsFe₂O₃ (94%), fue estadísticamente superior a la presentada por las MPsFeSO₄ (90%).

Estudio II. En la fuente de variación tipo de partícula no se presentaron diferencias significativas, lo cual indica que la aplicación de NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄ tuvieron el mismo efecto en el desarrollo del cultivo. En lo que respecta a la fuente de variación concentración, se presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las variables diámetro de tallo (DT), índice de clorofila (IC), número de hojas y número de frutos, indicando que la concentración puede tener un efecto promotor o inhibidor del crecimiento, en el cultivo de chile poblano. También se reportaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la fuente de variación tipo de partícula para las variables tasa fotosintética, conductancia estomática, transpiración, Cond/CO₂ y humedad relativa (RHS), lo cual indica que las NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄ tienen un efecto en la conversión de materia inorgánica en materia orgánica, así como en la presión de vapor y el flujo de vapor sobre la superficie de la hoja ya que la conductancia estomática permite el intercambio físico activo entre las partes aéreas de la planta y la atmósfera.

Palabras clave: nanopartículas, *Capsicum annuum*, germinación, vigor.

ABSTRACT

PHYSIOLOGICAL PERFORMANCE OF *Capsicum annuum* SEEDS AND PLANTS BY EFFECT OF IRON OXIDE NANOPARTICLES.

BY:

ENRIQUE ANTONIO ADAME LEÓN

MASTER IN GRAIN AND SEED TECHNOLOGY
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

PH. D. NORMA ANGÉLICA RUIZ TORRES – ADVISER –

Saltillo, Coahuila

Jun 2018

The use of nanoparticles (NPs) in agriculture is an option to apply compounds in small quantities without affecting the environment. The objective of this work was to determine the effect of iron oxide NPs (NPsFe_2O_3) and iron sulphate microparticles (MPsFeSO_4) on the physiology of germination and on the development of *Capsicum annuum* plants.

The specific objectives were: 1). To evaluate the effect of different concentrations of NPsFe_2O_3 , on seeds of *Capsicum annuum*, and to determine its function as a promoter or inhibitor (phytotoxicity) in the germination process and the development of seedlings. 2). To compare the response to the application of MPsFeSO_4 with the NPsFe_2O_3 , to elucidate if the effect is caused by the particle size or the composition of the particle. 3) To characterize the morphophysiological response of *Capsicum annuum* plants, to the application of NPsFe_2O_3 and MPsFeSO_4 , under shaded greenhouse conditions (plant height, flowering date, biomass, photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration rate and intercellular CO_2). The NPsFe_2O_3 were provided by the Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Preliminary studies were conducted to determine the physiological quality of the seed, in addition to an imbibition curve, to determine the imbibition time. Then two studies were carried out: 1). Study I. *Capsicum annuum* seed germination test with the application of NPsFe_2O_3 and MPsFeSO_4 , in high and low concentrations. 2). Study II. Application of NPsFe_2O_3 and MPsFeSO_4 , in high and low concentrations, to plants grown in the shadehouse. Results: Study I. Highly significant differences ($P \leq 0.01$) were found for seedling dry weight, stem and radicle average length, as well as significant differences ($P \leq 0.05$) for vigor of germination and germination percentage. Higher germination vigor was obtained when seed was imbibed with NPsFe_2O_3 (47%), in comparison with the MPsFeSO_4 (38%), the germination percentage with NPsFe_2O_3 (94%) was statistically superior to that presented by the MPsFeSO_4 (90%). Study II. There were no significant differences for the particle type, which indicates that the application of NPsFe_2O_3 and MPsFeSO_4 had the same effect in the crop development. Regarding the particle concentration, there were highly significant differences

($P \leq 0.01$) in the variables stem diameter (DT), chlorophyll index (CI), number of leaves and number of fruits, indicating that the concentration may have a promoter or growth inhibitory effect, in the *Capsicum annuum* crop. Highly significant differences ($P \leq 0.01$) were also reported in the source of variation particle type, for photosynthetic rate, stomatal conductance, transpiration, stomatal conductance/ CO_2 and relative humidity (RHS). Indicating that the NPs Fe_2O_3 and the MPs FeSO_4 had an effect in the conversion of inorganic into organic matter, as well as in the vapor pressure and the vapor flow on the surface of the leaf, since the stomatal conductance allows the active physical exchange between the aerial parts of the plant and the atmosphere.

Key words: nanoparticles, *Capsicum annuum*, germination, vigor

INTRODUCCIÓN

Capsicum annuum es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial por su volumen de producción, se produce alrededor del mundo y es utilizado para el consumo humano. México es el segundo productor de chile verde en el mundo teniendo como principales productores a los estados de Coahuila, Baja California y Sinaloa.

La nutrición en el cultivo de chile forma parte esencial para su desarrollo, dentro de la nutrición tenemos macro y micronutrientes que se complementan entre sí para lograr un máximo rendimiento en la planta. Dentro de los micronutrientes existen elementos que son esenciales para el desarrollo de la planta como es el hierro, el cual participa en funciones básicas como la fotosíntesis, respiración, síntesis de cloroplastos, entre otras.

Este elemento, aunque es muy abundante en la tierra, no siempre se encuentra de manera disponible para las plantas, por tal motivo existen problemas por deficiencia, ocasionando amarillamiento en las hojas, también conocido como clorosis. En consecuencia, a la deficiencia de este elemento, la planta puede detener su crecimiento llegando a la muerte, causando menores rendimientos por hectárea, además de ocasionar pérdidas, si no se controla a tiempo. Por el lado contrario, existen condiciones ambientales, principalmente cuando el pH de los suelos es bajo y encharcamiento, en las cuales el hierro se encuentra en exceso, causando toxicidad en las plantas. Esta toxicidad se manifiesta con la inhibición de crecimiento de las raíces, hojas necróticas, floración retardada además de causar deficiencias de otros elementos.

En la actualidad se han realizado trabajos para mejorar el rendimiento de los cultivos, aplicando nanopartículas (NPs), estas son usadas para liberar pesticidas o fertilizantes en un momento específico, y que puedan ayudar en el desarrollo de la planta, para obtener un mayor rendimiento del cultivo. Nano es un prefijo que significa “enano”, cuyas dimensiones son de una millonésima parte de un milímetro.

Objetivo General

Determinar el efecto de las nanopartículas de óxido de hierro (NPsFe₂O₃) y de las micropartículas de sulfato de hierro (MPsFeSO₄), en variables fisiológicas de la germinación, desarrollo de plántula y parámetros fisiológicos y agronómicos en plantas de chile poblano (*Capsicum annuum*).

Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de la aplicación durante la imbibición de diferentes dosis de NPsFe₂O₃, a semillas de chile poblano (*Capsicum annuum*), para determinar su acción como promotor o inhibidor (fitotoxicidad) de la germinación y desarrollo de plántulas.
- Determinar la respuesta a la aplicación de MPsFeSO₄, durante la imbibición de semillas de chile poblano, en variables fisiológicas relacionadas con la germinación y desarrollo de plántulas.
- Comparar la respuesta a la aplicación de NPsFe₂O₃, con las MPsFeSO₄ durante la imbibición de semillas, de variables fisiológicas relacionada con la germinación y desarrollo de plántulas de chile ancho, para explicar si el efecto es causado por el tamaño de las partículas.
- Caracterizar las respuestas morfofisiológicas del cultivo de chile poblano a la aplicación de NPsFe₂O₃ y de MPsFeSO₄, bajo condiciones de casa sombra, por medio de la evaluación de las variables altura de planta, fecha de floración, biomasa, fotosíntesis, conductancia estomática, tasa de transpiración y CO₂ intercelular.

Hipótesis

- El uso de NPsFe_2O_3 en pequeñas dosis mejora la germinación y el vigor en semillas de chile poblano.
- Las NPsFe_2O_3 en dosis altas reducen el vigor y la germinación en semillas de chile poblano.
- El uso de NPsFe_2O_3 en plantas de chile poblano mejora la expresión de variables fisiológicas y agronómicas.

REVISIÓN DE LITERATURA

De acuerdo a las estadísticas de la organización para la alimentación y la agricultura (FAO, 2014), la producción de chile fresco o verde en el mundo, fue de 32,324,347 t, cultivado en ciento veintidós países alrededor de la superficie terrestre, siendo China el primer productor mundial, al cosechar el 49.8% de los chiles, seguido de México con 8.4%, Turquía con 6.5% e Indonesia 5.8%.

Según las estadísticas del servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP, 2017) en 2016, México produjo 1,302,174 t de chile fresco o verde, en una superficie de 161,615 ha, con un rendimiento de 26 t/ha, en los estados de Coahuila, Baja California y Sinaloa, siendo estos los estados de mayor rendimiento debido a que se produce bajo condiciones de invernadero y malla sombra, además de un consumo doméstico per cápita de aproximadamente 15.7 kg (Quadratín, 2017).

Para obtener un mayor rendimiento en el cultivo de chile, es de gran importancia contar con un programa equilibrado de fertilización con macro y micronutrientes. Dentro de los elementos de una solución nutritiva para una mejor calidad, tenemos los macronutrientes (N, P, K) así como los micronutrientes (Zn, Cu, Fe, entre otros) (Cruz *et al.*, 2014).

En la planta, los micronutrientes juegan un papel importante en la producción y la productividad. Entre los micronutrientes, el hierro (Fe) es un cofactor para aproximadamente 140 enzimas que catalizan reacciones bioquímicas únicas, algunas de ellas implicadas en la síntesis de hormonas vegetales (lipoxigenasas y enzimas formadoras de etileno) y a la vez están relacionadas en diversas vías que controlan tanto los eventos de desarrollo como las respuestas a múltiples variaciones ambientales (Brittenham, 1994; Hasset *et al.*, 1998; Francois *et al.*, 1995).

Es un elemento esencial para las plantas, ya que acepta y dona electrones, además realiza un papel importante en las cadenas de transporte de electrones asociadas con la fotosíntesis, respiración, fijación de nitrógeno, síntesis de clorofila y ADN (Rout y Sahoo, 2015; Sawan *et al.*, 2001). Es requerido por las

plantas en pequeñas cantidades, además de ser capaz de influir directamente en el desarrollo y crecimiento de las mismas (Grillet *et al.*, 2014). También es uno de los elementos más abundantes en el planeta, pero de difícil asimilación por parte de estas, debido a su baja solubilidad (Chen y Barak, 1982).

Existen distintos mecanismos mediante los cuales las plantas pueden absorber al Fe, uno de ellos es por medio de las raíces, estas pueden absorber al elemento dependiendo en la forma en que se encuentre y en gran medida de su estado de reducción-oxidación (redox). Las raíces pueden absorber directamente el Fe, cuando se encuentra como hierro ferroso (en condiciones reductoras, Fe^{+2}), mediante un transportador específico localizado en la membrana plasmática. Por el contrario, el Fe no puede ser absorbido bajo condiciones medioambientales oxidadas, ya que se encuentra en su mayoría como hierro férrico (Fe^{+3}) y este solo es soluble cuando se combina con quelatos naturales o artificiales (Bienfait, 1984; Grusak *et al.*, 1990).

La participación de Fe en la síntesis de clorofila es la razón de la clorosis (coloración amarillenta de hojas jóvenes), asociada con la deficiencia de este elemento (Hochmuth, 2011). Esta deficiencia, se debe a que las plantas tienen que lidiar con la disponibilidad de Fe en el medio ambiente en el que se encuentran, además, la falta o el exceso de este elemento, pueden ocasionar trastornos nutricionales graves que afectan de manera importante la fisiología de las plantas (Gris, 1884).

Landsberg (1986) encontró que la deficiencia de Fe produce cambios en la morfología de las plantas, tanto en brotes como en raíces, dichos cambios se hacen presentes en la zona de las raíces apicales, aumentando la formación de pelos y volviendo la corteza de estas más gruesa, mientras que en la parte de los brotes se presentan rayas intervenales color amarillo en hojas más jóvenes (Gris, 1884).

El antes mencionado color amarillo de las hojas, es consecuencia de una alteración en la formación de los pigmentos de los cloroplastos, específicamente las clorofilas relativas a los carotenoides (Arton, 1993). Las deficiencias se encuentran típicamente entre especies sensibles a la falta de

este elemento, cultivados en suelos calcáreos, estos abarcan aproximadamente más del 30% de la superficie terrestre (Chen y Barak, 1982).

Terry (1983) mencionó que la deficiencia de Fe no sólo retarda la síntesis de clorofila, sino también la síntesis del aparato completo de recolección de luz, incluyendo las membranas de cloroplasto y los complejos de clorofila-proteína, carotenoides, centros de reacción y portadores de electrones asociados con ellos.

Possington (1971) encontró que el estrés por deficiencia de Fe en espinacas (*Spinacea oleracea* L.), reduce tanto el número de cloroplastos por célula, como el contenido de clorofila por cloroplasto; mientras que Terry (1980), encontró que el estrés de Fe en remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.), provocó una disminución en el contenido de clorofila y en la tasa máxima de absorción de CO₂ por área, estando estrechamente relacionados con la clorofila por área.

Así como hay deficiencias de Fe en las plantas, también existen casos en donde se encuentra en niveles altos produciendo toxicidad, este elemento puede actuar catalíticamente a través de la reacción de Fenton para generar radicales hidroxilos, que pueden dañar los lípidos, las proteínas y el ADN (Rout y Sahoo, 2015). Estas reacciones llevan a una serie de síntomas morfológicos afectando de manera seria a los cultivos; Ponnampereuma *et al.*, (1955) observaron cambios morfológicos en el cultivo de arroz (*Oriza sativa* L.), el cual comenzó a presentar un color marrón en las hojas más longevas, hasta llegar a secarse por completo debido a que en suelos encharcados, las condiciones anaerobias y el bajo pH conducen a la reducción del hierro férrico y la estabilización del hierro ferroso, que es fácilmente absorbido por las plantas.

Howeler (1973) menciona algo similar llamado “anaranjamiento” debido a la toxicidad del hierro, presentándose después de 3 a 10 semanas de crecimiento normal. Estas condiciones comienzan con el amarillamiento en las puntas de las hojas inferiores, moviéndose hacia la base de la hoja. Seguido de esto, las hojas más altas se afectan y muchas de las hojas inferiores mueren completamente. En algunos casos la floración se retrasa teniendo rendimientos muy bajos y en casos más extremos, las plantas no florecen.

Snowden y Wheeler (1993) han reportado la toxicidad de Fe como un problema en plantas. El efecto tóxico del Fe en altas concentraciones inhibe el desarrollo de las raíces, lo que puede deberse a posibles mecanismos de toxicidad como la producción inducida por el Fe de superóxido (O_2), además, las altas concentraciones de Fe, también pueden causar deficiencias de nutrientes esenciales como Mn, P, K, Ca y Mg (Howeler, 1973).

Nanotecnología

La nanotecnología es la ciencia, ingeniería y tecnología llevada a cabo en nanoescala. Constantemente se están creando nanomateriales (NMs) a escala atómica en un rango de dimensiones entre 1 y 100 nanómetros (1^{-9} a 10^{-12}) denominados nanopartículas (NPs) (Srilatha, 2011).

Las NPs son ampliamente utilizadas en diversos productos industriales, tecnológicos, médicos, agrícolas, entre otros. Dentro de los procesos en los cuales participan las NPs están la purificación del agua, tratamiento de aguas residuales, remediación ambiental, procesamiento y envasado de alimentos, aplicaciones industriales y domésticas, medicina entre otras (Wei *et al.*, 2007; Byrappa *et al.*, 2008; Zhang y Webster, 2009).

El uso de las NPs en la agricultura, es una de las muchas áreas de oportunidad poco exploradas por el ser humano. Se han utilizado en la agricultura para el mejoramiento de los cultivos y liberación de diferentes compuestos como pesticidas logrando aplicar en partes específicas de la planta sin afectar otros tejidos en pequeñas cantidades. También son empleadas para mejorar el valor nutritivo de los alimentos, ya que se utilizan como vehículos para llevar vitaminas entre otros nutrientes (Lira *et al.*, 2014; Duncan, 2011; Begum *et al.*, 2011).

Existen diferentes estudios que demuestran el potencial de las NPs en la mejora del vigor, germinación, crecimiento de las semillas, protección de las plantas entre otras múltiples aplicaciones (Khot *et al.*, 2012; Siddiqui y Al-Whaibi, 2013). Actualmente se están realizando diversos estudios en donde se aplica las NPs como promotor de la germinación, con el fin de acelerar y

mejorar este proceso. Algunos trabajos coinciden que las NPs tienen un impacto diferente en la germinación dependiendo del tipo y especie de cultivo con la que se esté trabajando.

La germinación de las semillas es un fenómeno importante en la agricultura moderna, ya que es uno de los principales procesos de la vida de las plantas que garantizan su supervivencia. El aumento en el porcentaje de germinación de las semillas y el establecimiento temprano de las plántulas, puede modular la reproducción, productividad y valor nutricional de los cultivos alimenticios (Zhao *et al.*, 2012).

Siddiqui y Al-Whaibi (2013) comentan que el uso de las NPs podría proporcionar una fuente alternativa de fertilizantes que puede mejorar la agricultura sustentable por su efecto en el proceso de germinación. La clave para aumentar la tasa de germinación de las semillas, es la penetración de los NPs en estas (Khot *et al.*, 2012).

Feizi *et al.* (2011) reportaron una mejor germinación en el trigo (*Triticum aestivum* L.) tratado con NPs de óxido de titanio (NPsTiO₂), comparado con el TiO₂ a granel. El tratamiento de NPsTiO₂, en la concentración adecuada, acelera el proceso de germinación en semillas de espinacas (*Spinacia oleracea* L.), además, las semillas tratadas con NPsTiO₂ producen plantas con un peso seco más alto, tasa fotosintética más alta, y un aumento en la formación de clorofila, *et al.*, 2005).

El efecto de algunas NPs metálicas en bajas concentraciones, como paladio (Pd), oro (Au), silicio (Si) y cobre (Cu), tuvieron un efecto significativo en el proceso de la germinación sobre las semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) (Shah y Belozeroova, 2009).

Entre otros materiales con lo que se ha trabajado para mejorar el proceso de germinación, están los nanotubos de carbón, en un trabajo realizado por Khodakovskaya *et al.* (2009), mencionan que estas partículas mejoraron la germinación en semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), además de tener un efecto en el crecimiento de las raíces, penetrando en la capa gruesa y apoyando la captación de agua dentro de las mismas. En trabajos anteriores

con nanotubos de carbón, Cañas *et al.* (2008) reportaron un mayor alargamiento de la raíz en el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.).

Najafi *et al.* (2016) utilizaron como fertilizantes NPsFe/SiO₂ en dosis bajas, reportando efectos significativos en la germinación y aumento de longitud del brote en los cultivos del maíz (*Zea mays* L.) y la cebada (*Hordeum vulgare* L.). El nivel óptimo de concentración de NPs de Fe ayuda a aumentar la germinación y la respuesta al crecimiento de las plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) (Jahangir *et al.*, 2015).

Por otra parte, se han aplicado NPs durante el desarrollo de la planta para obtener un mejor rendimiento en el menor tiempo posible. Zhu *et al.* (2008) mencionan que las plantas pueden absorber, acumular y colocar las NPs en lugares específicos dentro del tejido vegetal, lo que estimula el crecimiento de las mismas, promoviendo su desarrollo en menor tiempo.

Liscano *et al.* (2000) mencionan que la reducción del tamaño de partícula aumenta el número por unidad de peso y la superficie de contacto con la planta, lo que conduce a un aumento en la absorción de nutrientes.

Li *et al.* (2015) realizaron experimentos con semillas oleaginosas aplicando NPs TiO₂, obteniendo como resultado una mejora en el rendimiento de los sistemas morfológicos (longitud de raíz, altura de planta, biomasa fresca), fisiológicos (intercambio de gases fotosintética, contenido de clorofila, actividad nitrato reductasa) y en el sistema antioxidante (súper óxido dismutasa, SOD; peroxidasa, POD; catalasa, CAT).

Se determinó, que a una concentración adecuada las NPs TiO₂ mejoró el crecimiento de espinacas, promoviendo la fotosíntesis y el metabolismo del nitrógeno (Hong *et al.*, 2013; Yang y Watts, 2005).

Javadimoghadam *et al.* (2015) sugieren que la aplicación foliar de nanofertilizantes podría mejorar el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos. Ghafari y Razmjoo (2013) encontraron que la fertilización del Fe aumentó las actividades de las enzimas antioxidantes, el contenido de clorofila, el rendimiento, los componentes del rendimiento y la calidad del grano del trigo

(*Triticum aestivum* L.), destacando que la aplicación de 2 ppm de NPs de óxido de hierro (NPsFe₂O₃) fue más efectiva que la de otros fertilizantes de Fe. El uso de fertilizantes de Fe en forma foliar, tiene un efecto significativo sobre el rendimiento del cultivo de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) y cacahuate (*Arachis hypogaea* L.) (Zareie *et al.*, 2011; Abdzad y Noorhosseini, 2010).

Además, en un trabajo realizado por Singh y Dayal (1992) concluyeron que la aplicación del Fe en forma foliar causó un aumento en el rendimiento del cacahuate (*Arachis hypogaea* L.), en suelos alcalinos.

Dentro de la aplicación de las NPs existen diferentes riesgos, ya que su efecto sobre las plantas puede ser positivo o negativo (Castiglione y Cremonini, 2009). Una de las preocupaciones para las aplicaciones de los NPs es su fitotoxicidad. El nivel de fitotoxicidad puede depender del tipo de NPs y su posible aplicación. A la fecha, algunos estudios realizados sobre los efectos de las NPs en las plantas, han tenido como objetivo determinar la fitotoxicidad de estos tratamientos; Limbach *et al.* (2007) atribuyen la toxicidad de las NPs metálicas a tres mecanismos: (1) Generación de especies de oxígeno reactivo (ROS), que puede dañar la membrana celular; (2) Penetración de NPs en la célula donde interfieren con el metabolismo intracelular; (3) Liberación de los iones metálicos que dificultan las funciones enzimáticas.

Se ha investigado la fitotoxicidad de las NPs a través de la germinación de las semillas y alargamiento de la raíz, evaluando sus efectos agudos en la fisiología de las plantas, encontrando así, que la inhibición de estos elementos es altamente dependiente tanto del tipo de planta como de las propiedades de NPs (Di Salvatore *et al.*, 2008).

Lin y Xing (2007) encontraron que en altas concentraciones de Zn (2000 mg/L) se inhibe la germinación en el centeno (*Secale cereale* L.) y el maíz (*Zea mays* L.), concluyendo que el crecimiento de las raíces dependía del tipo de NPs y su concentración.

Por otra parte, la exposición directa de las NPs de óxido de aluminio (NPsAl₂O₃) conduce a la fitotoxicidad en las raíces del trigo (*Triticum aestivum* L.), llegando a alteraciones morfológicas, celulares y moleculares, además de producir

fragmentación en el ADN, siendo uno de los marcadores importantes de muerte celular (Yanik y Vardar, 2015).

En un estudio referido a la fitotoxicidad de las NPs de óxidos metálicos, se obtuvo como resultado que las NPs CuO y NPs NiO fueron más tóxicas que las NPs TiO_2 , NPs Fe_2O_3 y NPs Co_3O_4 , mientras que las semillas de lechuga fueron las más sensibles en la germinación (Wu *et al.*, 2012).

Por su parte, Ma *et al.* (2010) también observaron la afectación de las raíces en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) por parte de las NPs de óxido de cesio (CeO_2) a una concentración de 2000 ppm.

Se ha demostrado que el Fe en concentraciones superiores a 200 ppm, reduce el crecimiento de las plantas y la biomasa en Cattai (*Typha latifolia* L.) y en álamo híbrido (*Populus x Populus* L.) (Ma *et al.*, 2013). También se han observado cambios en las longitudes de raíces y brotes, número de raíces laterales, pigmentos fotosintéticos y concentración interna de CO_2 en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.), al aumentar el Fe de concentraciones moderadas (4 mM) a altas (9 mM) (Pereira *et al.*, 2013). Además, se observó que la exploración de NPs Fe_3O_4 se traslocaron y se acumularon en diferentes tejidos de plantas de calabaza (*Cucurbita sp.*) (Zhu *et al.*, 2008).

Se debe tomar en cuenta que existe una falta de regulaciones para la síntesis, uso, manipulación y eliminación de NPs y como consecuencia se podrían estar acumulando en el medio ambiente (Ma *et al.*, 2010); aunado a lo anterior, se han realizado relativamente pocos estudios con óxido de Fe a nanoescala. Por lo tanto, es de suma importancia investigar sus efectos en las plantas, por el papel que desempeña en ellas, los beneficios y/o problemas que puede generar.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en dos fases: el primer estudio en el Laboratorio de Fisiología de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Ubicada a los 25° 22' de Latitud Norte y 101°01'48'' Longitud Oeste, con una Altitud de 1742 msnm. El segundo estudio en una casa sombra del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), en Saltillo, Coahuila, México. Ubicado a los 25° 27' 37" de Latitud Norte y 100° 58' 6" de Latitud Oeste y a una altitud de 1610 msnm.

Ensayos Preliminares

La calidad fisiológica de la semilla se determina en base a variables relacionadas con la fisiología de la germinación. La calidad de las semillas disminuye con el transcurso del tiempo y la tasa de deterioro depende de las condiciones ambientales durante el almacenamiento y el tiempo en que estas permanecen almacenadas. El primer componente de la calidad que muestra señales de deterioro es el vigor de las semillas, seguido por una reducción en la germinación o de la producción de plántulas normales, y finalmente la muerte de las semillas (Ferguson, 1995).

1. Prueba de germinación estándar. Se realizó una prueba de germinación entre papel a la semilla de *Capsicum annuum* (chile poblano) para determinar su calidad fisiológica. Se sembraron cuatro repeticiones con 25 semillas cada una, en papel Anchor previamente humedecido con agua destilada, posteriormente se enrollaron en forma de "taco", se acomodaron de manera aleatoria seis "tacos" en una bolsa transparente de polietileno y posteriormente se colocaron en una canastilla de plástico. Se estableció en una cámara germinadora Lab-line Instruments a una temperatura de 25° C con 80% de humedad relativa. Se realizaron dos conteos:

Primer conteo. Al séptimo día se contabilizaron todas las plántulas normales (PN) para determinar el vigor de germinación. El resultado fue expresado en porcentaje.

Segundo conteo. Se realizó al catorceavo día para determinar el porcentaje de germinación, se contó el número de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG), reportando los datos en porcentajes.

Se determinó también la longitud de vástago y de radícula de las plántulas normales obtenidas del ensayo de germinación, los datos se obtuvieron en centímetros (cm).

El peso seco de plántulas se obtuvo con todas las plántulas normales, para lo cual se colocaron en bolsas de papel de estraza perforado, sometiénolas a un proceso de secado en una estufa Lab-Line Model 3478M a una temperatura de 70°C, durante 24 horas. Después de haber transcurrido este tiempo, se colocaron las bolsas con las plántulas secas en un desecador para posteriormente ser pesadas en una balanza analítica de precisión marca PRECISA modelo BJ 610 C, reportando el peso en miligramos por plántula (mg/plántula).

2. Curva de Imbibición. Se realizó para determinar el proceso de absorción de agua por la semilla de *Capsicum annuum*, que se da por las diferencias de potencial hídrico entre la semilla y la solución de imbibición. El proceso consta de tres fases: i) un incremento rápido en la absorción de agua; ii) movilización de nutrientes; iii) absorción de agua que generalmente coincide con la emergencia de la radícula. La finalidad fue identificar el punto donde se estabiliza la imbibición, la cual corresponde al inicio de la activación del metabolismo, previo a la germinación.

Para generar la curva de imbibición, se registró el peso inicial de la biomasa de 50 semillas, después se colocaron en una caja Petri con 15 ml de agua destilada sobre papel filtro, a temperatura ambiente (Mata *et al.*, 2014; Caseiro *et al.*, 2004).

Se determinó la biomasa en intervalos de una hora hasta que el peso de esta no varió. Previo a cada medición, se secó el exceso de agua de la semilla con papel absorbente. Se graficaron los datos obtenidos para definir la curva de imbibición en semillas de *Capsicum annuum*.

Una vez obtenidos los resultados de las pruebas preliminares de germinación, vigor y la curva de imbibición de las semillas, se procedió a establecer el ensayo en el cual se aplicaron las nanopartículas de óxido de hierro (NPsFe₂O₃) y micropartículas de sulfato de hierro (MPsFeSO₄), en altas y bajas concentraciones, para determinar su efecto en el proceso germinativo.

Estudio I. Ensayo de germinación con la aplicación de nanopartículas de óxido de hierro y micropartículas de sulfato de hierro, en altas y bajas concentraciones, a semillas de *Capsicum annuum*.

La preparación de suspensiones con las NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄ se llevó a cabo mezclándolas directamente en agua desionizada, dispersándose en un agitador mecánico por tres minutos y después en un sonicador (modelo AS2060B Ultrasonic Cleaner marca Autoscience) durante 30 minutos. Cada suspensión de NPsFe₂O₃ y de MPsFeSO₄ de diferente concentración se preparó por separado, pesando la cantidad de partículas y dispersándolas como ya se mencionó anteriormente (Mahajan *et al.*, 2011; Siddiqui and Al-Wahaibi 2013; Trujillo *et al.*, 2014; López *et al.*, 2016).

Las concentraciones bajas de NPsFe₂O₃ y de MPsFeSO₄ consistieron en tratamientos de 0, 100, 200 y 500 ppm. En altas concentraciones se prepararon suspensiones con 0, 2000, 4000 y 6000 ppm, tanto para las NPsFe₂O₃ como para las MPsFeSO₄, con la finalidad de comparar su efecto en la germinación.

Las suspensiones conteniendo las NPsFe₂O₃ y las MPsFeSO₄ se aplicaron sobre semillas de *Capsicum annuum* (chile poblano) en una caja Petri con papel filtro, para que las partículas fueran absorbidas durante el proceso de imbibición por la semilla, por un periodo de 24 horas. Después de transcurrir el tiempo, se procedió a sembrar las semillas entre papel de acuerdo a la ISTA (2004), con el procedimiento descrito en la sección de pruebas preliminares.

El primer conteo de plántulas normales se realizó al séptimo día, anotando el número de plántulas normales para determinar el porcentaje del vigor de germinación de la semilla; al catorceavo día se realizó el segundo conteo, obteniendo el número de plántulas normales, anormales y semillas sin germinar, para poder así, determinar el porcentaje de germinación, además se midió la longitud de vástago y de radícula como indicadores de vigor, para después determinar el peso seco de plántula, para lo cual las plántulas normales de cada repetición se colocaron en una bolsa de papel de estraza y estas en una estufa Lab-Line Model 3478M a 70°C durante 24 horas. Posteriormente se pesaron las plántulas secas en una balanza analítica marca PRECISA modelo BJ 610 C y el resultado se reportó en miligramos por plántula.

Diseño Experimental.

El estudio se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 7, con seis repeticiones para cada tratamiento.

Modelo lineal

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Respuesta de la unidad experimental

μ = Media general

A_i = Partícula (Nanopartículas y Micropartículas)

B_j = Concentración (0, 100, 200, 500, 2000, 4000, 6000 ppm)

ε_{ij} = Error experimental

Estudio II. Aplicación de nanopartículas de óxido de hierro y micropartículas de sulfato de hierro, en altas y bajas concentraciones, para el desarrollo de la planta en casa sombra.

Se obtuvieron plántulas de *Capsicum annuum* con la técnica tradicional empleada en CIQA, en la cual se utilizó una charola de poliestireno de 200 cavidades, teniendo como sustrato peat moss. Durante el desarrollo de las plántulas se regó con agua destilada según los requerimientos, además de la aplicación de una solución nutritiva (Steiner) excluyendo al elemento en cuestión, en este caso el hierro.

Cuando las plántulas tuvieron aproximadamente 10 cm de altura (± 2), se realizó el trasplante en contenedores de polietileno de 6 L. Se aplicó una fertilización de fondo nitrógeno (N) fósforo (P) y potasio (K) al momento de realizar las mezclas de los sustratos; después se llevaron a saturación las macetas y se trasplantó. En esta parte del experimento se utilizó como sustrato peat moss y perlita en una proporción de 3:1 (v/v).

Posteriormente se procedió a preparar las suspensiones con NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄, empleando el procedimiento descrito en el Estudio I. En bajas concentraciones se utilizaron 0, 5, 10 y 20 ppm de NPsFe₂O₃, comparando su efecto con MPsFeSO₄ en las mismas cantidades.

En altas concentraciones se estableció un testigo (0 ppm) y 1000, 1500 y 2000 ppm de NPsFe₂O₃, de igual manera se comparó con MPsFeSO₄, en las mismas concentraciones, esto con el fin de evaluar su efecto en el desarrollo de las plantas.

A los 15 días después del trasplante, cada planta recibió una dosis de 1 mL de NPsFe₂O₃ y de MPsFeSO₄, dependiendo del tratamiento, para posteriormente aplicar el tratamiento cada 15 días hasta completar 5 aplicaciones con las respectivas concentraciones.

Se evaluaron siguientes variables:

Altura de planta: se midió con una cinta métrica desde la base de la planta hasta el término de la misma, evaluando todas las plantas cada 15 días, desde el trasplante hasta el término del ensayo. Los resultados fueron reportados en centímetros (cm).

Diámetro de tallo: se determinó mediante un vernier en la parte central del tallo de la planta, evaluando todos los individuos del ensayo cada quince días, desde el trasplante hasta el término del experimento. Los resultados fueron reportados en milímetros (mm).

Índice de clorofila: se determinó mediante un medidor de clorofila SPAD 502 (Minolta Ltd., Osaka, Japan), con una hoja de cada nivel de la planta (parte superior, inferior y en medio), obteniendo un promedio de las tres mediciones por planta. Se evaluaron todas las plantas cada quince días, desde el trasplante hasta el término del ensayo, los resultados se expresaron en unidades.

Número de hojas: se cuantificó el número de hojas por tratamiento de todas las plantas, cada quince días, desde el trasplante hasta el término del ensayo.

Número de flores: se cuantificó el número de flores por tratamiento de todas las plantas, cada quince días, desde la etapa de floración hasta el término del ensayo.

Número de frutos: Se cuantificó el número de frutos de todas las planta cada quince días, desde la etapa de amarre de frutos hasta el término del ensayo.

Tasa de asimilación de CO₂ (Fotosíntesis): se midió al término del ensayo durante cada hora, desde las 8 am hasta las 6 pm, utilizando un equipo portátil LI-COR modelo LI-6400, Lincoln, Nebraska, el cual utiliza los principios de intercambio de gas para medir parámetros relacionados con la fotosíntesis. La radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol luz m}^{-2} \text{s}^{-1}$) varió en promedio a través del día de la siguiente manera: 332 de 9:00 a 10:00 AM, 578 de 10 a 11:00 AM, 839 de 11:00 AM a 12:00 PM, 858 de 12:00 a 13 PM, 619 de 14 a 15 PM, 484 de 15:00 a 16:00 PM, y 294 de 16:00 a 17:00 PM. Las lecturas fueron tomadas hasta que los valores se mantuvieron constantes en la pantalla, en un tiempo de cinco segundos. Las variables que se determinaron son: Tasa de

Asimilación de CO₂ (A) ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), conductancia estomática ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentración de CO₂ intercelular (C_i) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); tasa de transpiración (medida en $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$); y temperatura en grados centígrados (°C).

Peso seco de planta: se determinó al final del ensayo, separando el sistema radicular de la parte aérea de la planta, posteriormente se colocaron en bolsas de papel de estraza perforado previamente e identificado, para después colocarlas en una estufa Lab-Line modelo 3478M a una temperatura de 65°C por 72 horas. Transcurrido el tiempo, las bolsas se colocaron en un desecador, para posteriormente sustraer las plantas secas tomando el peso en una balanza analítica, el cual fue reportado en miligramos por planta (mg/planta).

Diseño Experimental.

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial (2 x 7). Se realizó comparación de medias por medio de la Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$)

Modelo lineal

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (ABC)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Variable observada

μ = Media

A_i = Partícula (Nanopartículas y Micropartículas)

B_j = Concentración (0, 100, 200, 500, 2000, 4000 y 6000 ppm)

C_k = Hora de medición

ε_{ijk} = Error

Para el análisis de los datos se utilizó el Paquete Estadístico SAS 9.4 (SAS Institute, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos preliminares

En el Cuadro 1 se presentan los resultados de la prueba estándar de germinación de la semilla de chile poblano (*Capsicum annuum*), en los estudios I y II. Estos resultados indican la calidad fisiológica de las semillas con las que se trabajó.

Cuadro 1. Calidad fisiológica de las semillas de chile poblano.

Cultivo	Vigor de germinación (%)	Germinación (%)	LMV (cm)	LMR (cm)	PS (mg/Plántula)
Chile poblano	85	90	3.04	12.83	0.52

LMV= Longitud media de Vástago; LMR= Longitud media de radícula; PS= Peso seco de plántula.

Los resultados obtenidos en el ensayo preliminar de germinación indican que la semilla tiene 90 % de germinación, lo que muestra la capacidad para producir plántulas normales. De acuerdo al Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), cualquier lote de semilla certificada deberá tener 85 % como mínimo de germinación, lo que demuestra que la semilla utilizada fue apta para realizar los estudios I y II.

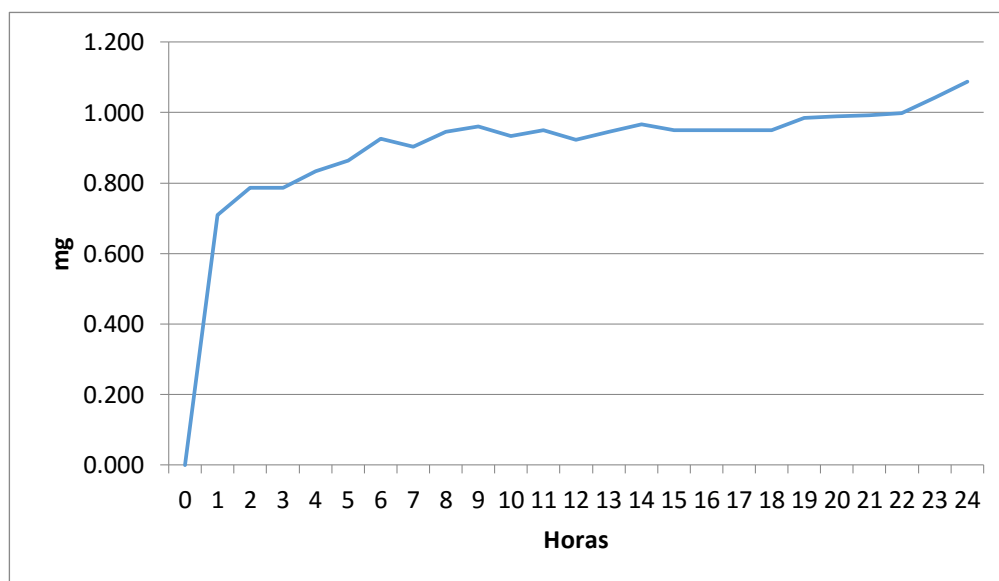
Curva de imbibición.

En la Figura 1 se muestra el comportamiento de la semilla de chile poblano (*Capsicum annuum*) en la curva de imbibición, indicando que 20 horas después de iniciada la imbibición, se estabilizó, por lo tanto no ganó más peso, para posteriormente iniciar la emergencia de radícula. Dell'Aquila (2004) reportó una curva de imbibición de 4 h en pimiento morrón, después de haber iniciado la

imbibición, para seguir una segunda fase con 52 a 90 h aproximadamente, con el comienzo de la protusión de la radícula.

Pinto *et al.* (2007) reportaron una curva de imbibición en *Solanum lycocarpum* con 36 h para la primera fase, esto es, antes de haber iniciado la fase II de la germinación.

Figura 1. Curva de imbibición en la semilla de chile poblano usada en el trabajo de investigación.



Estudio I. Ensayo de germinación con la aplicación de nanopartículas de óxido de hierro y micropartículas de sulfato de hierro, en altas y bajas concentraciones, a semillas de *Capsicum annuum*.

Los resultados del análisis de varianza se presentan en el Cuadro 2, se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la fuente de variación tipo de partícula (Part) en la variable de peso seco de plántula, además se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en las variables porcentaje de vigor de germinación, germinación y longitud de vástago. Lo anterior indica el efecto diferencial de las partículas aplicadas durante la imbibición de las semillas. Por otra parte, en la fuente de variación

concentración de partículas (Conc) se presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para las variables longitud de vástago y longitud de radícula. Respecto a la interacción tipo de partícula (Part) x concentración (Conc), se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las variables peso seco de plántula, longitud media de vástago (LV), longitud media de radícula (LR), y diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en las variables porcentaje de vigor de germinación y de germinación. Estas diferencias significativas en la fuente de variación tipo de partícula se pueden atribuir a que el hierro es un constituyente de varias enzimas (Mengel y Kirkby, 2001) y de algunos pigmentos. En plántula, el hierro tiene un papel esencial en la síntesis de clorofila.

Los resultados obtenidos coinciden con Najafi *et al.* (2016), en donde se comparó el efecto de las NPsFe y NPsSiO₂ con MPsFe y MPsSiO₂, obteniendo diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el tiempo medio de germinación, crecimiento (longitud de plúmula y radícula) y materia seca, con la aplicación de NPsFe y NPsSiO₂ en los cultivos de cebada y maíz.

En otro estudio donde evaluaron los efectos de las NPsFe₂O₃ y el fertilizante a base de Fe-quelado, en el crecimiento y desarrollo del cultivo de *Arachis hypogaea*, cultivo muy sensible a la deficiencia de Fe, se observaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para las variables longitud de la raíz, altura de la planta, biomasa y en la cantidad relativa de clorofila, determinado por medio del SPAD (Rui *et al.*, 2016).

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para el ensayo de germinación de semillas de chile poblano tratadas con diferentes niveles de NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄ durante el proceso de imbibición.

FV	GL	Vigor de germinación (%)	Germinación (%)	PS (mg/plántula)	GL	LV (cm)	LR (cm)
Tipo partícula	1	1347.9*	406.75*	0.0136**	1	0.48*	5.97NS
Concentración	6	405.5NS	64.10NS	0.0002NS	6	8.22**	42.76**
TP*Conc	6	513.5*	196.90*	0.0017**	6	1.22**	71.21**
Error	66	205.6	42.69	0.0001	1826	0.26	4.94
Total	79	2472.7	710.44	0.0156	1839	10.20	124.89
CV (%)		33.8	7.09	15.55		25.17	27.59

*, **= Niveles de significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente; NS = no significativo; FV = fuente de variación; GL = grados de libertad; TP = tipo de partícula (NPs o MPs); Conc = concentración; CV = coeficiente de variación; GL = grados de libertad; Vigor de germinación = plántulas normales al primero conteo; Germinación = plántulas normales al segundo conteo; PS = peso seco de plántula; LMV = longitud media de vástago; LMR = longitud media de radícula.

En la prueba de comparación de medias (Cuadro 3), se observó que la respuesta a la aplicación de NPsFe_2O_3 superó a la de MPsFeSO_4 , en las variables fisiológicas relacionadas con la germinación, mostrando diferencias significativas para el porcentaje de vigor de germinación, germinación y peso seco de plántula, con valores de 47 %, 94 % y 0.082 mg/plántula respectivamente, excediendo los valores presentados por las mismas variables donde se aplicó MPsFeSO_4 en 9 %, 4 % y 0.026 mg/plántula, correspondientemente. En la variable longitud media de vástago, el resultado fue inverso, ya que las plántulas donde se trató a las semillas con MPsFeSO_4 durante la imbibición presentó 2.057 cm, en comparación con el tratamiento con NPsFe_2O_3 que mostró 2.002 cm, indicando probablemente mayor elongación celular, ya que el hierro es esencial en el crecimiento celular, sin incrementarse significativamente el peso seco de plántula. Es importante mencionar que la germinación está fuertemente condicionada por la absorción de agua y oxígeno a través de la testa, lo que activa el inicio de la germinación (Leubner, 2003). En este sentido, Khodakovskaya *et al.* (2009) reportó mejorías en la germinación de semillas de tomate con tratamientos de nanotubos de carbón, penetrando en la capa gruesa de estas y apoyando la captación de agua. En el caso del hierro, es un elemento esencial, ya que interviene en el transporte del oxígeno, de los electrones, y en la catálisis de las reacciones necesarias para el desarrollo, la diferenciación y la proliferación celular (Pérez, 2005), procesos importantes en el metabolismo de la germinación.

En el mismo sentido, Janmohammadi y Sabaghnia (2015) indican que la aplicación de las NPs puede mejorar la germinación y el vigor de germinación de las semillas notablemente, cuando son adheridas como pretratamiento, estando en función del tipo de cultivo al cual se aplique, el tipo y el tamaño de las NPs.

Cuadro 3. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de chile poblano imbibidas en suspensiones de NPsFe₂O₃ y de MPsFeSO₄.

FV	Vigor de germinación (%)		Germinación (%)		PS (mg/plántula)		LMV (cm)		LMR (cm)	
Tipo Partícula										
NPS	47	a	94	a	0.082	a	2.002	b	8.077	a
MPs	38	b	90	b	0.056	b	2.057	a	8.034	a
Media	42		92		0.069		2.029		8.055	
Tukey ($\alpha=0.05$)	6.40		2.917		0.004		0.046		0.203	
Concentración										
0 ppm	41	a	94	a	0.069	a	1.765	c	7.890	bc
100 ppm	44	a	92	a	0.064	a	2.213	a	8.643	a
200 ppm	38	a	89	a	0.062	a	2.142	ab	8.250	ab
500 ppm	34	a	94	a	0.068	a	2.113	ab	7.489	c
2000 ppm	50	a	92	a	0.071	a	2.013	b	8.327	ab
4000 ppm	40	a	92	a	0.075	a	2.079	ab	7.628	c
6000 ppm	52	a	91	a	0.075	a	2.160	a	8.367	ab
Media	43		92		0.069		2.069		8.084	
Tukey ($\alpha=0.05$)	18.7 9		8.56		0.014		0.135		0.591	

Valores con la misma literal en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$); FV= Fuente de variación; Vigor = plántulas normales al primer conteo; Germinación = plántulas normales al segundo conteo; PS = peso seco de plántula; LMV = longitud media de vástago; LMR = longitud media de radícula.

Respecto a la comparación de medias por concentración (Cuadro 2), en la variable longitud media de vástago (LMV), se observó en el testigo el valor más bajo con 1.765 cm, indicando que al menos uno de los tratamientos aplicados tuvo un efecto distinto, siendo el tratamiento con 100 ppm el que obtuvo el valor más alto con 2.213 cm, esto es un incremento de 80 %.

En lo correspondiente a la variable longitud media de radícula (LMR), el testigo presentó 7.890 cm, estando por debajo la concentración de 100 ppm que obtuvo 8.643 cm, mostrando diferencias significativas. Al incrementar la concentración, se redujo el crecimiento de la radícula, con respecto al tratamiento de 100 ppm. Esto indica que pudiera existir toxicidad, al inhibir el crecimiento del sistema radicular.

Zhu *et al.* (2008) mencionan que las plantas de calabaza (*Cucurbita maxima*), cultivadas en un medio acuoso con NPs de magnetita (NPsFe₃O₄), pueden absorber, translocar y acumular las NPsFe₃O₄ en tejidos vegetales, además realizaron una evaluación sobre el efecto de las NPsFe₃O₄ recubiertas con hidróxido de tetrametilamonio en el crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays*), encontrando que en bajas concentraciones de ferro-fluido acuoso estimulaban el crecimiento de la planta mientras que altas concentraciones inducían efectos inhibidores o tóxicos.

Por su parte, El-Temsah y Joner (2010) observaron efectos inhibidores en suspensiones acuosas de NPs de hierro zero-valente (NPsFeZV) a 250 ppm y 10 ppm para Ag. La inhibición completa de la germinación la observaron a 1000-2000 ppm de NPsFeZV, indicando que las partículas utilizadas en bajas concentraciones se pueden utilizar sin efectos perjudiciales en las plantas.

En un trabajo con otro tipo de NPs, realizado por Siddiqui y Al-whaibi (2013), reportaron que al utilizar NPs de óxido de silicio (NPsSiO₂) a una concentración de 8 ppm, se incrementó el porcentaje de germinación en 22.16 %, el índice de vigor en 507.82 % y el tiempo de germinación se redujo en 3.98 %, además de tener un aumento de 117% en peso seco respecto al control en semillas de tomate.

Por su parte Zheng *et al.* (2005), mencionan que el peso seco de plántulas de espinaca tratadas con NPs de óxido de titanio (NPsTiO₂), se incrementó en un 76% a una concentración de 2.5 ppm, respecto al control, demostrando que con NPsTiO₂ se ayuda a la absorción de agua, acelerando la germinación, concluyendo así, que a una concentración adecuada podría promover la germinación, además del peso seco.

López *et al.* (2016) reportaron que el porcentaje de germinación se redujo un 30% en semillas de tomate tratadas con NPs de óxido de cerio (NPsCeO₂) en altas concentraciones (2000 ppm), al igual que Begum *et al.* (2011) reportaron un retraso en la germinación de semillas de tomate, repollo y espinaca roja al utilizar NPs de grafeno en concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm, esto debido a la acumulación de NPs, causando toxicidad dentro de las semillas, impidiendo su crecimiento y activación de enzimas.

Por otra parte (Ghafari y Razmjoo, 2013), reportaron aumentos en el índice de cosecha, el peso de 1000 gránulos y el contenido de clorofila a medida que aumentó la tasa de sulfato de hierro y quelato de hierro, pero estos parámetros disminuyeron en la tasa más alta de NPsFeO₂.

Feizi *et al.* (2012) determinaron que la longitud de los brotes, la longitud de las plántulas y de las raíces secas se vieron afectadas de forma significativa ($P \leq 0.05$) por las concentraciones de TiO₂ a granel y a nanoescala, pero no se tuvo ningún efecto significativo en la variable de longitud de raíz. El empleo de NPsTiO₂ en una concentración adecuada podría promover la germinación de la semilla del trigo en comparación con el TiO₂ a granel, caso contrario en altas concentraciones, teniendo un efecto inhibitorio sobre el cultivo de trigo.

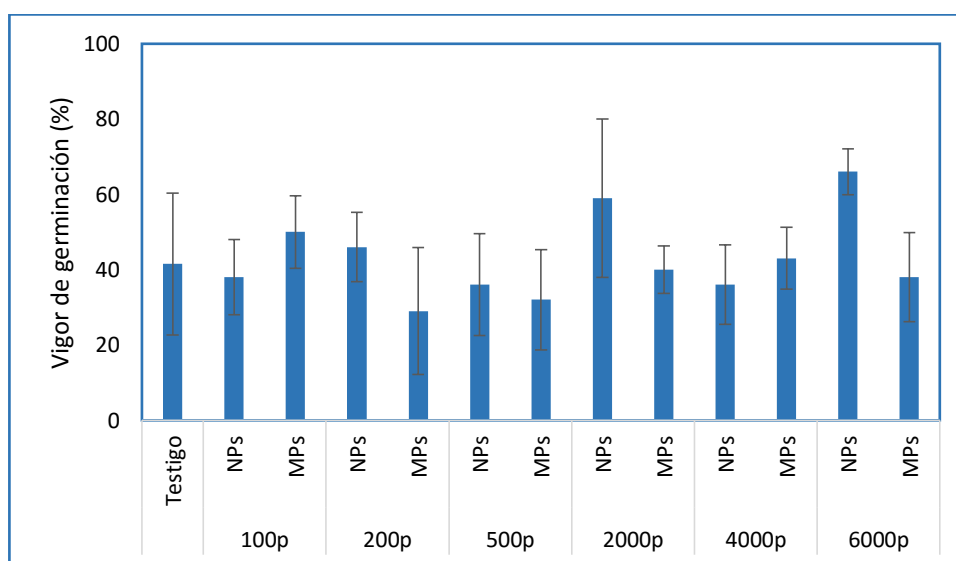
Lo anterior coincide con López *et al.* (2016), quienes mencionan que cuando la concentración de NPs aumenta, hay un ligero aumento en el crecimiento de las raíces en semillas de tomate; del mismo modo reportaron que al utilizar el tratamiento de 1000 ppm de NPs de ferrita de cobalto (NPsCoFe₂O₄), las raíces tuvieron un aumento de 1.6 cm en comparación con el control. Wang *et al.* (2010) encontraron que el efecto de las NPsFe₃O₄ sobre el crecimiento

radicular de las plantas podría atribuirse a la liberación parcial de estas, ya que es un micronutriente necesario para el desarrollo de las plantas.

En lo que respecta a la interacción Tipo de partícula x Concentración se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para las variables vigor de germinación y germinación.

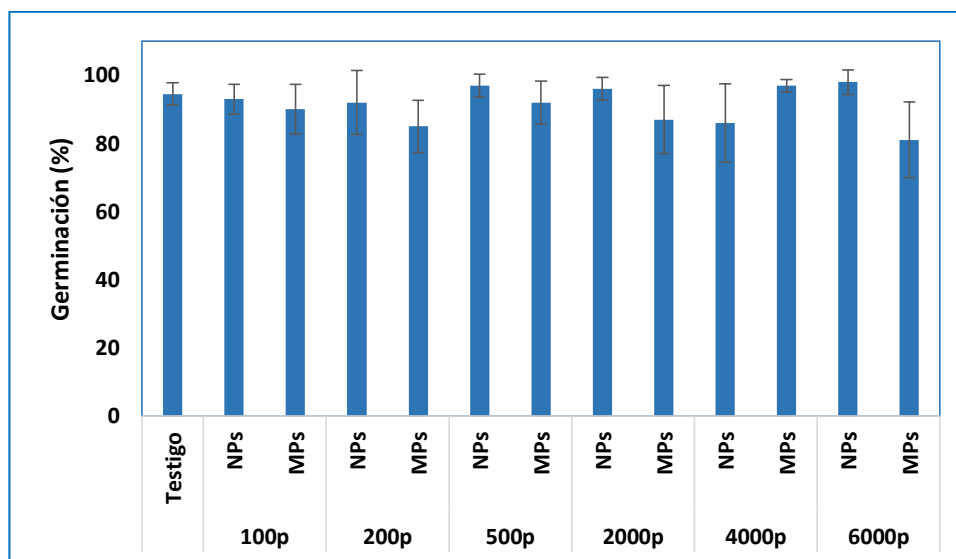
En la Figura 2, se obtuvo una variación más amplia en los porcentajes de vigor de germinación, con una diferencia de 24 unidades, entre el tratamiento con 6000 ppm de NPsFe_3O_4 y el testigo. La diferencia se puede atribuir al efecto de las NPsFe_3O_4 en el metabolismo del proceso germinativo.

Figura 2. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la variable vigor de germinación.



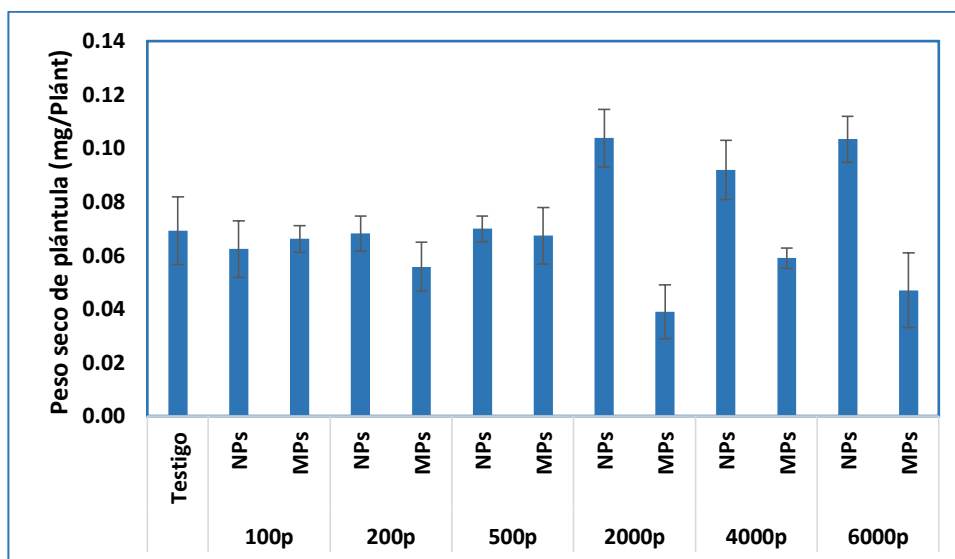
En la Figura 3 se observa una ligera variación en los porcentajes de germinación, obteniendo un valor de 98 % con el tratamiento 6000 ppm de NPsFe_3O_4 , teniendo una diferencia de 3.5 unidades respecto al testigo, lo cual indica que los tratamientos aplicados tuvieron un efecto positivo en las semillas de chile poblano.

Figura 3. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la variable porcentaje de germinación.



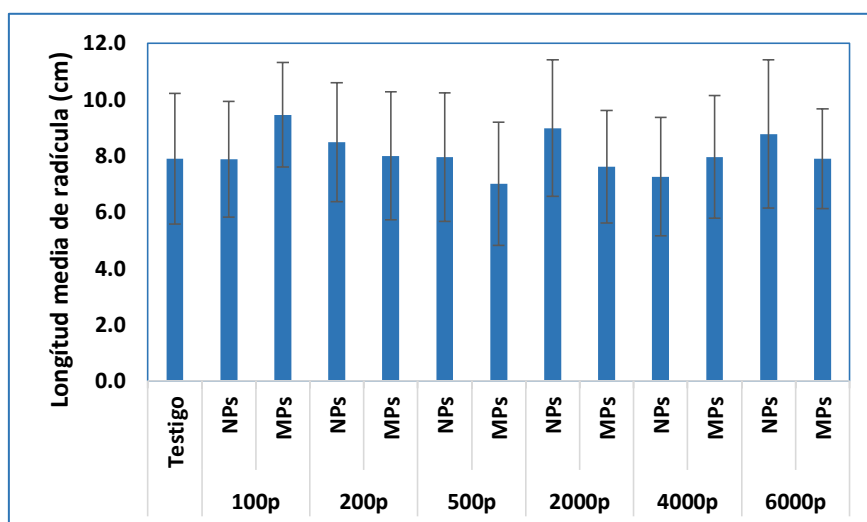
También se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las interacciones entre el tipo de partícula y la concentración para las variables peso seco de plántula, longitud media de vástago y longitud media de radícula. En la Figura 4 se observa mejor respuesta del peso seco de plántula con los tratamientos aplicados a semillas durante la imbibición con NPsFe_3O_4 , a altas concentraciones (2000, 4000 y 6000 ppm), obteniendo valores superiores. Lo anterior indica que el Fe_3O_4 mejora la acumulación de materia seca, posiblemente a través de la asimilación de CO_2 .

Figura 4. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la variable peso seco de plántula.



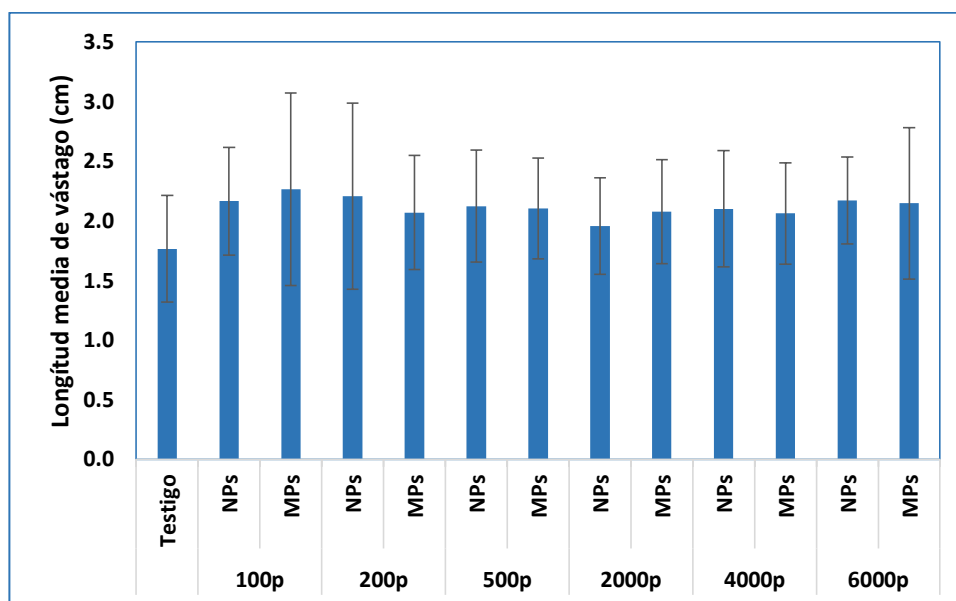
La Figura 5 muestra resultados de la variable longitud media de radícula, como respuesta a la aplicación de diferentes dosis de NPsFe_3O_4 , en donde se obtuvo una variación entre tratamientos, destacando la aplicación de 100 ppm con una mayor elongación de radícula, seguido de 2000 ppm y por último 6000 ppm.

Figura 5. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la variable longitud media de radícula.



En la Figura 6 se observa el comportamiento de la variable longitud media de vástago, donde la aplicación de 100 ppm de MP_sFeSO₄ superó el resto de los tratamientos, incluyendo al testigo.

Figura 6. Efecto del tipo de partícula y la concentración en la longitud media de vástago.



Estudio II. Aplicación de nanopartículas de óxido de hierro y micropartículas de sulfato de hierro, en altas y bajas concentraciones, para el desarrollo de la planta en casa sombra.

En el Cuadro 4 se muestran los cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el ensayo establecido en casa sombra con diferentes niveles de NPsFe_2O_3 y MPsFeSO_4 , aplicadas durante el desarrollo del cultivo de chile poblano.

En la fuente de variación “fecha de medición” se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en todas las variables evaluadas, lo cual se considera normal, ya que conforme fueron avanzando las etapas fenológicas del cultivo, este se fue desarrollando ocurriendo cambios en él. En la fuente de variación tipo de partícula, no se presentaron diferencias significativas, lo cual indica que las aplicaciones de NPsFe_2O_3 y MPsFeSO_4 , no causaron efecto en el desarrollo del cultivo.

En lo que respecta a la fuente de variación concentración, se presentaron diferencias altamente significativas en las variables diámetro de tallo (DT), índice de clorofila (IC), número de hojas y número de frutos, influyendo de manera directa la concentración en el crecimiento del cultivo de chile poblano. Por último, en la interacción de Tipo de partícula x Concentración no se presentaron diferencias significativas en las variables evaluadas.

Li *et al.* (2015) encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) en sus experimentos realizados con semillas de colza, aplicando NPsTiO_2 en variables como altura de planta, longitud de la raíz principal y biomasa fresca. Por su parte, Prasad *et al.* (2012) realizaron experimentos con NPsZnO , mostrando diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el crecimiento de tallo y raíz además de un mayor contenido de clorofila foliar y una floración temprana.

Cuadro 4. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el ensayo de invernadero en plantas de *Capsicum annuum*.

FV	GL	AP (cm)	DT (mm)	IC (SPAD)	Número de Hojas	Número de Flores	Número de Frutos
Medición	4	5039.43**	160.79**	26403.86**	89649.80**	5039.43**	26403.86**
Partícula	1	19.97 ^{NS}	0.104 ^{NS}	5.365 ^{NS}	124.10 ^{NS}	19.97 ^{NS}	5.36 ^{NS}
Concentración	6	39.04*	16.159**	534.28**	664.20**	39.04*	534.28**
Part/Conc	6	13.45 ^{NS}	0.454 ^{NS}	4.331 ^{NS}	100.92 ^{NS}	13.45 ^{NS}	4.33 ^{NS}
Error	430	10.091	0.254	15.73	91.98	10.09	15.73
CV		11.37	12.17	7.23	22.40	11.37	7.23

** = Diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$), * = Diferencias significativas ($P \leq 0.05$), ^{NS} = No diferencias significativas, FV = Fuentes de Variación, GL= Grados de libertad, AP = Altura de Planta, DT = Diámetro de Tallo, IC= Índice de clorofila, CV= Coeficiente de variación.

En el Cuadro 5 se muestra la comparación de medias para el ensayo de casa sombra con diferentes niveles de NPsFe_2O_3 y MPsFeSO_4 , en el desarrollo del cultivo de chile poblano, en el cual se observa que no hubo diferencias estadísticas entre la aplicación de las NPsFe_2O_3 y las MPsFeSO_4 en las variables evaluadas. Sin embargo, se observaron diferencias numéricas en todas las variables, siendo en las plantas donde se aplicaron MPsFeSO_4 donde se observaron los valores más altos, en las variables altura de planta, diámetro de tallo, índice de clorofila, número de hojas, número de flores y número de frutos.

En el Cuadro 5 se presenta la comparación de medias por concentración de partículas, se observó que a una concentración de 20 ppm se presentó la mayor altura de planta (AP) con 29.91 cm, y con 2000 ppm la menor altura con 26.68 cm. En lo que respecta a la variable de diámetro de tallo (DT) se tienen tres grupos estadísticos, los cuales se pueden dividir en bajas concentraciones (5, 10, 20 ppm), como los mejores tratamientos, seguido del testigo (0 ppm) y por último altas concentraciones (1000, 1500 y 2000 ppm), con los valores más bajos para esta variable. Para el índice de clorofila (IC) las mejores concentraciones son de 10 y 20 ppm con valores de 58.95 y 58.02 unidades respectivamente, en contraste con las altas concentraciones 1000, 2000 y 1500 ppm se presentaron valores de 50.81, 50.20 y 49.72, respectivamente. Lo anterior indica que al incrementar la concentración de las partículas, se tuvo un efecto de fitotoxicidad. En la variable número de hojas, las bajas concentraciones presentaron los mayores valores con 47.51 en 20 ppm, 47.22 en 5 ppm, y 44.92 en 10 ppm, caso contrario a la concentración de 2000 ppm con 33.94, manifestando igualmente efecto por toxicidad.

Lo anterior indica que a bajas concentraciones (5, 10 y 20 ppm), existe un mejor comportamiento de la planta, con mayor altura, diámetro de tallo, índice de clorofila y número de hojas, comparado con el testigo y las altas concentraciones (1000, 1500 y 2000 ppm), habiendo promoción del crecimiento, por otra parte se observó inhibición del mismo en las altas concentraciones. Esto puede atribuirse a la acumulación y disposición de las NPsFe_3O_4 en las

hojas, debido a la aplicación foliar que se realizó durante el desarrollo del cultivo. Sin embargo, información sobre el modo de acción de las NPsFe_3O_4 sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, es todavía demasiado escaso.

Respecto a la fuente de variación “fecha de medición”, encontramos diferentes grupos estadísticos, que como ya habíamos mencionado, el cultivo se fue desarrollado y avanzando en la diferentes etapas fenológicas, mostrando cambios en el cultivo y por consecuencia en los resultados obtenidos.

López *et al.* (2016) estudiaron la tolerancia de las plantas de *Solanum lycopersicum* con la aplicación de $\text{NPsCoFe}_2\text{O}_4$, reportando un ligero aumento en el crecimiento de la planta, al presentarse diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en las raíces de la planta en comparación con el control.

Lee *et al.* (2010) mencionan que cuando la concentración de $\text{NPsCoFe}_2\text{O}_4$ en plantas de tomate aumenta, hay un ligero incremento en el crecimiento de las raíces hasta cierta concentración de NPs. Además, el tratamiento de 1000 ppm de $\text{NPsCoFe}_2\text{O}_4$ resultó en un aumento significativo de raíces de tomate (6.9 ± 0.3 cm), en comparación con las raíces de plantas del control (5.3 ± 0.2 cm). También reportaron que el contenido de clorofila en las hojas de tomate no mostró ninguna diferencia significativa en todos los tratamientos.

Estos resultados concuerdan con Li *et al.* (2015), quienes mencionan que en sus experimentos realizados con NPsTiO_2 , observaron un mayor crecimiento de plántulas de colza, principalmente la altura de planta, longitud de la raíz principal y biomasa fresca en concentraciones de 4000 ppm. En el rendimiento, no hubo un cambio estadístico significativo para el número de semillas por vaina, sin embargo, se mejoró el peso de 1000 semillas, el rendimiento de semilla por planta y el número de semillas por vaina, aumentando la dosis de NPs, especialmente a una dosis de 4000 ppm.

Por su parte, Ghafari y Razmjoo (2013) mencionan que al aplicar NPsFe_2O_3 de manera foliar sobre el cultivo de trigo, a una concentración de 2 ppm, se mejoró la actividad de las enzimas antioxidantes, el contenido de clorofila, el rendimiento, los componentes del rendimiento y la calidad del grano de trigo en comparación con el testigo, FeSO_4 y fertilización de Fe común.

Además, Rao y Shekhawat (2014) indican que cuando la concentración de NPsZnO, en plantas de *Brassica jucea*, se incrementó en el medio después de 96 h, las longitudes de los brotes y las raíces disminuyeron, excepto a 200 ppm, lo que podría deberse a la dosis muy baja y tolerabilidad de las especies de plantas, también observaron que, a medida que aumentaba la concentración de NPs en el medio, se producía una disminución estadísticamente significativa del peso fresco y seco. Además de que a medida que aumentaba la concentración de partículas, había una clorosis foliar en las plantas tratadas con NPs en comparación con el control.

Shah y Belozerova (2009) reportaron un aumento en la proporción de brotes y raíces comparado con el control, además de analizar la influencia de las NPs metálicas en la germinación de las semillas de lechuga.

Prasad *et al.* (2012) lograron revelar el efecto promotor de las NPsZnO en concentraciones óptimas y el efecto inhibitorio a altas concentraciones sobre el crecimiento de raíces, brotes y el rendimiento de la vaina en plantas de maní. Las NPsZnO a una concentración de 1000 ppm demostraron ser eficaces para mejorar el volumen de la raíz y el peso seco de la raíz. Debido a sus efectos promotores sobre el crecimiento de las plantas, los rendimientos de las vainas aumentaron significativamente con respecto al control. A una mayor concentración de NPsZnO (2000 ppm), tanto el crecimiento de la planta como el rendimiento de la vaina disminuyeron, concordando con los resultados de Lin y Xing (2007) en sus experimentos sobre rábano, colza, maíz, lechuga y pepino.

Disfani *et al.* (2016) mencionan que la aplicación de 15 ppm de NPs Fe/SiO₂ aumentó la longitud del tallo: 8.25% y 20.8% para la cebada y el maíz, respectivamente. Sin embargo, la concentración de 25 ppm tuvo un impacto negativo en la longitud del brote en la cebada.

Por su parte Bozorgi (2012), encontró que al utilizar fertilizantes con aplicación foliar de quelato de NPsFe, en concentraciones de 2 ppm, mostraron un rendimiento del fruto más alto con un valor de 38.03 t/ha, 4.7 frutos por planta, una altura de planta de 112.3 cm y número de ramas por planta de 3.05, en el cultivo de la berenjena.

Nair y Chung (2015) mencionan sobre el efecto de las NPsCuO en la mostaza India (*B. juncea*), observando una disminución significativa en el contenido de clorofila en plantas expuestas a NPsCuO, sugieren que la alta concentración de NPsCuO puede inducir cambios estructurales en las membranas de cloroplasto por la acción de las especies ROS.

Por su parte Rao y Shekhawat (2014), también reportaron una disminución en el contenido de clorofila en *B. juncea* expuesta a NPsZnO, esto puede deberse a la disminución de tilacoides y grana en los cloroplastos; sin embargo, Trujillo *et al.* (2014) observaron que 10 ppm de NPsFe/Fe₃O₄ no afectaron el contenido de clorofila en plantas de *L. sativa*. Esto puede atribuirse a la baja concentración de NPsFe/Fe₃O₄ utilizadas en su estudio.

Cuadro 5. Comparación de medias de las variables evaluadas en el ensayo de invernadero, así como el número de mediciones con diferentes niveles de NPsFe_2O_3 y MPsFeO_4 en plantas de *Capsicum annuum*.

FV	AP (cm)		DT (mm)		IC (SPAD)		Número de Hojas		Número de Flores		Número de Frutos	
TP												
NPs	27.63	a	4.13	a	54.65	a	42.02	a	27.63	a	54.65	a
MPs	28.23	a	4.16	a	55.01	a	43.55	a	28.23	a	55.01	a
Tukey ($\alpha=0.05$)	0.59		0.09		0.71		1.71		0.59		0.71	
Concentraciones												
0 ppm	27.27	bc	4.14	b	55.88	b	41.13	ab	27.27	bc	55.88	b
5 ppm	28.50	ab	4.67	a	57.46	ab	47.22	a	28.50	ab	57.46	ab
10 ppm	28.13	bc	4.61	a	58.95	a	44.92	a	28.13	bc	58.95	a
20 ppm	29.91	a	4.74	a	58.02	a	47.51	a	29.91	a	58.02	a
1000 ppm	27.30	bc	3.46	c	50.81	c	39.41	bc	27.30	bc	50.81	c
1500 ppm	27.27	bc	3.59	c	49.72	c	39.20	c	27.27	bc	49.72	c
2000 ppm	26.68	c	3.43	c	50.20	c	33.94	d	26.68	c	50.20	c
Tukey ($\alpha=0.05$)	1.66		0.25		2.03		4.91		1.66		2.03	
Fecha de mediciones												
1	19.10	e	2.45	e	32.81	e	7.92	e	19.10	e	32.81	e
2	23.74	d	3.37	d	45.67	d	24.44	d	23.74	d	45.67	d
3	27.62	c	4.43	c	59.36	c	40.89	c	27.62	c	59.36	c
4	33.30	b	5.14	b	67.22	b	64.51	b	33.30	b	67.22	b
5	38.05	a	5.69	a	73.91	a	84.40	a	38.05	a	73.91	a
Tukey ($\alpha=0.05$)	1.30		0.19		1.56		3.78		1.30		1.56	

FV= Fuente de variación, TP=Tipo de partícula, AP = Altura de Planta, DT = Diámetro de Tallo, IC= Índice de clorofila.

Tasa de asimilación de CO₂

En el Cuadro 6 se presentan los cuadrados medios del análisis de varianza para las variables fisiológicas evaluadas en casa sombra con diferentes niveles de NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄, aplicadas durante el desarrollo del cultivo de chile poblano.

Se reportaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la fuente de variación tipo de partícula para las variables tasa fotosintética, conductancia estomática (Cond), Transpiración (Transp), Concentración de CO₂ intercelular (C_i), y Cond/CO₂, lo cual indica que las NPsFe₂O₃ y MPsFeSO₄ tienen un efecto en la conversión de materia inorgánica en materia orgánica, así como en la presión de vapor y el flujo de vapor sobre la superficie de la hoja ya que la conductancia estomática permite el intercambio físico activo entre las partes aéreas de la planta y la atmósfera (Sandoval *et al.*, 2010). Respecto a la fuente de variación concentración, se presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en todas las variables, excepto en la variable C_i/C_a, indicando que dependiendo de la concentración de NPsFe₂O₃ y/o MPsFeSO₄ suministradas a la planta, afecta directamente la tasa fotosintética, conductancia estomática, transpiración, Cond/CO₂, y el C_i, pudiendo estar relacionado con el elemento en cuestión (Fe), ya que este micronutriente es esencial para las plantas, debido a que acepta y dona electrones, además de realizar un papel importante en las cadenas de transporte de electrones asociadas con la fotosíntesis, respiración, fijación del nitrógeno, síntesis de clorofila, entre otras (Rout y Sahoo, 2015).

En la fuente de variación hora de determinación de la tasa de asimilación de CO₂ y parámetros asociados, se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para todas las variables evaluadas, siendo estas diferencias normales ya que conforme avanzan las horas del día, las condiciones del medio ambiente varían y las plantas van cambiando su comportamiento. Por último, en la interacción tipo de partícula x concentración, no se presentaron diferencias significativas.

Li *et al.* (2015) reportaron que los parámetros fotosintéticos (tasa fotosintética neta, conductancia estomática, concentración interna de CO₂ y tasa de

transpiración) no mostraron cambios significativos ($P \leq 0.05$) justo después de la exposición a NPsTiO_2 , en plántulas de 45 días de edad. Sin embargo, se registró un aumento significativo ($P \leq 0.05$) con el aumento de la concentración de NPsTiO_2 durante las siguientes semanas y este aumento fue gradual.

Owolade y Ogunleti (2008) informaron que el rendimiento de semilla de caupí (*Vigna unguiculata* Walp) se incrementó cuando se aplicó de manera foliar NPsTiO_2 , llegando a la conclusión de que puede deberse a la capacidad de las NPsTiO_2 de fotocatalizar, conduciendo a un aumento de la tasa fotosintética.

La variable humedad relativa (HR) mostró diferencias significativas en las fuentes de variación tipo de partícula, concentración y hora de medición, debido a que las condiciones ambientales varían a través del día.

En el Cuadro 7 se muestra la comparación de medias para las variables fisiológicas evaluadas en casa sombra con diferentes niveles de NPsFe_2O_3 y MPsFeSO_4 . Se observó que la aplicación de NPsFe_2O_3 dirigida a las hojas, mostró mejor respuesta que las MPsFeSO_4 , ya que en los procesos fotosintéticos se obtuvo mayor tasa de asimilación de CO_2 ($7.187 \mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$), armonizado también con el valor de C_i , que presentó $224.01 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol aire}^{-1}$ con respecto a la aplicación de MPsFeSO_4 , lo que indica una alta eficiencia en la fijación de CO_2 , debido principalmente a que los estomas se encontraban abiertos lo suficiente para permitir la captura de CO_2 y la enzima Rubisco activada para hacer uso del CO_2 intercelular, aprovechando 175.99 ppm de los 400 disponibles en la cámara. Por otra parte, la tasa de transpiración presentó un valor de $1.718 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$, permitiendo mantener la entrada de CO_2 a los espacios intercelulares, y por lo tanto hacerlo disponible para su fijación en el mesófilo de las hojas. En cuanto a la relación C_i/C_a , no se observaron diferencias significativas, mostrando una eficiencia similar.

Cuadro 6. Cuadrados medios del análisis de varianza de las variables fisiológicas evaluadas en casa sombra

FV	GL	FOTOSINTESIS ($\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	COND ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	TRANSP ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Cond/CO ₂	C _i ($\mu\text{mol CO}_2 \text{mol aire}^{-1}$)	Humedad relativa	C _i /C _a
TP	1	81.29**	0.037**	6.48**	0.012**	491.79 ^{NS}	149.38**	0.054 ^{NS}
Conc	6	50.70**	0.020**	8.65**	0.006**	10327.92**	271.61**	0.096 ^{NS}
Hora	7	162.18**	0.053**	2.34**	0.017**	124594.87**	224.18**	0.705**
TP*Conc	6	18.54 ^{NS}	0.008 ^{NS}	1.49 ^{NS}	0.002 ^{NS}	5670.25 ^{NS}	5.93 ^{NS}	0.063 ^{NS}
Error	30	4.91	0.002	0.47	0.001	2017.82	4.47	0.023
CV (%)		33.23	54.50	43.53	51.82	20.16	3.80	27.08

** = Diferencias altamente significativas, * = Diferencias significativas, ^{NS} = No diferencias significativas, FV: Fuentes de variación, GL: Grados de libertad, Cond: Conductancia, Transp: Transpiración, C_i: Concentración de CO₂ intercelular, C_i/C_a: CO₂ intercelular / CO₂ disponible en el ambiente.

Cuadro 7. Comparación de medias de las variables fisiológicas evaluadas en casa sombra

FV	Fotosíntesis ($\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)		Cond ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)		Transp ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)		Cond/CO₂		C_i ($\mu\text{mol CO}_2\text{mol aire}^{-1}$)		Humedad relativa		C_i/C_a	
Tipo de Partícula														
NPs	7.187	a	0.09	a	1.718	a	0.057	a	224.01	a	56.298	a	0.583	a
MPs	6.162	b	0.07	b	1.435	b	0.045	b	221.51	a	54.912	b	0.558	a
Tukey ($\alpha=0.05$)	0.483		0.01		0.149		0.005		9.82		0.460		0.033	
Concentración														
0 ppm	6.9528	bcd	0.09	ab	1.627	ab	0.055	ab	236.64	a	58.093	ab	0.640	a
5 ppm	8.4208	a	0.11	a	2.040	a	0.067	a	226.85	a	54.718	c	0.570	abc
10 ppm	7.1197	abc	0.09	ab	1.847	a	0.055	ab	227.10	a	52.802	d	0.581	abc
20 ppm	7.1558	ab	0.10	a	2.028	a	0.061	a	238.11	a	52.865	d	0.609	ab
1000 ppm	5.5187	e	0.05	c	0.962	c	0.035	c	195.85	b	58.938	a	0.497	c
1500 ppm	5.764	cde	0.06	bc	1.167	c	0.039	bc	214.17	ab	56.956	b	0.535	bc
2000 ppm	5.736	de	0.07	bc	1.341	bc	0.043	bc	221.06	ab	55.245	c	0.563	abc
Tukey ($\alpha=0.05$)	1.365		0.02		0.422		0.016		27.74		1.300		0.095	
Hora														
9 h	5.078	de	0.16	a	1.600	abc	0.097	a	327.13	a	60.819	a	0.832	a
10 h	7.484	bc	0.10	b	1.640	ab	0.061	b	248.1	b	54.373	c	0.620	b
11 h	9.822	a	0.07	bc	1.471	bc	0.045	bc	140.64	e	57.139	b	0.404	d
12 h	8.955	ab	0.08	bc	1.957	a	0.050	bc	174.89	d	54.347	c	0.451	cd
14 h	7.378	c	0.07	bc	1.777	ab	0.044	bc	194.11	cd	54.316	c	0.497	cd
15 h	5.728	d	0.06	c	1.594	abc	0.038	c	216.75	c	55.254	c	0.552	bc
16 h	5.403	de	0.05	c	1.412	bc	0.036	c	216.22	c	54.129	c	0.550	bc
17 h	3.994	e	0.05	c	1.168	c	0.035	c	248.03	b	54.540	c	0.628	b
Tukey ($\alpha=0.05$)	1.501		0.03		0.464		0.018		30.52		1.429		0.104	
FV: Fuentes de variación, Cond: Conductancia, Transp: Transpiración, C _i : Concentración de CO ₂ intercelular, C _i /C _a : CO ₂ intercelular / ambiente.														

En la fuente de variación concentración, se observó que al aplicar al follaje de la planta 5 ppm se obtuvo la mejor tasa de asimilación de CO₂ con 8.420 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, mostrando mayor eficiencia en la fijación del CO₂ intercelular, ya que se aprovechó 173.15 de los 400 ppm del CO₂ disponibles en la cámara.

Por el contrario, se observó que al incrementar la dosis de aplicación, progresivamente se redujo la tasa de asimilación de CO₂, a 1000 ppm se obtuvo el valor más bajo de fotosíntesis (5.518 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), sin embargo estadísticamente igual al aplicar 1500 y 2000 ppm, que presentaron valores de 5.764 y 5.736 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹. La tasa de transpiración también se redujo al incrementar la dosis de las partículas, posiblemente debido a una respuesta al exceso de Fe. El C_i igualmente se redujo, debido a la disminución en la g_s.

En la fuente de variación Hora se observaron diferentes grupos estadísticos, debido a que las condiciones del ambiente varían durante la toma de datos en campo. Se obtuvo la mejor tasa fotosintética a las 11 horas con 9.822 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹, con una conductancia de 0.074 mol H₂O m⁻² s⁻¹, una transpiración de 1.471 mol H₂O m⁻² s⁻¹ y un C_i de 140.64 μmol CO₂ mol aire⁻¹, lo que indica que los estomas se encontraban poco abiertos minimizando la salida de vapor de agua por medio de la tasa de transpiración. El valor de C_i fue el menor a las 11 h, indicando la eficiencia del mesófilo en la fijación de CO₂, ya que no hubo en ese instante limitación en la g_s. La relación C_i/C_a mostró un valor de 0.62, siendo menor al testigo en 0.212 unidades, reflejando la eficiencia de la enzima Rubisco en la fijación de CO₂. Durante la tarde se observó que al transcurrir el tiempo, se redujo la fijación de CO₂, presentando 3.994 μmol CO₂ m⁻² s⁻¹ a las 17:00, debido principalmente a la disminución en Radiación fotosintéticamente Activa (PAR).

Algunos estudios han sugerido que la aplicación de NPsSe puede aumentar la eficiencia del uso del agua y la tasa de fotosíntesis en las plantas (Haghighi *et al.*, 2014; Janmohammadi y Sabaghnia, 2015; Ma, 2013).

Nekrasova *et al.* (2011) mencionan que la aplicación de NPs a bajas concentraciones de cobre, estimulan la fotosíntesis aumentando su tasa de 130 a 140 % respecto al control. También observaron un efecto inhibitor

significativo a concentraciones de 1 y 5 ppm, atribuyéndose directamente al estrés oxidativo (Burzynski *et al.* 2004) o a la inactivación de Ribulosa bifosfato (RuBP) carboxilasa, una enzima clave en la fijación fotosintética de CO₂, debido a la interacción del cobre con los grupos SH. En la variante con iones de cobre, el contenido de clorofilas A y B aumentó al 120 % del nivel de control a bajas concentraciones de cobre y disminuyó de 32 a 71 % en concentraciones más altas. Los iones de cobre inhibieron más la fotosíntesis que las NPsCuO.

Por otra parte, Pereira *et al.* (2013) encontraron que la reducción en la fotosíntesis del arroz puede atribuirse a limitaciones estomáticas a dosis moderadas de Fe²⁺ (4 mM) y limitaciones tanto estomáticas como no estomáticas a dosis más altas. Mencionan que la disminución repentina de la fotosíntesis neta hasta la dosis de 4 mM puede atribuirse a la limitación de los estomas, evaluada por los valores más bajos de conductancia estomática y la relación C_i/C_a a esta dosis.

Resultados similares fueron encontrados por Dufey *et al.* (2009), quien consideró que el cierre estomático, es una respuesta tardía al aumento de la absorción de Fe, un síntoma de estrés por toxicidad del mismo elemento en lugar de un mecanismo de resistencia.

Zhao *et al.* (2015) encontraron que las NPsCeO₂ no afecta la fotosíntesis neta, la tasa de transpiración, la conductancia estomática y el contenido relativo de clorofila de las hojas en plantas cultivadas hasta la madurez completa. La fotosíntesis neta de las plantas tratadas con 800 ppm de NPsCeO₂, aumento en comparación con el control al día 30.

El intercambio de gases (fotosíntesis neta, tasa de transpiración y conductancia estomática) no se vio afectado por las NPsCeO₂, incluso en altas concentraciones, por lo tanto, muy probablemente, las NPs CeO₂, no afectaron el intercambio de gases foliares (Zhao *et al.*, 2013).

CONCLUSIONES

La nanotecnología puede desempeñar un papel importante en la mejora de las técnicas de producción del chile poblano. Las NPsFe_3O_4 tienen una potencialidad para mejorar vigor de germinación, porcentaje de germinación y el crecimiento de las plántulas de chile poblano.

La aplicación de NPsFe_2O_3 mejoró significativamente el porcentaje de vigor de germinación y de germinación de las semillas de chile poblano, con respecto a las MPsFeSO_4 . Un aumento en vigor de germinación mediante la aplicación de NPsFe_2O_3 puede ser efectivo para el crecimiento y el rendimiento de los cultivos hortícolas.

Los resultados mostraron que las diferentes dosis de NPsFe_2O_3 tuvieron un efecto significativo en el desarrollo de la plántula, obteniendo mayor desarrollo a 100 ppm.

En la interacción tipo de partícula y concentración, se observó que imbibir semilla en suspensiones a 2000 ppm de NPsFe_2O_3 , se obtiene mayor vigor de germinación y peso seco de plántula.

En el estudio de invernadero, a bajas concentraciones (5, 10 y 20 ppm), se observó mejor comportamiento de la planta, con mayor altura, diámetro de tallo, índice de clorofila y número de hojas, comparado con el testigo y las altas concentraciones (1000, 1500 y 2000 ppm), habiendo promoción del crecimiento en bajas concentraciones y una ligera inhibición del mismo en altas concentraciones. Las NPsFe_2O_3 y MPsFeSO_4 tienen un efecto en la conversión de materia inorgánica en materia orgánica, así como en la presión de vapor y el flujo de vapor sobre la superficie de la hoja.

Dependiendo de la concentración de NPsFe_2O_3 y/o MPsFeSO_4 suministradas a la planta, afecta directamente la tasa fotosintética, conductancia estomática, transpiración, Cond/CO_2 , y el Ci , pudiendo estar relacionado con el elemento en cuestión (Fe).

El presente experimento, invita a la comunidad científica a seguir con las investigaciones en otros cultivos para utilizar las NPs como fertilizantes y mejorar de alguna manera el proceso de germinación.

REFERENCIAS

- Abdzad, A., and S. A. Noorhosseini. 2010. Effects of iron and nitrogen fertilizers on yield and yield components of peanut (*Arachis hypogaea* L.) in Astaneh Ashrafiyeh, Iran. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*. Vol. 9 (3), pp. 256-262.
- Arton, L. L. and Hemming, B. C. 1993. Iron chelation in plants and soil microorganisms. Academic Press Inc. San Diego CA. pp. 331-332.
- Begum, P., R. Ikhtiari and B. Fugetsu. 2011. Graphene phytotoxicity in the seedling stage of cabbage, tomato, red spinach, and lettuce. *Journal Carbon*. Vol. 49, pp. 3907-3919. doi:10.1016/j.carbon.2011.05.029.
- Bienfait, H. F. 1984. Regulated redox processes at the plasmalemma of plant root cells and their function in iron uptake. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. Vol. 17 (2), pp. 73-83.
- Bozorgi, H. R. 2012. Effects of foliar spraying with marine plant *Ascophyllum nodosum* extract and nano iron chelate fertilizer on fruit yield and several attributes of eggplant (*Solanum melongena* L.). *ARPJ Journal of Agricultural and Biological Science*. Vol. 7 (5) pp. 359-362.
- Burzynski, M. and G. Ktobus. 2004. Changes of Photosynthetic Parameters in Cucumber Leaves under Cu, Cd, and Pb Stress. *Photosynthetica Journal*. Vol. 42 pp. 505–510.
- Brittenham, G. M. 1994. New advances in iron metabolism, iron deficiency and iron overload. *Current opinion in hematology*. Vol. 1, pp. 549-556.
- Byrappa, K., S. Ohara and T. Adschiri. 2008. Nanoparticles synthesis using supercritical fluid technology e towards biomedical applications. *Journal Advanced Drug Delivery Reviews*. Vol. 60, pp. 299-327. doi:10.1016/j.addr.2007.09.001.
- Cañas, J. E., M. Long, S. Nations, R. Vadan, L. Dai, M. Luo, R. Ambikapathi, E. H. Lee and D. Olszyk. 2008. Effects of functionalized and non-functionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. *Journal Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 27 (9), pp. 1922-1931.
- Caseiro, R., M.A. Bennett and J. Marcos-Filho. 2004. Comparison of three priming techniques for onion seed lots differing in initial seed quality. *Seed Science and Technology*. Vol 32, pp.365-375.

- Castiglione, R. and R. Cremonini. 2009. Nanoparticles and higher plants. *Journal Caryologia*. Vol. 62 (2), pp. 161-165. doi.org/10.1080/00087114.2004.10589681.
- Chen, Y. and P. Barak. 1982. Iron nutrition of plants in calcareous soils. *Journal Advances in Agronomy*. Vol. 35, pp. 217-240.
- Cruz, E., A. Can, R. Bugarín, J. Pineda, R. Flores, P. Juárez y G. Alejo. 2014. Concentración nutrimental foliar y crecimiento de chile serrano en función de la solución nutritiva y el sustrato. *Revista Fitotecnia Mexicana*. Vol. 37 (3), pp. 289-295.
- Dell'Aquila, A. 2004. Cabbage, lentil, pepper and tomato seed germination monitored by an image analysis system. *Seed Science and Technology*. Vol. 32, pp. 225-229.
- Di Salvatore, M., A. M. Carafa and G. Carratù. 2008. Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: A comparison of two growth substrates. *Journal Chemosphere*. Vol. 73, pp. 1461-1464. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.07.061.
- Disfani, M. N., A. Mikhak, M. Z. Kassaei and A. Maghari. 2016. Effects of nano Fe/SiO₂ fertilizers on germination and growth of barley and maize. *Archives of Agronomy and Soil Science*. Vol. 63(6), pp. 817-826. doi:10.1080/03650340.2016.1239016
- Dufey, I., P. Hakizimana, X. Draye, S. Lutts and P. Bertin. 2009. QTL mapping for biomass and physiological parameters linked to resistance mechanisms to ferrous iron toxicity in rice. *Euphytica Journal*. Vol. 167 pp.143–160.
- Duncan, T. V. 2011. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*. Vol. (363), pp. 1-24. doi:10.1016/j.jcis.2011.07.017.
- El-Temsah, Y. and Joner, E. 2010. Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil. *Environmental Toxicology*. Vol. 27 pp. 42-49. DOI 10.1002/tox.
- Gris, E. 1884. Nouvelles experiences sur l'action de composés ferrugineux solubles appliqués à la végétation et spécialement en traitement de la chlorose et de la débilité des plantes. [Comptes rendus de l'académie des sciences](#). Paris. Vol. 19, pp. 1118-1119.

- FAO. 2014. Datos estadísticos sobre producción mundial de alimentos. www.faostat.fao.org Fecha de consulta Marzo de 2017
- Feizi, H., P. R. Moghaddam, N. Shahtahmassebi and A. Fotovat. 2011. Impact of bulk and nanosized titanium dioxide (TiO₂) on wheat seed germination and seedling growth. *Biological Trace Element Research*. Vol. 146, pp. 101-106. doi:10.107/s12011-011-9222-7.
- Ferguson, J. 1995. An introduction to seed vigour testing. In: SEED VIGOUR TESTING SEMINAR, 1995, Copenhagen. [Proceedings] Zurich: International Seed Testing Association, p. 1-9.
- Francois, J., C. Duc, K. Ravet, and F. Gaymard. 2010. Ferritins and iron storage in plants. *Journal Biochimica et Biophysica acta*. Vol. 1800 (8), pp. 806–814. doi:10.1016/j.bbagen.2009.12.003.
- Hochmuth, G. 2011. Iron (Fe) nutrition of plants. The Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida. 7 P.
- Ghafari, H. and J. Razmjoo. 2013. Effect of foliar application of nano-iron oxidase, iron chelate and iron sulphate rates on yield and quality of wheat. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. Vol. 4 (11), pp. 2997-3003.
- Grillet, L., S. Mari and W. Schmidt. 2014. Iron in seeds-loading path ways and subcelular localization. *Journal Frontiers in Plant Science*. Vol. 4, (535). 8p. doi: 10.3389/fpls.2013.00535.
- Grusak, M. A., R. M. Welch and L. V. Kochian. 1990. Does iron deficiency in *Pisum sativum* enhance the activity of the root plasmalemma iron transport protein?. *Journal Plant Physiology*. Vol. 94, pp. 1353-1357.
- Haghighi, M., R. Abolghasemi and J. A. Teixeira. 2014. Low and High temperature stress affect the growth characteristics af tomato in hydroponic culture with Se and nano-Se amendment. *Scientia Horticulturae*. Vol. 178 pp. 231-240. doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.006.
- Hasset, R., A. M. Romeo and D. J. Kosman. 1998. Regulation of high affinity iron uptake in the yeast *saccharomyces cerevisiae*, role of dioxygen and Fe (II). *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 273 (13), pp. 7628-7636.
- Hong, J., J. R. Peralta, and J. L. Gardea. 2013. Nanomaterials in agricultural production: benefits and possible threats? *American Chemical Society Journals*. Cap. 5, pp. 73-90. doi: 10.1021/bk-2013-1124.ch005.

- Howeler, R. H. 1973. Iron induced orange disease of rice in relation to physico-chemical changes in a flooded soil. Soil Science Society American Proceedings. Vol. 37, pp. 898-903.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2004. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, CH-Switzerland.
- Jahangir, M., F. Sultana and M. Toufiq. 2015. Potential of iron nanoparticles to increase germination and growth of wheat seedling. Journal of Nanoscience with Advanced Technology. Vol. 1 (3), pp. 14-20. doi.org/10.24218/jnat.2015.12.
- Janmohammadi, M., and Sabaghnia, N. 2015. Effect of pre-sowing seed treatments with silicon nanoparticles on germinability of sunflower (*helianthus annuus*). Botanica Lithuanica. Vol. 21 (1) pp. 13-21. DOI: 10.1515/botlit-2015-0002.
- Javadimoghadam, A., A. L. Moghadam, and E. Danaee. 2015. Response of growth and yield of cucumber plants (*Cucumis sativus* L.), to different foliar application of nano-iron and zinc. International Research Journal of Applied and Basic Sciences. Vol. 9 (9), pp. 1477-1478.
- Khodakovskaya, M., E. Dervishi, M. Mahmood, Y. Xu, Z. Li, F. Watanabe and A. S. Biris. 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. ACS Nano. Vol. 3 (10), pp. 3221-3227.
- Khot, L. R., S. Sankaran, J. M. Maja, R. Ehsani, and E. W. Schuster. 2012. Applications of nano-materials in agricultural production and crop protection: A review. Crop Protection. Vol. 35, pp. 64-70. doi:10.1016/j.cropro.2012.01.007.
- Landsberg, E. C. 1986. Function of rhizodermal transfer cells in the Fe stress response mechanism of *Capsicum annuum* L. Journal Plant Physiology. Vol. 82, pp. 511-517.
- Lee, C. W., S. Mahendra, K. Zodrow, D. Li, Y. C. Tsai, J. Braam and P. J. J. Alvarez. 2010. Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana*. Environmental Toxicology and Chemistry. Vol. 29 (3), pp. 669- 675. doi: 10.1002/etc.58.
- Leubner, G. 2003. Functions and regulation of β -1, 3-glucanases during seed germination, dormancy release and after-ripening. Seed Science Research. Vol. 13 pp. 17-34. DOI: 10.1079/SSR2002121.
- Li, J., M. Shahbaz, X. Wang, L. Liu, C. Chen, N. Ma and C. Zhang. 2015. Nano-TiO₂ is not phytotoxic as revealed by the oilseed rape growth and

- photosynthetic apparatus ultra-structural response. *Journal Plos One*. Vol. 10 (12), 12p. doi:10.1371/journal.pone.0143885.
- Limbach L. K., P. Wick, P. Manser, R. N. Grass y A. Bruinink. 2007. Exposure of engineered nanoparticles to human lung epithelial cells: influence of chemical composition and catalytic activity on oxidative stress. *Environ Science Technology*. Vol. 41, pp. 4158-4163.
- Lin, D. y B. Xing. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Journal Environmental Pollution*. Vol. 150, pp. 243-250. doi:10.1016/j.envpol.2007.01.016.
- Lira H., M. Hernández y J. Carrales. 2014. Nanotecnología en agricultura sustentable. Fundación Produce, Coahuila, A.C. 44 p.
- Liscano, J. F., C. E. Wilson, R. J. Norman and N. A. Slaton. 2000. Zinc availability to rice from seven granular fertilizers. *AAES Research Bulletin*. Vol. 963, 31 p.
- López, M. L., L. Lugo, N. Guzmán, B. Álamo, O. Perales, Y. Cedeno and F. Román. 2016. Effect of cobalt ferrite (CoFe₂O₄) nanoparticles on the growth and development of *Lycopersicon lycopersicum* (tomato plants). *Science of the Total Environmental*. Vol. 550, pp. 45- 52. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.063
- Ma, Y., L. Kuang, X. He, W. Bai, Y. Ding, Z. Zhang, Y. Zhao and Z. Chai. 2010. Effects of rare earth oxide nanoparticles on root elongation of plants. *Journal Chemosphere*. Vol. 78, pp. 273-279. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.10.050
- Ma, X., A. Gurung and Y. Deng. 2013. Phytotoxicity and uptake of nanoscale zero-valent iron (nZVI) by two plant species. *Journal Science Total Environmental*. Vol. 443, pp. 844-849. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.073.
- Mahajan, P., S. K. Dhoke, A. S. Khanna and J. C. Tarafdar. 2011. Effect of nano-zno on growth of mung bean (*Vigna radiata*) and chickpea (*Cicer arietinum*) seedlings using plant agar method. *Applied Biological Research*. Vol. 13 (2), pp. 54-61.
- Mata, G., E. E. Lima, A. Vasconcelos e R. V. Oliveira. 2014. Avaliação preliminar da embebição de sementes de jacarandá-da-bahia. *Brazilian Journal of Forestry Research*. Vol. 34 (78), pp. 133-139. doi: 10.4336/2014.pfb.34.78.520

- Mengel, K. and E. A. Kirkby. 2001. Principle of plant nutrition. Springer Science Business Media, B. V. 5th Edition Chapter 13 pp. 599-612. DOI 10.1007/978-94-010-1009-2.
- Nair P., M. G. and I. M. Chung. 2015. Study on the correlation between copper oxide nanoparticles induced growth suppression and enhanced lignification in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 113, pp. 302-313. doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.013.
- Najafi, M., A. Mikhak, M. Zaman and A. Maghari. 2016. Effects of nano Fe/SiO₂ fertilizers on germination and growth of barley and maize. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 24 p. doi:10.1080/03650340.2016.1239016.
- Nekrasova, G. F., O. S. Ushakova, A. E. Ermakov, M. A. Uimin and I. V. Byzov. 2011. Effects of copper (II) and copper oxide nanoparticles on *Elodea densa* Planch. *Russian Journal of Ecology*. Vol. 42 (6) pp. 458-463.
- Owolade, O. F. and D. O. Ogunleti. 2008. Effects of titanium dioxide on the diseases, development and yield of edible cowpea. *Journal of Plant Protection Research*. Vol. 48 (3) pp. 329-335. doi: 10.2478/v10045-008-0042-5
- Pereira, E. G., M. A. Oliva, L. Rosado, G. C. Mendes, D. S. Colares, C. H. Stopato and A. M. Almeida. 2013. Iron excess affects rice photosynthesis through stomatal and non-stomatal limitations. *Journal Plant Science*. Vol. (201-202), pp. 81-92. doi:10.1016/j.plantsci.2012.12.003.
- Pérez, D. 2005. Proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro. *Química clínica*. Vol. 24 (1). pp. 5-40.
- Pinto, L. V. A., E. A. A. Da Silva, A. C. Davide, V. A. Mendez, P. A. Toorop and H. W. M. Hilhorst. 2007. Mechanism and control of *Solanum lycocarpum* seed germination. *Annals of Botany Oxford Journals*. Vol. 100 pp. 1175-1187. doi:10.1093/aob/mcm211.
- Ponnamperuma, F. N., R. Bradfield and M. Peech. 1955. Physiological disease of rice attributable to iron toxicity. *Journal Nature*. pp. 265.
- Possington, J. V. 1971. Recent Advances in Plant Nutrition. Editorial R. M. Samish, pp. 155-165. Gordon & Breach, New York.
- Prasad, T. N., P. Sudhakar, Y. Sreenivasulu, P. Latha, V. Munaswamy, K. R. Reddy and T. Pradeep. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*. Vol. 35 pp. 905-927. doi.org/10.1080/01904167.2012.663443.

- Rao, S. and G. S. Shekhawat. 2014. Toxicity of ZnO engineered nanoparticles and evaluation of their effect on growth, metabolism and tissue specific accumulation in *Brassica juncea*. Journal of Environmental Chemical Engineering. Vol. 2, pp. 105–114. doi.org/10.1016/j.jece.2013.11.029.
- Rout, G. R. and S. Sahoo. 2015. Role of iron in plant growth and metabolism. Reviews in Agricultural Science. Vol. 3, pp.1-24. doi: 10.7831/ras.3.1.
- Rui, M., Ch. Ma, Y. Hao, J. Guo, Y. Rui, X. Tang, Q. Zhao, X. Fan, Z. Zhang, T. Hou and S. Zhu. 2016. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*). Frontiers in Plant Science. Vol. 7 (815). Doi: 10.3389/fpls.2016.00815
- SAS Institute. 2004. The SAS System for Windows. Release 9.1. SAS Institute, Cary, N.C.
- Sandoval, F. S., J. G. Arreola, A. Lagarda, R. Trejo, O. Esquivel y G. García. 2010. Efecto de niveles de NaCl sobre fotosíntesis y conductancia estomática en nogal pecanero (*Carya illinoensis (Wangenh) K. Koch*). Revista Chapingo Serie Zonas Aridas. Vol. 9 pp. 135-141.
- Sawan, Z. M., S. A. Hafez and A. E. Basyony. 2001. Effect of phosphorus fertilization and foliar application of chelated zinc and calcium on seed, protein and oil yields and oil properties of cotton. Journal of Agricultural Science. Vol. 136, pp. 191-198.
- Shah, V. and I. Belozerova. 2009. Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds. Water Air Soil Pollution. Vol. 197, pp. 143-148. doi: 10.1007/s11270-008-9797-6.
- SIAP-SAGARPA. 2017. Sistema de Información Agroalimentario y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Información General y Estadística para los 50 Cultivos más Importantes. www.siap.sagarpa.gob.mx. Fecha de consulta Junio de 2017.
- Siddiqui, M. and M. H. Al-Whaibi. 2013. Role of nano-SiO₂ in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* seeds Mill). Saudi journal of biological science. Vol. 21, pp. 13-17. doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.04.005.
- Singh, A. L. and B. D. Dayal. 1992. Foliar application of iron for recovering groundnut plants from lime induced iron deficiency chlorosis and accompanying losses in yield. Journal of Plant Nutrition. Vol. 15 (9), pp. 1421-1433. doi:10.1080/01904169209364408.
- Snowden R., E. D. and B. D. Wheeler. 1993. Iron toxicity to fen plants species. Journal of Ecology. Vol. 81 (1), pp. 35-46.

- Srilatha, B. 2011. Nanotechnology in agriculture. *Journal Nanomedicine and Nanotechnology*. Vol. 2 (7), pp. 123-128. doi:10.4172/2157-7439.1000123.
- Terry, N. 1980. Limiting factors in photosynthesis, use of iron stress to control photochemical capacity *in vivo*. *Journal Plant Physiology*. Vol. 65, pp. 114-120.
- Terry, N. 1983. Limiting factors in photosynthesis iron stress-mediated changes in light-harvesting and electron transport capacity and its effects on photosynthesis *in vivo*. *Journal Plant Physiology*. Vol. 71, pp. 855-860.
- Trujillo, J., S. Majumdar, C. E. Botez, J. R. Peralta and J. L. Gardea. 2014. Exposure studies of core-shell Fe/Fe₃O₄ and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca sativa*) plants: Are they a potential physiological and nutritional hazard? *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 267, pp 255- 263. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.11.067.
- Wang, H., X. Kou, Z. Pei, J. Q. Xiao, X. Shan and B. Xing. 2010. Physiological effects of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and pumpkin (*Cucurbita mixta*) plants. *Journal Nanotoxicology*. Vol. 5 (1) pp. 30-42. DOI: 10.3109/17435390.2010.489206.
- Wei, C., M. Yamato, W. Wei, X. Zhao, K. Tsumoto, T. Yoshimura, T. Ozawa, and Y. J. Chen. 2007. Genetic nanomedicine and tissue engineering. *The Medical Clinics of North America*. Vol. 91, pp. 889 - 898. doi:10.1016/j.mcna.2007.05.001.
- Wu, S. G., L. Huang, J. Head, D. R. Chen, I. C. Kong and Y. J. Tang. 2012. Phytotoxicity of metal oxide nanoparticles is related to both dissolved metals ions and adsorption of particles on seed surfaces. *Petroleum and Environmental Biotechnology*. Vol. 3 (4), 5 p. doi: 10.4172/2157-7463.1000126.
- Yanik, F. and F. Vardar. 2015. Toxic effects of aluminum oxide (Al₂O₃) nanoparticles on root growth and development in *Triticum aestivum*. *Water Air Soil Pollut*. Vol. 226:296, 13 p. doi 10:1007/s11270-015-2566-4.
- Yang, L. and D. J. Watts. 2005. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicol Letters*. Vol. 158, pp. 122-132. doi:10.1016/j.toxlet.2005.03.003.
- Zareie, S., P. Golkar and G.H. Mohammadi Nejad. 2011. Effect of nitrogen and iron fertilizers on seed yield and yield components of safflower genotypes.

African Journal of Agricultural Research. Vol. 6 (16), pp. 3924-3929. doi: 10.5897/AJAR11.683.

- Zhang, L. and T.J. Webster. 2009. Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration. *Nano Today*. Vol. 4, pp. 66-80. doi:10.1016/j.nantod.2008.10.014.
- Zhao, L., J. R. Peralta, A. Varela, H. Castillo, C. Li, J. Zhang, R. J. Aguilera, A. A. Keller and J. L. Gardea. 2012. Effect of surface coating and organic matter on the uptake of CeO₂ NPs by corn plants grown in soil: insight into the uptake mechanism. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. (225–226), pp. 131-138. Doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.05.008.
- Zhao, L., Y. Sun, J. A. Hernandez, A. D. Servin, J. Hong, G. Niu, J. R. Peralta, M. Duarte, and J. L. Gardea. 2013. Influence of CeO₂ and ZnO nanoparticles on cucumber physiological markers bioaccumulation of Ce and ZnO: a life cycle study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 61 pp. 11945-11951. Doi.org/10.1021/jf404328e.
- Zhao, L., Y. Sun, J. A. Hernandez, J. Hong, S. Majumdar, G. Niu, M. O. Duarte, J. R. Peralta and J. L. Gardea. 2015. Monitoring the environmental effects to CeO₂ and ZnO nanoparticles through the life cycle of corn (*Zea mays*) plant and in situ μ -XRF mapping of nutrients in kernels. *Environmental Science and Technology*. 33 p. DOI: 10.1021/es5060226.
- Zheng, L., F. Hong, S. Lu and C. Liu. 2005. Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. *Biological Trace Element Research*. Vol. 104, pp. 83-91.
- Zhu, H., J. Han, J. Q. Xiao and Y. Jin. 2008. Uptake, translocation and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. *Journal of Environmental Monitoring*. Vol. 10, pp. 685-784. doi: 10.1039/b805998e.