

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Respuestas Fisiológicas de Semillas y Plantas de *Cucumis sativus* a la Forma de
Aplicación de NPsFe_2O_3 en Condiciones de Laboratorio y Malla Sombra

Por:

JESÚS ALBERTO CERVANTES ALDACO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Respuestas Fisiológicas de Semillas y Plantas de *Cucumis sativus* a la Forma de
Aplicación de NPsFe₂O₃ Condiciones de Laboratorio y Malla Sombra

Por:

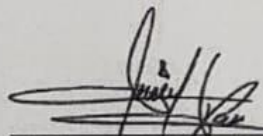
JESÚS ALBERTO CERVANTES ALDACO

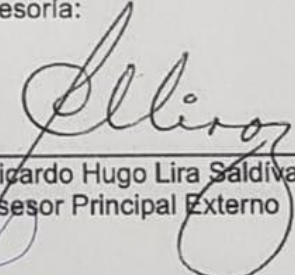
TESIS

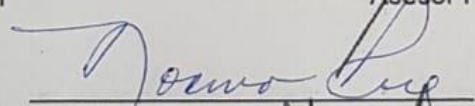
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:


INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Armando Hernández Pérez
Asesor Principal


Dr. Ricardo Hugo Lira Saldivar
Asesor Principal Externo


Dra. Norma Angélica Ruiz Torres
Coasesor


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

Saltillo, Coahuila, México

Marzo, 2020

DEDICATORIAS

A DIOS

Por la gracia de darme la vida, por permitirme concluir mi carrera profesional y haberme dado salud para lograr todos mis objetivos en mi etapa de estudiante.

A MIS PADRES

Beatriz Aldaco Sánchez y Juventino Cervantes Arévalo quienes me han heredado el tesoro más valioso que pueda dársele a un hijo “AMOR”. Quienes sin escatimar esfuerzo alguno han sacrificado por mí una gran parte de su vida, me han formado y educado. Gracias por guiarme en cada paso de mi vida, por cada uno de los momentos en los que me brindaron su apoyo, cariño, amor y comprensión. Sin duda alguna el mejor regalo que pudiera recibir.

A MIS HERMANAS: Vero, Nancy y Vale

Por ser ustedes la mayor fuente de inspiración, gracias por la confianza y por siempre creer en mí, ese voto que tuvieron conmigo me ha permitido explorar y aventurarme para cumplir mis metas. Me han impulsado a conseguir más de lo que jamás podría haber soñado, y todo se los debo a ustedes.

A MI NOVIA: Ana Gabriela Hernández Pérez

Por estar conmigo en todo momento, por confiar y creer en mí, por darme la oportunidad de compartir este sueño contigo, por tu amor y todas las alegrías que as traído a mi vida.

A MI FAMILIA

A mis tías (**Julia y Refugio**) por brindarme sus sabios consejos y apoyo en todo momento, gracias por formar parte de este sueño tan anhelado.

AGRADECIMIENTOS

A mi **ALMA MATER Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por abrirme las puertas y darme la oportunidad de desarrollarme como profesionista.

Al **Centro de Investigación en Química Aplicada** por brindarme la oportunidad de realizar mi experimento de tesis dentro de sus instalaciones y por todas las facilidades que se me otorgaron durante su ejecución.

Dr. Armando Hernández Pérez por darme la oportunidad y confianza de realizar esta tesis, por su amistad y sus sabios consejos, gracias por el tiempo que me dedico para llevar a cabo este proyecto.

Dra. Norma Angélica Ruiz Torres por su colaboración y contribución en el desarrollo de este proyecto, por su valioso tiempo durante el desarrollo de este proyecto.

Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar por brindarme su apoyo, conocimiento y consejos durante la elaboración del experimento. Gracias por sus valiosas aportaciones para la elaboración de esta tesis.

A mis amigos **Adrian** (chencho), **Luisito** (teamrovie), **Fabian** (güero), **Damon**, **Migue**, **Luis Rey**, **Emilio**, **Eel Alberto**, **Roberto** (pollo), **Juan Carlos**, **Arturo** (churros), **Kike**, **Fer**, **Gerardo**, **Jesús**, **Ángel**, **Carre**, **Manuel Nájera**, **Santiago** y **Guillermo**, gracias por brindarme su amistad y compartir grandes momentos juntos, gracias por ser mi segunda familia.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos de NPsFe_2O_3 aplicados para determinar su efecto como promotor o inhibidor en semillas de pepino SMR58.	19
Cuadro 2. Tratamientos de NPsFe_2O_3 aplicados para determinar su efecto en el desarrollo y crecimiento de pepino.	19
Cuadro 3. Cuadros medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo (1) de germinación de semillas de pepino var. SMR58, tratadas con NPsFe_2O_3	28
Cuadro 4. Efecto de la aplicación de NPsFe_2O_3 a diferentes concentraciones en semillas de pepino cv. SMR58.	29
Cuadro 5. Cuadros medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo (2) para las respuestas fisiológicas de plantas de pepino tratadas con NPsFe_2O_3 , en condiciones de malla sombra.	33
Cuadro 6. Comparación de medias para las variables fisiológicas en plantas de pepino var. SMR58 tratadas con NPsFe_2O_3 en condiciones de malla sombra.	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Comparación nanométrica de diferentes elementos con un cabello.12

Figura 2. Incorporación y movimiento de las NPs a la planta, a través de la raíz...17

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1. Longitud de Plúmula (cm) en diferentes concentraciones de NPsFe_2O_3 . 41
- Anexo 2. Longitud de radícula (cm) en diferentes concentraciones de NPsFe_2O_3 . 41
- Anexo 3. Vigor de germinación (%) en diferentes concentraciones de NPsFe_2O_3 . 42
- Anexo 4. Peso seco (mg/plántula) en diferentes concentraciones de NPsFe_2O_3 ...42

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1. Objetivo General.....	9
1.2. Objetivos Específicos	9
1.3. Hipótesis.....	9
II. REVISIÓN DE LITERATURA	10
2.1. Historia y origen del pepino	10
2.2. Importancia económica y social.....	10
2.3. Producción en invernadero.....	11
2.4. La nanotecnología y su importancia	11
2.5. Escala Nanométrica	11
2.6. Definición de Nanopartícula	12
2.7. Propiedades y tipos de nanopartículas.....	13
2.8. Nanopartícula de óxido de hierro.....	14
2.9. Aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura.....	14
2.10. Aplicaciones de nanopartículas metálicas en plantas	15
2.11. Vías de absorción y movimiento de las nanopartículas en las plantas....	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS	18

3.1	Localización del Experimento	18
3.2	Material Vegetal.....	18
3.3	Diseño Experimental	18
3.4	Tratamientos	18
3.5	Tipo de Nanopartícula	20
3.6	Establecimiento del Bioensayo 1	20
3.7	Evaluación del Bioensayo 1	21
3.8	Establecimiento del Bioensayo 2.....	22
3.9	Evaluación del Bioensayo 2	24
3.10	Análisis estadístico	25
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
V.	CONCLUSIONES	35
VI.	LITERATURA CITADA.....	36
VII.	ANEXOS	41

RESUMEN

El presente trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), y en el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), con el objetivo de evaluar dos bioensayos con la aplicación de nanopartículas (NPs) de óxido de hierro (Fe_2O_3), y conocer su efecto sobre la germinación y el desarrollo de plántula de pepino var. SMR58, en condiciones de laboratorio y de malla sombra en campo abierto.

El bioensayo consistió de diferentes concentraciones de NPsFe_2O_3 (0, 50, 100, 200, 400, 800 y 1600 ppm), cada tratamiento constó de 100 semillas fraccionadas en cuatro repeticiones de 25 cada una, dando un total de 700 semillas en el experimento. Las semillas fueron colocadas en cajas de Petri para ser asperjadas con los diferentes tratamientos de NPsFe_2O_3 , utilizando agua destilada como vehículo de aplicación, mientras que el testigo consistió únicamente en agua destilada. Para iniciar la germinación fueron sometidas a un proceso de imbibición por 24 horas. Después fueron sembradas utilizando el método de germinación entre papel, para después colocarse en una cámara de germinación a una temperatura de 25°C.

Los resultados obtenidos en este estudio indican que ocurrió una reducción del vigor de germinación al incrementar la dosis de NPsFe_2O_3 , en la variable porcentaje de germinación todos los tratamientos se comportaron estadísticamente igual al testigo, y en la longitud de plúmula al aplicar 50 ppm superó al testigo, el resto de los tratamientos mostraron un comportamiento estadísticamente igual.

El bioensayo 2 consistió en la aplicación de las NPsFe_2O_3 mediante dos vías (foliar y Drench), en diferentes concentraciones, bajo condiciones de malla sombra, con el objetivo de conocer la respuesta en el desarrollo fenológico de plantas de pepino. La aplicación vía foliar constó de las siguientes concentraciones 0, 1000, 2000 y 3000 ppm, mientras que vía drench las concentraciones fueron 0, 500, 1000 y 1500 ppm.

Las semillas de pepino se sembraron en bolsas de polietileno de color negro con capacidad de 10 litros, se utilizó como sustrato peatmoss mezclado con perlita a una

relación de 3:1. La aplicación foliar de las soluciones con NPsFeO₂₃ se realizó con tres atomizadores de plástico de 400 ml cada uno para cada tratamiento, asperjando 12 ml por cada planta, cubriendo en su totalidad las hojas. Mientras que para la aplicación en drench, se utilizaron tres tubos Falcón de 50 mL, uno para cada tratamiento, esta actividad se realizó aplicando la solución alrededor de la raíz, siempre y cuando el sustrato estuviera húmedo.

Los resultados que se obtuvieron en este experimento indican que las plantas tratadas con NPsFe₂O₃, tuvieron un incremento altamente significativo en el número de flores masculinas y área foliar, Mientras que, para el número de flores femeninas, número de guías y número de entrenudos hubo diferencias significativas entre tratamientos. La longitud de tallo presentó resultados estadísticamente iguales en todas las concentraciones.

Palabras clave: nanotecnología, óxido de hierro, vigor, toxicidad, emergencia.

I. INTRODUCCIÓN

El pepino es un cultivo importante por su índice elevado de consumo, ya que sirve de alimento tanto en fresco como industrializado. Tiene gran relevancia en varias regiones del mundo, siendo una especie cuyo valor agronómico reside en su producción estacional, para lo cual necesita desarrollarse en agricultura protegida (Infoagro, 2001).

Su origen es de Asia y África. Sus propiedades nutritivas la han hecho una hortaliza especial, por el elevado contenido de ácido ascórbico y pequeñas cantidades del complejo B. En cuanto a minerales, es rico en calcio, cloro, potasio y hierro. Además, se está utilizando considerablemente en el ámbito de la cosmetología por sus semillas ricas en aceites esenciales (Muñoz, 2015).

La palabra nanotecnología (NT) es usada extensivamente para definir las ciencias y técnicas que se aplican a un nivel de nanoescala, esto es una medida extremadamente pequeña que permite trabajar y manipular las estructuras moleculares y sus átomos. La NT es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación en materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nano escala (Nelson *et al.*, 2010).

Los principales desarrollos de la NT se encuentran en los sectores de la agricultura y la alimentación, necesitando involucrar casi todas las disciplinas tanto de las ciencias básicas y de la salud. En la agricultura ya se han llevado a cabo numerosos estudios, en los que se desarrollan herramientas para mejorar la capacidad de los cultivos en la absorción de los nutrientes del suelo, resistencia a plagas o factores climáticos (Lamas, 2010).

Sin embargo, aún hace falta investigación a fondo sobre las nanopartículas metálicas en la agricultura, el uso de estas para aumentar la eficiencia de la nutrición mineral y asumiendo que su absorción sea más fácil y rápida, tanto en las aplicaciones foliares, como en drench o fertirrigación. Así mismo la NT tiene el potencial de revolucionar la industria agroalimentaria con técnicas y herramientas novedosas para el manejo de las nanopartículas (NPs) y conocer su efecto al nivel molecular.

1.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de NPs de óxido de hierro (NPsFe₂O₃) de tipo comercial, a diferentes concentraciones, sobre el proceso de germinación en semillas de pepino cv. SMR58 y en el crecimiento vegetativo en condiciones de malla sombra, aplicadas vía foliar o drench.

1.2 Objetivos Específicos

- ✓ Analizar el efecto de las NPsFe₂O₃ en la germinación (promotor o inhibidor), aplicadas en diferentes concentraciones a semillas de pepino variedad SMR58.
- ✓ Determinar a qué concentración, las NPsFe₂O₃ tienen efecto (positivo o negativo) en el crecimiento y desarrollo de la planta de pepino, en función de la forma de aplicación (foliar o al drench).

1.3 Hipótesis

H1: La aplicación de NPsFe₂O₃ a semillas, promueve la germinación y el vigor de plántula, en comparación con el testigo.

Ho: La aplicación de NPsFe₂O₃ a semillas, no promueve la germinación ni el vigor de plántula, en comparación con el testigo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Historia y origen del pepino

Asia y en particular la India es considerada el Centro de Origen del pepino, debido a la frecuente ocurrencia de especies silvestres de *Cucumis* con número cromosómico $n = 7$, además de la existencia de vestigios del cultivo de hace 3,000-4,000 años, y aunque algunos autores señalan que el centro de origen es África tropical, la mayoría de los trabajos señalan un origen totalmente asiático (Lim, 2012).

Otros investigadores creen que comenzó a cultivarse en el sureste y este asiático, China y Japón, donde se extendió por numerosos países cálidos, entre ellos Grecia y Roma, por ser un cultivo muy exigente en temperatura y sus frutos muy apreciados en épocas calurosas. En lo que sí están todos de acuerdo es que el fruto se utiliza desde hace más de 5,000 años (Marmol, 2011).

2.2 Importancia económica y social

El fruto de las plantas de pepino es de gran importancia debido a que cuenta con un elevado índice de consumo en fresco e industrializado. Esta hortaliza tiene un gran aumento de producción y exportación, y por lo tanto se requiere estabilizarla superficie cosechada. El alto impacto económico que tiene este cultivo, se debe a que es un producto de exportación que se consume en muchas regiones del mundo (Molina, 2017).

La implementación de la producción de pepino bajo condiciones de invernadero incrementa la rentabilidad del sector productivo; además de que genera fuente de trabajo, disminuye la contaminación ambiental y los daños a la salud (López *et al.*, 2011).

La producción mundial de pepino está encabezada por China con 63% de la producción total, seguida por Turquía con 4.8%, Irán 3.6% y EUA 3%. Los tres primeros cubren más del 70% de la producción de este cultivo en el mundo. México ocupa el 11avo lugar, con solo el 1.2% de la producción en el mundo. El primer estado de producción de pepino en México es Sinaloa con el 49.3% del total nacional, luego sigue

Michoacán con 18.2%, Baja California 8%, Morelos 6.9%, Veracruz 3.9%, y Guerrero con 2.3% (Mejía, 2010).

2.3 Producción en invernadero

Bajo condiciones de invernadero, la producción de pepino es de 2 a 9 veces más que en campo abierto, dependiendo del nivel tecnológico, el manejo y las condiciones climatológicas. A finales de los 90s, cuando comienzan a desarrollarse en forma importante en la producción intensiva de hortalizas, pasando de 1998 al 2006 (tan solo ocho años), de 600 a más de 6,500 ha. Sonora ocupa el tercer sitio con 707 ha construidas y 180 ha por construir, siendo superado solo por Sinaloa, Baja California y Jalisco (López *et al.*, 2011).

2.4 La nanotecnología y su importancia

Las nanociencias estudian estructuras u objetos en la escala del nanómetro. Por otro lado, la nanotecnología (NT) se refiere a la capacidad técnica para modificar y manipular la materia, para poder desarrollar estructuras funcionales, con dimensiones inferiores a los 100 nm (Cheang, 2006).

La NT es aplicada en sistemas de alimentación y agricultura sustentable, mientras que los nanomateriales ofrecen innovación de productos a la industria de alimentos, así como agroquímicos y fertilizantes más potentes. La posibilidad de aplicación de las nanotecnologías, permiten a las compañías ampliar sus actividades comerciales (Hernández, 2018).

2.5 Escala Nanométrica

La palabra “nano” es un prefijo proveniente del vocablo griego, es utilizado en el sistema internacional (S.I.) de unidades de medida, para indicar un factor de 10^{-9} (multiplicar algo por 0.000000001). Por lo tanto, un nanómetro es equivalente a la millonésima parte de un milímetro, una longitud 80,000 veces más pequeña que el diámetro de un cabello humano (Figura 1). Las NPs se caracterizan por tener un

tamaño muy pequeño, en el orden de 1 a 300 nm. Son utilizadas en diversos ámbitos, como la industria, medicina, cosméticos, y otros productos comerciales (Rodríguez *et al.*, 2018).

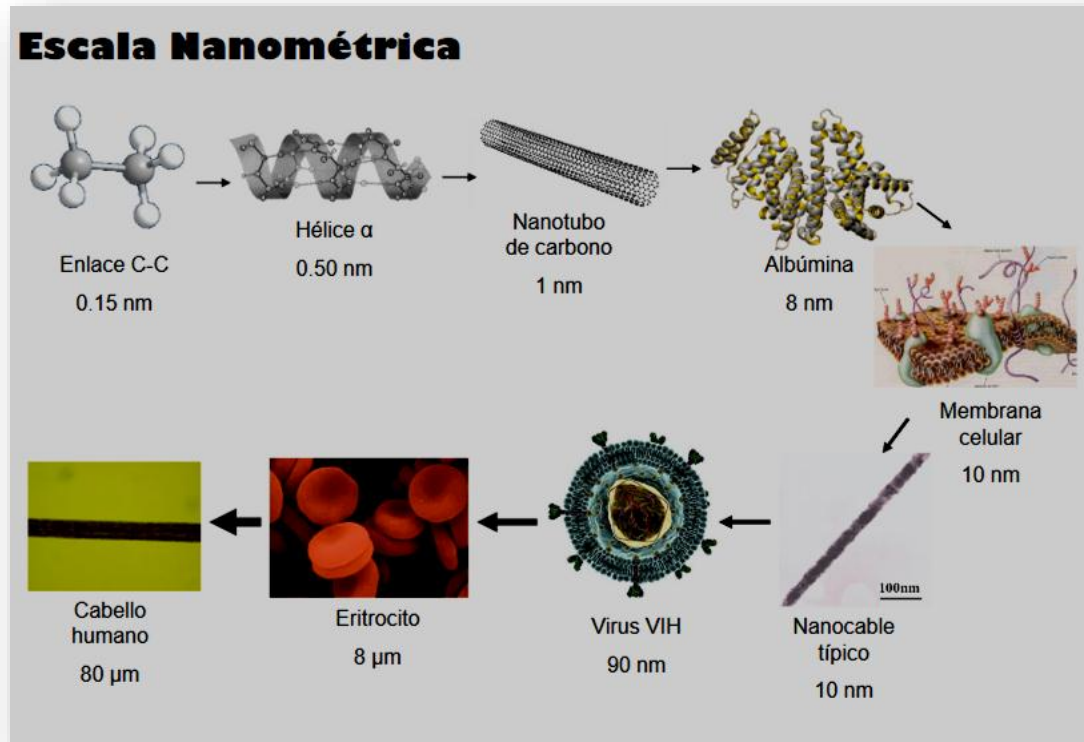


Figura 1. Comparación nanométrica de diferentes elementos con referencia a un cabello humano. (Campos, 2014).

2.6 Definición de Nanopartícula

Las NPs son materiales de diferente composición, ya sea metálica o del tipo de nanoarcillas, que caen dentro de un rango nanométrico (10^{-9} a 10^{-12} m), teniendo dimensiones menores de unos pocos cientos de nanómetros (nm) (Srilatha 2011).

Las NPs son una nueva clase de materiales (sean cerámicos, metales, semiconductores, polímeros, o bien una combinación de estos), en donde sus dimensiones se encuentran entre 1 y 100 nm. Estos nanomateriales han existido en el

planeta por siglos, algunos ejemplos son las partículas de humo y las NPs dentro de bacterias (Gutiérrez, 2018).

2.7 Propiedades y tipos de nanopartículas

2.7.1 Nanopartículas metálicas

Las NPs metálicas tienen como principal característica un número determinado de electrones libres confinados en un espacio muy pequeño. Esto les da propiedades como la resonancia plasmónica, que se define como la capacidad de interactuar con la luz, lo cual sucede en el caso del oro, donde soluciones de distintos tamaños de NPs presentan colores que van desde el púrpura hasta el marrón (Quintana *et al.*, 2008).

2.7.2 Nanopartículas semiconductoras

La estructuración de materiales en este intervalo de tamaños, permite en muchos casos, el control de sus propiedades ópticas, su conducción eléctrica, sus propiedades térmicas, su comportamiento magnético, así como su reactividad o actividad catalítica. En materiales semiconductores, el control de sus propiedades ópticas y electrónicas es resultado del confinamiento del par electrón-hueco (excitón), en los espacios nanométricos que suponen los cristales semiconductores de entre 10^3 y 10^5 átomos (Juárez, 2011).

2.7.3 Nanopartículas magnéticas

Las NPs magnéticas (NPMs o MNPs) son un tipo de partículas muy versátiles, cuyos tamaños pueden variar entre 10 a 100 nm. Están compuestas por elementos magnéticos como níquel, hierro, cobalto y sus respectivos óxidos. Su característica principal es su posible manipulación por campos magnéticos externos (Virginia *et al.*, 2016).

2.8 Nanopartícula de óxido de hierro

El hierro (Fe) es uno de los elementos esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Su papel fundamental es la formación de la clorofila, y su ausencia y/o deficiencia pueden causar un desorden conocido como clorosis. Además, el Fe es necesario para el mantenimiento de procesos esenciales como la respiración y la fotosíntesis, participa en la cadena de transporte de electrones y en la conversión entre Fe^{2+} y Fe^{3+} , mismo que es un elemento clave para la fijación del dióxido de carbono (CO_2) y, por lo tanto, importante para la producción de cultivos (Abel *et al.*, 2016). Las NPsFeO se han comenzado a investigar como nanofertilizantes, con un enfoque prometedor (Moreno, 2017).

2.9 Aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura

La nanotecnología tiene una gran cantidad de aplicaciones potenciales en la agricultura. Con la nanoescala se puede eficientar el uso de agroquímicos, reduciendo dosis requeridas, lo cual beneficia a la mejora del ambiente (INTAGRI, 2018). Actualmente se están realizando experimentos con distintos cultivos para determinar el efecto de las NPs metálicas sobre la fisiología de las plantas. Resultados sobre la aplicación de las NPs en diferentes cultivos, han demostrado que aumentan el desarrollo de las plantas tratadas con nanopartículas (Lira *et al.*, 2016).

La NT está desarrollando nuevas gamas de plaguicidas, reguladores de crecimiento vegetal y fertilizantes químicos, convirtiéndolos potencialmente más eficaces que los utilizados actualmente (Lugo *et al.*, 2010).

En la agricultura, la NT puede aplicarse para el tratamiento de algunas enfermedades de las plantas, la detección rápida de los patógenos que las producen, para mejorar la asimilación de nutrientes esenciales de las plantas e incluso, para la construcción de nanobiosensores importantes en determinados procesos biológicos (Tortosa, 2012).

La NT puede facilitar el manejo de cultivos ya existentes a corto y mediano plazo. Las NPs ayudarán a evitar problemas en los cultivos mediante la utilización de herbicidas sistémicos contra malezas parásitas (Lira *et al.*, 2016).

En el área agrícola y ambiental las NPs tienen una gran importancia por su uso potencial para resolver problemas que con productos a escala normal son muy costosos y no siempre son eficientes. Respecto a la producción agrícola, el principal objetivo es reducir al mínimo las pérdidas y disminuir los efectos adversos e irreversibles en el ambiente por el uso excesivo de insumos agrícolas (Carrillo y Gonzales, 2009).

2.10 Aplicaciones de nanopartículas metálicas en plantas

2.10.1 Germinación

Diversos estudios reportan que la aplicación de NPs metálicas como el zinc, han mostrados efectos significativos en la germinación de semillas y en el crecimiento de plantas (Méndez *et al.*, 2016).

Reportes actuales señalan que la aplicación de NPs en dosis bajas, estimulan la germinación en la mayoría de las especies, esto podría atribuirse debido a que por su tamaño pueden penetrar las células de la planta desde el apoplasto, pasando la membrana plasmática a través de la endocitosis, y finalmente trasladarse de una parte a otra a través del flujo simplástico (Rico *et al.*, 2014).

2.10.2 Nanofertilizantes

Dentro del área de nutrición vegetal, la aplicación de la NT tiene una serie de oportunidades. Por ejemplo, se tendría una mayor eficiencia y seguridad en la aplicación de los biofertilizantes debido a la escala, fertilización localizada, las nanoestructuras permitirían controlar la velocidad de liberación de los nutrientes, para que las plantas consuman solo lo que requieran (INTAGRI, 2018). Investigaciones recientes demuestran que diversas NPs metálicas mejoran significativamente el

crecimiento de las plantas y tienen potencial para ser usados como nanofertilizantes, para incrementar la productividad agrícola (Lugo *et al.*, 2010).

2.10.3 Formulación de agroquímicos

La NT aplicada a la formulación de agroquímicos se basa en la reducción de los ingredientes activos a tamaños nanométricos, para permitir que agroquímicos como clorpirifos, dicamba, entre otros, se comporten como nuevos productos, con mayor biodisponibilidad y bioeficiencia (Agriculturers, 2016).

2.10.4 Aplicaciones Foliares

Las NPs pueden penetrar los tejidos vegetales cuando se aplican sobre las hojas de las plantas en forma de aerosol o aspersión, penetrando por los estomas, y desplazándose luego por el floema hacia diferentes tejidos de las plantas. También se pueden aplicar a la zona de las raíces mediante el riego y de esa manera las NPs se pueden desplazar por el sistema conductivo del xilema (Lira *et al.*, 2018).

2.11 Vías de absorción y movimiento de las nanopartículas en las plantas

Los nanomateriales que miden menos de 300 nm pueden ser absorbidos por células individuales, mientras que las nanoestructuras que miden menos de 70 nm pueden ser absorbidas incluso por el núcleo de la célula, donde tendrán un mayor efecto (Lugo *et al.*, 2010). Cuando se aplican NPs al suelo o en el agua de riego, penetran a través de la epidermis de la raíz y llegan a la corteza vía simplasto o apoplasto, posteriormente atraviesan la endodermis y por último entran al tejido de conducción del xilema (Figura 2), para ser translocadas hasta las ramas y el follaje de las plantas (Ponce, 2016).

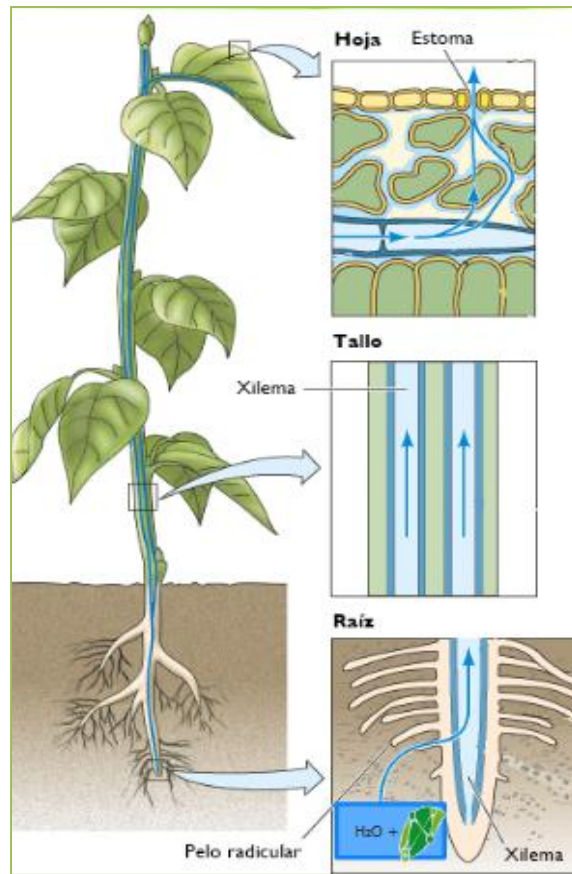


Figura 2. Incorporación y movimiento de las NPs a la planta, a través de la raíz (Tomado de: Nutrian, 2016).

Las NPs pueden ser absorbidas por las estructuras naturales de las plantas llamadas tricomas, por otra parte, son absorbidas por el sistema radicular de la planta, ya que contiene raíces semipermeables. La absorción de las NPs en la planta tiene diversas rutas, lo cual depende del tamaño y superficie, ya que las hojas y los frutos poseen una epidermis que está cubierta por una cutícula la cual permite la entrada de las NPs (Dietz y Herth, 2011).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del Experimento

El presente trabajo de investigación se desarrolló en dos áreas:1). Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), la cual se localiza en las coordenadas 25° 21´ 13´´ N, 101° 1´ 56´´ W, en Buenavista, al sur del municipio de Saltillo, Coahuila, México. 2). Laboratorios de Biotecnología, Microbiología y área de invernaderos del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), ubicado en el Blvd. Enrique Reyna No. 140, Col. San José de los Cerritos, 25294, Saltillo, Coahuila, México.

3.2 Material Vegetal

Se utilizó semilla de pepino SMR58 (Pickle), variedad que da frutos de tamaño muy reducido. Adecuado para conservar en salmuera o en fresco. Semillas de gran calidad en envase hermético, con un máximo vigor y germinación.

3.3 Diseño Experimental

El Bioensayo 1 estableció en un diseño completamente al azar, conformado por 7 tratamientos con NPsFe₂O₃ y cuatro repeticiones para cada tratamiento, con 25 semillas por repetición, dando un total de 100 semillas por tratamiento. El Bioensayo 2, se estableció en bloques completos al azar, constituido por 16 tratamientos a diferentes concentraciones de NPsFe₂O₃ y formas de aplicación y cuatro repeticiones para cada tratamiento.

3.4 Tratamientos

Para el bioensayo 1, los tratamientos constaron de soluciones preparadas con agua destilada como agente de aplicación y NPsFe₂O₃ a diferentes concentraciones (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos de NPsFe_2O_3 aplicados para determinar su efecto como promotor o inhibidor en semillas de pepino SMR58.

NPs	Concentración (ppm)
Fe_2O_3	0
	50
	100
	200
	400
	800
	1600

NPs= Nanopartículas; ppm= Partes por millón

En el bioensayo dos (B2), se utilizaron tratamientos que constaron de soluciones preparadas con agua destilada, empleada como vehículo de aplicación y NPsFe_2O_3 a diferentes concentraciones (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos de NPsFe_2O_3 aplicados para determinar su efecto en el desarrollo y crecimiento de pepino.

Drench (ppm)	Foliar			
	0	1000	2000	3000
0	T1	T2	T3	T4
500	T5	T6	T7	T8
1000	T9	T10	T11	T12
1500	T13	T14	T15	T16

Ppm= partes por millón

3.5 Tipo de Nanopartícula

Se usaron NPs comerciales elaboradas con base en óxido de hierro (NPsFe₂O₃), con un tamaño alrededor de 30 nm y diámetros de 15 a 30 nm.

3.6 Establecimiento del Bioensayo 1

3.6.1 Imbibición

Para determinar el efecto de la aplicación de la NPsFe₂O₃ en la germinación de semillas de pepino, se estableció un bioensayo, el cual constó de cuatro repeticiones de 25 semillas cada una para cada concentración.

Para la aplicación de las soluciones con NPs, se utilizaron 7 cajas de Petri, esterilizadas previamente, posteriormente se colocó en cada una y con ayuda de pinzas 105 semillas de pepino.

Antes de la aplicación de los tratamientos, cada solución se sometió a un proceso de sonicación durante 25 minutos, para asegurar la dispersión de las NPs (sonicador marca Labnet). Después, se añadió cada solución con ayuda de pipetas de 100ml, aplicando 20 ml en cada caja de Petri, según el tratamiento correspondiente y realizando una aplicación uniforme sobre las semillas. Enseguida se sometieron a un proceso de imbibición por 24 horas.

3.6.2 Siembra

Después del proceso de imbibición y con ayuda de pinzas de disección, las semillas se sembraron entre papel Anchor humedecidas con agua destilada, con 25 semillas por repetición para cada tratamiento, enrollándolas en forma de "taco". Se repitió esta actividad para las todas las repeticiones.

Una vez terminada la siembra se colocaron los tacos en bolsas transparentes de polietileno, una para cada tratamiento. Las 7 bolsas se identificaron y se colocaron en una canastilla de plástico ordenadas por tratamiento, y se situaron en una cámara bioclimática (Thermo Scientific) a una temperatura de 25°C, con una humedad relativa del 75%.

3.7 Evaluación del Bioensayo 1

3.7.1 Variables evaluadas

a) Vigor de germinación

Al cuarto día después de la siembra, se realizó el primer conteo para determinar el número de plántulas normales, expresado en porcentaje, a fin de conocer y determinar el vigor de germinación de la semilla, parámetro que representa la velocidad y uniformidad de la germinación, considerando como plántulas normales a aquellas con todas sus partes (radícula y plúmula), sin ninguna anomalía visible. Esta variable se determinó con la siguiente fórmula:

$$\text{Vigor de germinación (\%)} = \frac{\text{Número de plántulas normales}}{\text{Número total de semillas sembradas}} \times 100$$

b) Porcentaje de germinación

La evaluación de germinación se llevó a cabo al séptimo día, se realizó el último conteo para determinar el número total de plántulas normales. Para determinar el porcentaje de germinación con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de germinación} = \frac{\text{Número de plántulas normales}}{\text{Número total de semillas sembradas}} \times 100$$

c) Porcentaje de plántulas anormales

Para determinar este porcentaje se consideran todas aquellas plántulas que presentaron un desarrollo irregular en alguna de sus estructuras morfológicas u alguna otra irregularidad como no desarrollar plúmula o radícula.

d) Porcentaje de semillas sin germinar

Se incluyeron todas aquellas semillas duras o muertas que no tuvieron la capacidad de germinar, el resultado se expresó en porcentaje.

e) Longitud media de radícula

Se midió la longitud de radícula a todas las plántulas normales de cada tratamiento y repetición, utilizando una tabla con hoja milimétrica graduada en cm.

f) Longitud media de plúmula

La longitud de media de plúmula se estimó midiendo la longitud de la plúmula de todas las plántulas normales de cada tratamiento y repetición, con ayuda de una tabla con hoja milimétrica graduada en cm.

g) Peso de materia seca

Una vez realizada la evaluación en B1, se tomaron las plántulas normales de las cuatro repeticiones por cada tratamiento y se colocaron en bolsa de papel de estraza, previamente identificadas, las cuales se situaron en una estufa de secado (Riossa modelo H-48), a una temperatura de 72°C por un periodo de 24 horas.

Ya transcurrido este lapso se sacaron las muestras de la estufa y se colocaron en un desecador, para evitar que tomaran humedad del ambiente, mientras se enfriaban por 10 minutos. Enseguida se pesó cada muestra en una balanza analítica (Precisa modelo BJ610C), para determinar el peso de materia seca expresado en mg/plántula.

3.8 Establecimiento del Bioensayo 2

3.8.1 Siembra de Material Vegetal

Para evaluar el efecto de las NPsFe₂O₃ en el crecimiento y desarrollo de las plantas de pepino, se estableció un bioensayo (B2), donde se aplicó nanopartículas de dos maneras (foliar o aplicado en drench), con cuatro repeticiones para cada tratamiento. Las semillas de pepino SMR58 se sembraron en bolsas de polietileno de 10 litros color negro, a una profundidad aproximadamente de 5 cm para cada una de las repeticiones y tratamientos, colocando 2 semillas por bolsa, esto se hizo con el propósito asegurar una germinación al 100% en el bioensayo, utilizando como sustrato peat moss mezclado con perlita a una relación de 3:1v:v. Una vez germinadas las semillas, se raleo a una planta en cada bolsa, que contenía 2 plantas.

3.8.2 Aplicación de NPsFe₂O₃

Para la aplicación foliar de las soluciones con NPsFe_2O_3 se utilizaron tres atomizadores de plástico de 400 ml cada uno, para cada tratamiento, asperjando 12 ml por cada planta, cubriendo en su totalidad las hojas.

Para la aplicación en drench de las soluciones con NPsFe_2O_3 , se utilizaron tres tubos Falcon de 50 ml, uno para cada tratamiento, esta actividad se realizó aplicando la solución alrededor de la raíz, siempre y cuando el sustrato estuviera húmedo.

Se pesaron las NPs correspondientes en una balanza analítica modelo ABS-N/ ABJ-NM y se agregaron a 100 ml de agua desionizada, la suspensión se hizo en viales de vidrio y se le agregaron dos gotas de un surfactante de uso agrícola marca BIONEX*30.9 SL, las soluciones se llevaron a sonicar durante 20 minutos, en un sonicador de lanza modelo qsonica Q500-110. Agregar el surfactante a la suspensión con NPs permite romper la tensión superficial al momento de la aspersión y así las hojas queden cubiertas en su totalidad por la solución.

3.8.3 Riego

Se colocó un sistema de riego por goteo, utilizando dos contenedores tipo rotoplast de 600 litros de volumen, conectados a una bomba de riego de 1HP, para la distribución de la solución se utilizó manguera de polietileno de ½ pulgada. Durante el desarrollo del bioensayo los riegos fueron diarios, suministrando dos riegos por día, uno automatizado con un timer o temporizador y el otro manual durante un periodo de 20 minutos cada riego.

3.8.4 Manejo agronómico del cultivo

Se colocaron tutores de acero galvanizado, las plantas de pepino fueron tutoradas dándole al tallo un giro en el tutor principal (rafia), conforme las plantas fueran creciendo y evitar acame. No se realizaron podas debido a que una de las variables a evaluar correspondía a la biomasa seca total para cada tratamiento.

3.8.5 Nutrición del Cultivo

Se fertirrigó con una solución tipo Steiner al 100%, suministrando el primer riego una semana después de la germinación de las plantas de pepino durante la duración del bioensayo. Cabe mencionar que en nuestra solución nutritiva no se le incluyó el hierro.

3.8.6 Manejo de Plagas y Enfermedades

Debido a la aparición de plagas y enfermedades se realizaron aplicaciones de agroquímicos para contrarrestar el problema. Para la mosca blanca se aplicó Dimetoato en una relación de 2.5 mL/L con una aspersora manual, así mismos se utilizó para el control de Trips.

3.9 Evaluación del Bioensayo 2

3.9.1 Variables evaluadas

a) Altura de Planta

Se utilizó un metro de madera graduado en centímetros, midiendo desde la base del tallo hasta el meristemo apical, manteniendo la planta erecta en una posición horizontal.

b) Número de flores

Se contabilizaron todas las flores separando masculinas de femeninas, determinando el número de cada tipo de flor, esta actividad se realizó de manera manual diferenciando las plantas femeninas de las masculinas por su óvulo ínfero.

c) Número de guías

Se determinó una vez que contabilizados el número de hojas, para facilitar la actividad se realizó de manera manual y las guías se iban colocando en papel de estraza correspondientes al tratamiento y repetición.

d) Número de entrenudos

Esta variable se determinó de manera manual, una vez que se quitaron las hojas de la planta dejando solamente el tallo, registrando el total de entrenudos por planta.

e) Área Foliar

Se determinó cortando todas las hojas de la planta desde la base del pedúnculo, se utilizaron navajas de bisturí para facilitar la actividad y evitar dañar las hojas. La medición se llevó a cabo con un medidor de AF óptico estacionario de la marca LICOR, modelo LI-3100C Area Meter, diseñado para realizar mediciones exactas de hojas grandes y pequeñas.

3.10 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las variables evaluadas en el bioensayo 1 y 2, fueron sometidos a un análisis de varianza bajo los diseños mencionados anteriormente, así mismo se realizó una comparación de medias utilizando la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) para el bioensayo 1. Mientras que el bioensayo 2 la comparación de medias se utilizó la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) al 0.05 de probabilidad.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bioensayo 1.

Al efectuar el análisis de varianza, se observó que la aplicación de NPsFe_2O_3 tuvo efectos significativos para las variables longitud de plúmula, longitud de radícula, porcentaje de vigor y de plántulas anormales. Mientras que, en el peso seco de las plántulas, porcentaje de semillas sin germinar y el porcentaje de germinación no fueron afectadas significativamente (Cuadro 3).

La longitud de plúmula y de la radícula aumentó con la aplicación de 200 ppm de NPsFe_2O_3 con respecto al testigo, sin embargo, no hubo diferencia estadística significativa; concentraciones mayores disminuyeron ambas variables (Cuadro 4). Xuan *et al.* (2015), obtuvieron que la aplicación de nanopartículas de hierro en semillas de maní en bajas concentraciones, no tiene efecto en el proceso de germinación, sin embargo, las mediciones de las longitudes de las plántulas tratadas con estos nanomateriales promovieron el crecimiento radicular.

En cuanto a la variable de vigor, las plántulas testigo (0 ppm) resultó ser el mejor en comparación con los demás tratamientos, esto demuestra que la aplicación de NPsFe_2O_3 afecta negativamente el vigor (Cuadro 4). Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Shankramma *et al.* (2016), quienes mencionan que las NPs de Fe_2O_3 promueven el vigor a una concentración de 50 mgL^{-1} , en comparación con el de control, y que disminuyó gradualmente con el aumento de concentración, pero aún era más alta que la del testigo.

El número de plántulas anormales fue mayor en todos los tratamientos con respecto al testigo, observándose un efecto de toxicidad (Cuadro 4). La aplicación de NPsFe_2O_3 provoca una disminución en el peso seco de las plántulas de pepino con respecto al testigo. Todos los tratamientos mostraron pesos menores (Cuadro 4).

Los resultados respecto a la germinación indican que no hubo diferencias significativas entre tratamientos, todos mostraron ser iguales al testigo (Cuadro 4). Por lo tanto,

estos resultados no concuerdan con los obtenidos por Ibarra *et al.*, (2018), quienes mencionan que las NPsFe mejoran el proceso de germinación en concentraciones de 50 ppm a 500 ppm. Por otra parte, Ruiz *et al.*, (2013) mencionan el potencial de toxicidad de las NPs de hierro (Fe), utilizando tres tipos de tamaño de partícula (1 a 20 nm), sobre la germinación de dos especies (cebada y lino). Las NPs de hierro afectaron la germinación, sin embargo, el crecimiento de brotes resultó más sensible a este tipo de condiciones.

Hoang *et al.*, (2019) mencionan que la aplicación de NPs de hierro aplicadas en semillas de un genotipo de maíz común, a una concentración de 4 mg.kg⁻¹ de semilla, aumentó la tasa de germinación significativamente, mientras que el cobalto y el cobre redujeron la tasa de germinación. Por otra parte, las masas frescas y secas indicaron que las partículas de hierro y cobre tienen un impacto positivo en el crecimiento de las plantas.

Estudios previos han demostrado que las nanopartículas de ingeniería, como los nanotubos de carbono, pueden promover la germinación y crecimiento porque las partículas pueden penetrar la testa de la semilla lo que provoca un mayor vigor. Estos resultados demuestran que la aplicación de las NPs afecta el vigor y la germinación de las semillas el vigor disminuyó, así como el porcentaje de germinación.

Estos resultados contrastan a los obtenidos por Ruiz *et al.* (2016), quienes indican que en semillas de pepino y melón la aplicación de NPsCu en concentraciones bajas promueve el vigor y la germinación, teniendo efectos significativos en longitud de tallo y radícula.

Cuadro 3. Cuadros medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo (1) de germinación de semillas de pepino var. SMR58, tratadas con NPsFe₂O₃.

F.V	GL	LP (cm)	LR (cm)	PS (mg/plántula)	Vigor (%)	PA (%)	SSG (%)	Germinación (%)
Tratamiento	6	13.99**	17.68**	9940.11 _{NS}	416.61**	528.95**	21.00*	21.00*
Error	21	0.34	1.72	3881.72	24.71	19.42	11.00	11.00
CV (%)		6.88	11.72	23.92	8.04	15.90	31.58	3.705

F.V= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; LP= Longitud de plúmula; LR= Longitud de radícula; PS= Peso seco de plántula; Vigor= Plántulas normales al primer conteo; PA= Plántulas anormales; SSG= Semillas sin germinar; Germinación= Plántulas normales al segundo conteo; ERROR= Error experimental; CV= Coeficiente de variación NS= Diferencias no significativas; *= Diferencias significativas (P≤ 0.05); **= Diferencias altamente significativas (P≤ 0.01).

Cuadro 4. Efecto de la aplicación de NPsFe_2O_3 a diferentes concentraciones en semillas de pepino cv. SMR58.

CONC (ppm)	LP (cm)	LR (cm)	PS (mg)	V (%)	PA (%)	SSG (%)	G (%)
0	6.32c	10.94a	330.00a	76.00a	10.00d	14.00a	86.00a
50	9.79a	11.83a	238.75ab	59.00b	32.00b	9.00a	91.00a
100	5.60c	6.66b	216.25ab	42.00c	48.00a	10.00a	90.00a
200	10.22a	13.05a	184.50b	63.00b	26.00bc	11.00a	89.00a
400	9.86a	11.78a	275.50ab	63.00b	29.00bc	8.00a	92.00a
800	9.58a	11.95a	291.25ab	63.50b	28.00bc	8.50a	91.50a
1600	8.05a	12.24a	287.00ab	66.00ab	21.00c	13.00a	87.00a
Anova	0.0001	0.0001	0.05	0.0001	0.0001	0.127	0.127
Tukey ^{a05}	1.34	3.02	143.21	11.43	10.13	7.62	7.62
C.V	6.89	11.72	23.92	8.05	15.90	31.58	3.70

CONC= Concentración; ppm= partes por millón; LP= Longitud de plúmula; LR=Longitud de radícula; PS=peso seco; V=vigor; PA=plántulas anormales; SSG=semillas sin germinar; G= germinación.

Bioensayo 2.

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza (Cuadro 5), para las variables evaluadas en cuanto a la respuesta fisiológica de plantas de pepino en condiciones de malla sombra, indican que, en las variables número de flores masculinas y área foliar se encontraron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$), mientras que para las variables número de flores femeninas, número de guías y número de entrenudos solo mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos. Por otra parte, para la variable longitud de tallo no mostró diferencias estadísticas significativas, ya que las plantas obtuvieron una altura promedio estadísticamente igual.

En la comparación de medias por tratamiento (Cuadro 6), se observó para el número de flores masculinas, que, al aplicar una concentración de 2000 ppm vía foliar y 500 ppm vía drench, se obtuvo una mejor respuesta con respecto al testigo, sin embargo, la aplicación de una concentración mayor en las dos formas de aplicación disminuye el número de flores masculinas, esto se debe a que un alto suministro de NPsFe_2O_3 puede causar una fitotoxicidad en la planta. Por otra parte, para el número de flores femeninas se encontró que la concentración de 1000 ppm aplicados por ambas vías se obtuvo el mejor resultado, en comparación con los demás tratamientos, concentraciones menores a esta, la respuesta en el número de flores féminas es menor, así mismo una concentración mayor tiene el mismo efecto.

Para la variable longitud de tallo no se encontraron diferencias estadísticas, pero si numéricas entre tratamientos, siendo la concentración de 1000 ppm vía foliar y 500 ppm vía drench la que mayor longitud de tallo mostró, con respecto a los demás tratamientos, incluso el testigo (Cuadro 6). Estos resultados son similares a los obtenidos por (Li *et al.*, 2015) quienes mencionan que una dosis alta de nanopartículas de hierro puede tener efectos negativos en el crecimiento de las plantas y la biomasa total en el crecimiento de cacahuete.

Otro estudió por Izad *et al.* (2019), obtuvieron que la aplicación de NPsFe_3O_4 en palma aceitera a diferentes concentraciones (0, 800, 1600, 2400 mg L^{-1}), no influyó en la altura de la planta, el diámetro del tronco, la biomasa total y el número de hojas. Yuan *et al.* (2019) obtuvieron que las plantas de *Capsicum annuum* tratadas con NPsFe a 0.05 mML^{-1} , promovieron el crecimiento de las plantas teniendo la mayor altura entre los demás tratamientos. Mientras que Siddiqi *et al.* (2017), demostraron que las longitudes de tallo de espinacas bajo diferentes concentraciones de Fe_2O_3 (100, 150, 200 mgL^{-1}), fue 2.27 veces mayor que el testigo después de 45 días.

El número de guías tuvo mejor respuesta al aplicar una concentración de 500 ppm vía drench (Cuadro 6), el aumento en la concentración de NPsFe_2O_3 suministrados tanto foliar como en drench afecta negativamente el desarrollo de guías en las plantas de

pepino. Para la variable número de entrenudos se obtuvo que al aplicar una concentración de 2000 ppm vía foliar y 1000 ppm vía drench se obtienen efectos favorables en el desarrollo de entrenudos, este tratamiento resultó ser mejor numéricamente en comparación con los demás tratamientos y el testigo (Cuadro 6). Un estudio por Mendez *et al.* (2007), mencionan que las plantas sometidas a la aplicación foliar de NPsZnO + Ag al 1.25 y 2.5%, presentaron mayor producción de biomasa seca, crecimiento de la parte aérea y radicular en comparación con el testigo.

En los resultados obtenidos por Banijamali *et al.* (2019), se menciona que el efecto de diferentes niveles de Fe₃O₄ / HA NPs tuvieron diferencias significativas en los parámetros vegetativos del crisantemo. La mayor altura de tallo se obtuvo con una concentración de 20 mg L⁻¹ con 38% de las demás concentraciones, mientras que el número de hojas aumento significativamente un 78 % en comparación con las demás concentraciones. En las mismas condiciones, el peso máximo de brotes frescos y secos por planta fue a partir de 20 mg L⁻¹ de Fe₃O₄ / HA NPs.

El área foliar mostró una mejor respuesta al aplicar 2000 ppm foliar y 1000 ppm en drench, siendo este el mejor tratamiento para esta variable, el aumento en las concentraciones de NPsFe₂O₃ para ambas formas de aplicación tiene efectos negativos en el área foliar de las hojas, si se reducen las concentraciones en comparación con las ya mencionadas los efectos siguen siendo negativos (Cuadro 6). Abdeldaym (2019) obtuvo que las variables altura de planta, área foliar, peso seco y fresco de la raíz, diámetro de la raíz, clorofila total y rendimiento en rábano rojo, mostraron los valores más altos cuando se aplicaron 9.6 tha⁻¹ de estiércol de pollo al suelo más una suplementación foliar de 50 ppm de NPs de FeO y 60 ppm de NPsZnO.

Sin embargo, Yoon *et al.*, (2019) obtuvieron que las plantas de *Arabidopsis* cultivadas en suelo y tratadas con nanopartículas de hierro a una concentración de 500 mg / kg de suelo tenían un incremento del 38% de peso seco y un 53% en área foliar en comparación con los testigos. Estos resultados indican que la presencia de nanopartículas de hierro en el suelo beneficia el brote y crecimiento de las plantas

Sheykhbaglou *et al.* (2010) mencionan que la aplicación de nanopartículas de óxido de hierro a 0.75 g L^{-1} , en comparación con otros tratamientos, tuvieron un efecto máximo sobre el peso seco de la vaina y de la hoja en el cultivo de soya. Así mismo una concentración de 2.5 mg kg^{-1} en el suelo aumentó el peso de la materia seca de la soja, pero los niveles más altos de hierro disminuyeron el crecimiento de la soja.

Cuadro 5. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el bioensayo (2) para las respuestas fisiológicas de plantas de pepino tratadas con NPsFe₂O₃, en condiciones de malla sombra.

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Flores Masculinas	Flores Femeninas	Longitud de Tallo (cm)	Número Guías	Número Entrenudos	Área Foliar (cm ²)
Tratamiento	15	9.25**	4.86*	0.009 _{NS}	2.62*	59.62*	2014960.03**
Error	30	8.15	5.36	0.02	5.87	62.16	1469784.33
CV (%)		38.39	45.93	18.97	33.19	25.06	38.66

ERROR= Error experimental; CV= Coeficiente de variación; NS= Diferencias no significativas; *= Diferencias significativas (P ≤ 0.05); **= Diferencias altamente significativas (P ≤ 0.01).

Cuadro 6. Comparación de medias para las variables fisiológicas en plantas de pepino var. SMR58 tratadas con NPsFe₂O₃ en condiciones de malla sombra.

TRAT (ppm)	FM	FF	LT (cm)	NG	EN	AF (cm ²)
Testigo	6.667bc	3.333b	0.723a	7.333ab	30.667ab	2646abc
1000 F	6.000bc	4.667b	0.740a	6.667ab	26.667ab	2670abc
2000 F	7.000bc	6.000ab	0.816a	7.667ab	34.000ab	3834ab
3000 F	7.667abc	5.667ab	0.740a	7.333ab	31.000ab	2673abc
500D	7.333abc	5.667ab	0.783a	10.000a	32.000ab	4635a
1000F + 500D	8.667abc	5.333ab	0.846a	7.000ab	36.000a	4389a
2000F + 500D	12.000a	5.667ab	0.730a	6.000ab	27.667ab	2938abc
3000F + 500D	4.333c	3.333b	0.633a	6.667ab	25.333ab	1615c
1000 D	6.000bc	4.500b	0.655a	5.500b	28.500ab	2216bc
1000F + 1000D	7.333abc	8.667a	0.766a	8.000ab	35.333a	2925abc
2000F + 1000D	6.333bc	3.667b	0.833a	7.667ab	37.000a	4475a
3000F + 1000D	10.500ab	4.500b	0.730a	7.500ab	33.500ab	2853abc
1500 D	6.333bc	4.333b	0.746a	7.667ab	36.667a	3105abc
1000F + 1500D	8.333abc	5.333ab	0.786a	7.333ab	31.333ab	2719abc
2000F + 1500D	7.000bc	5.000ab	0.690a	7.000ab	21.667b	2729abc
3000F + 1500D	8.000abc	4.667b	0.756a	7.000ab	35.333a	3205abc
\bar{X}	7.43	5.04	0.75	7.30	31.45	3135.172
LSD	4.90	3.98	0.245	4.16	13.55	2117.3

TRAT= Tratamientos; ppm= partes por millón; FM= Flores masculinas; FF= Flores Femeninas; LT= Longitud de tallo; NG= Número de guías; EN= Número de entrenudos; AF= área Foliar; F= Aplicación foliar; D= Aplicación drench; \bar{X} = Media general; LSD= Prueba de diferencia mínima significativa.

V. CONCLUSIONES

Los resultados en este experimento permiten concluir que las NPsFe_2O_3 aplicadas a semillas de pepino var. SMR58 a través de una solución durante el proceso de imbibición, promueven un aumento en la longitud de plúmula respecto al testigo, a una concentración de 50 ppm.

Para las variables vigor de germinación, plántulas anormales, peso seco de plántula y el porcentaje de germinación, los resultados mostraron un efecto de fitotoxicidad por las NPsFe_2O_3 .

Los resultados obtenidos en el bioensayo 2 indican que las plantas tratadas con NPsFe_2O_3 en las dos formas de aplicación tienen efectos positivos para las variables, flores masculinas y área foliar respecto al testigo. Para las variables flores masculinas, longitud de tallo, número de guías y número de entrenudos los resultados fueron estadísticamente iguales, pero diferentes numéricamente entre tratamientos, sin embargo el aumento en las concentraciones de NPsFe_2O_3 causa un efecto de fitotoxicidad en la planta, reduciendo considerablemente todas las variables.

Es importante realizar otros trabajos similares con otras especies y bajo otras condiciones para corroborar los resultados preliminares aquí presentados. Consideramos que la NT es una nueva ciencia que estará abriendo nuevas posibilidades para la fabricación de agronanoproductos, los cuales pueden afectar de manera significativa las respuestas fisiológicas y bioquímicas de semillas y plantas, razón por la cual se deben reforzar estos trabajos.

VI. LITERATURA CITADA

- Abdeldaym, E. A. (2019). Effect of foliar ZnO and FeO Nanoparticles Application on Growth and Nutritional Quality of Red Radish and Assessment of Their Accumulation on Human Health. *Agriculture Pol'nohospodárstvo* 65(1):16-29.
- Agriculturers (2016). Red de especialistas en Agricultura. Nanotecnología: los avances de una ciencia que cree en el agro. Consultado 4 Diciembre 2018. Disponible en: <http://agriculturers.com/nanotecnologia-los-avances-de-una-ciencia-que-crece-en-el-agro/>.
- Banijamali, S. M., Feizian, M., Alinejadian, B, A. and Mehdipour, E. (2019). Effect of Magnetite Nanoparticles on Vegetative Growth, Physiological Parameters and Iron Uptake in Chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*) 'Salvador'. *Journal of Ornamental Plants* 9(2): 129–142.
- Carrillo, R., y Gonzales, M. (2009). La nanotecnología en la agricultura y rehabilitación de suelos contaminados. *Mundo Nano*2(2): 50-63.
- Cheang, J. (2006). Nanotecnología: ¿hacia dónde nos llevará?. Congreso Iberoamericano de Ciencia, Tecnología, Sociedad e Innovación CTS+1: 1–10.
- Dietz, K. J., and Herth, S. (2011). Plant nanotoxicology. *Trends in plant science* 16 (11): 582-589.
- Gutiérrez, C. (2005). Las Nanopartículas: Pequeñas estructuras con gran potencial. *Contacto Nuclear* 15(39): 24–29.
- Hoang, S.A., Nguyen, L.Q., Nguyen, N.H., Tran, C.Q., and Nguyen, D.V. (2019). Metal nanoparticles as effective promoters for maize production. *Scientific Reports* 9: 1–8.
- Ibarra-Cervantes, N. F., De Alba Muñoz, M. F. y Vázquez Núñez, E. (2018). Evaluación del efecto de la presencia de nanopartículas metálicas sobre la nodulación de *Phaseolus vulgaris*. L. cultivado en suelo agrícola. Verano de la investigación científica 4(1): 1164–1169.
- Infoagro (2018). El cultivo del pepino (Parte 1). https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_del_pepino__parte_i_.asp Consultado 5 Diciembre 2018.

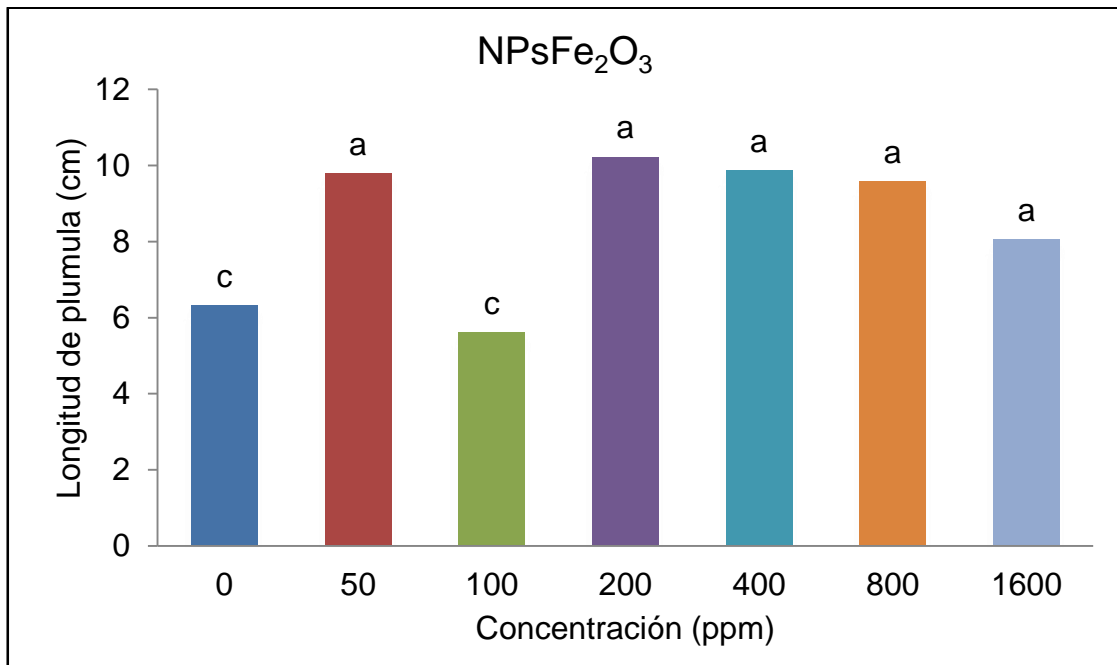
- INTAGRI, (2018). La nanotecnología en la nutrición vegetal. Disponible en: <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/la-nanotecnologia-en-la-nutricion-vegetal>. Consultado 2 de Diciembre de 2018.
- Izad, A. A., Nulit, R., Azurahaman, C., Abdullah, C., and Razak, A. A. (2019). Growth leaf gas exchange and biochemical changes of oil palm. (*Elaeisguineensis Jacq.*) seedlings as affected by iron oxide nanoparticles. *MaterialsSciencie6*: 960–983.
- Juárez, B.H. (2011). Nanopartículas semiconductoras coloidales y aplicaciones. *Real Sociedad Española de Química* 107(3): 229–236.
- Krohling, C. A., Jacob, E. F., Azevedo, B. A., Barroso, D. L., Eliemar, C. T., and Coutinho, R. A. (2016). Ecophysiology of iron homeostasis in plants. *Soil Science and Plant Nutrition*, 62:1, 39-47.
- Lamas, S. (2010). Nanotecnología en agricultura y alimentación. Consultado 23 Noviembre 2018. Disponible en: <https://nanotecnologia.fundaciontelefonica.com/2010/06/11/nanotecnologia-en-agricultura-y-alimentacion/>.
- Li, X., Yang, Y., Gao, B., and Zhang, M. (2015). Stimulation of Peanut Seedling Development and Growth by Zero-Valent Iron Nanoparticles at Low Concentrations. *PLoS ONE* 10(4): 1–12.
- Lim, T. K., and Lim, T. K. (2012). *Cucumis sativus*. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*: 239–249.
- López-Elías, J., Rodríguez, J. C., Huez L., M. A., Sergio Garza, O., José Jiménez, L., y Leyva E. E. I. (2011). Producción y calidad de pepino (*Cucumis sativus L.*) bajo condiciones de invernadero usando dos sistemas de poda. *Idesia*, 29(2): 21–27.
- Lugo, E., García, C., y Ruelas, R. (2010). Nanotecnología y nanoencapsulación de plaguicidas. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable* 6(1): 63–67.
- Mármol, J.R. (2011). Cultivo Del Pepino En Invernadero. Editora Ministerio De Medio Ambiente y Medio Rural y Marino: 50 p.
- Mejias, Y., Cabrera, N., Ana, T., y Orgel, D. (2009). La nanotecnología y sus posibilidades de aplicación en el campo científico-tecnológico. *Revista Cubana de Salud Pública* 35 (3): 1–9.

- Méndez, B., Lira, H., y Vera, I. (2016). Respuestas Fisiológicas de Plantas Cultivadas en Bioespacios por Efecto de Nanofertilizantes y Zeolita. *Agronano tecnología: Nueva frontera a la revolución verde*. 62–79.
- Méndez, B., Vera, I., Mendoza, E., García, L., Puente, B., y Lira, H. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicumannuum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Revista Electrónica Nova* 8(17): 140–156.
- Molina, B. (2017). Caracteres Morfológicos y Fisiológicos en el Cultivo del Pepino Obtenidos Mediante Dos Técnicas de Injerto. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 57 p.
- Moreno, K. (2017). Aplicación foliar de nanopartículas de zinc, cobre y hierro como estimulador en el desarrollo de plántulas de tomate. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 35 p.
- Muñoz, N. (2015). Respuesta del Cultivo de Pepino (*Cucumissativus L.*) a la Nutrición Química y Orgánica bajo Riego por Goteo. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Agrarias. 49 p.
- Nelson, G., y Kantuta, C. (2010). Nanotecnología Conceptos Generales. *Revista de Información Tecnología y Sociedad*: 7–9.
- Noval, V. E., Cristian, O. P., y José G. C., Magnetita (Fe_3O_4): Una estructura inorgánica con múltiples aplicaciones en catálisis heterogénea. *Revista Colomb. Quimic.* 46(1): 42-59.
- Nutrian, (2016). Nutrientes nanotecnológicos: La agricultura del futuro. *Agricultura*. <https://docplayer.es/81827575-Nutrientes-nanotecnologicos-la-agricultura-del-futuro.html>. Consultado 7 de diciembre de 2018.
- Ponce, R. (2016). Promoción de la germinación en semillas y crecimiento de plantas de *Lycopersicumesculetum* por Nanopartículas de Óxido de Zinc. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coahuila. 40 p.
- Quintana, M., Hirschbein, L. y Pérez E. (2008). Nanopartículas: Principios y aplicaciones. *Revista Ciencia y Desarrollo* 3(221): 62-67.
- Rico, C. M., S. Majumdar, M. Duarte-Gardea, J. R. Peralta-Videa, J. L. Gardea-Torresdey. (2011). Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. *J. Agric. Comida Chem* 59(8): 3485-3498.

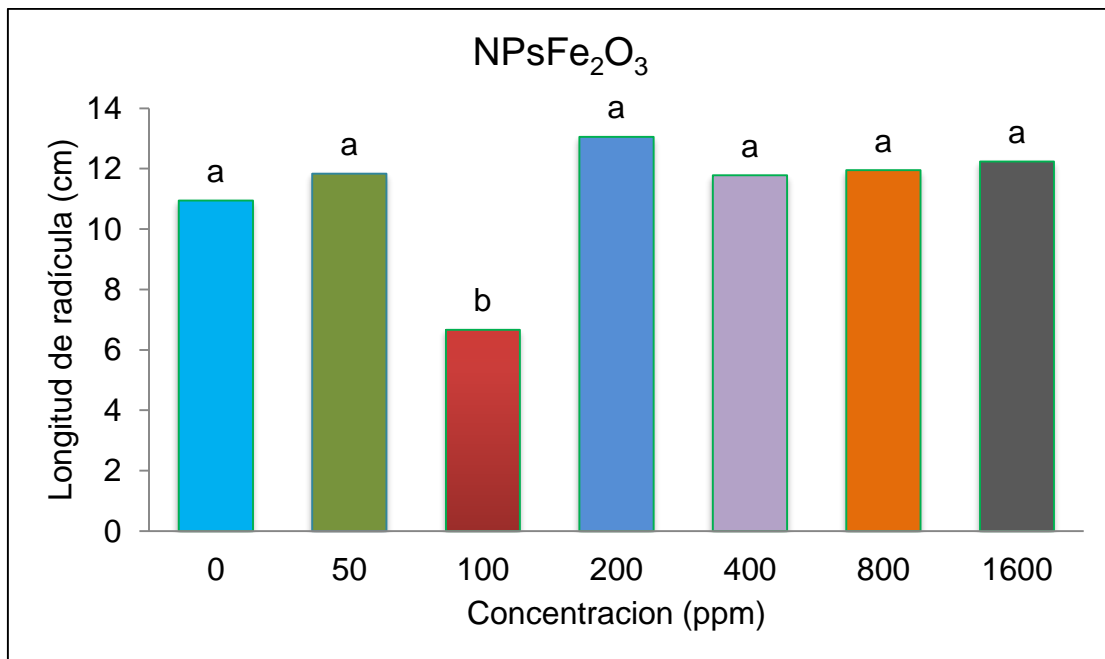
- Rodriguez, S. J. C., Barazorda, M. I., Pollack, V. L., Contreras, Q. M., y Aldama, R. C. W. (2018). Citotoxicidad y genotoxicidad de nanopartículas de oro sintetizadas por ablación láser sobre *Allium cepa* L. (Amaryllidaceae) *Arnaldoa*, 25(3): 1015–1026.
- Rubicel, M. V. (2010). Comparación del método de siembra del pepino (*Cucumis sativus* L.) con dos tipos de acolchado plástico y riego por goteo. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo. Coahuila. México. 70 p.
- Ruiz, N., García, J., Lira-Saldivar, R. H., Vera, I., y Méndez, B. (2013). Efecto de Nanopartículas Metálicas y Derivadas del Carbón en la Fisiología de Semillas. 2° Mini Simposio-Taller Agro nanotecnología, 53(9): 20.
- Ruiz, N., García, J., Lira-Saldivar, R. H., Vera, I., y Méndez, B. (2013). Efecto de Nanopartículas Metálicas y Derivadas del Carbón en la Fisiología de Semillas. 2° Mini Simposio-Taller Agronotecnología, 53(9): 20.
- Salachna, P., Byczynska, A., Zawadzinska, A., Piechocki, R., and Mizielińska, M. (2019). Stimulatory Effect of Silver Nanoparticles on the Growth and Flowering of Potted Oriental Lilies. *Agronomy*, 9(10): 610.
- Shankamma, K., Yallappa, S., Shivanna, M. B., and Manjanna, J. (2016). Fe₂O₃ magnetic nanoparticles to enhance *S. lycopersicum* (tomato) plant growth and their biomineralization. *Applied Nanoscience (Switzerland)* 6(7): 983–990.
- Sheykhbaglou, R., and Sedghi, M. (2010). Effects of Nano-Iron Oxide Particles on Agronomic Traits of Soybean. *Notulae Scientia Biologicae* 2(2): 112–113.
- Siddiqi, K. S., and Husen, A. (2017). Plant Response to Engineered Metal Oxide Nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*: 1-18.
- Srilatha, B. (2011). Nanotechnology in Agriculture. *Journal Nanomedic Nanotechnology*, 2: 123-128.
- Totorsa, G. (2012). Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect pests *Applied Microbiology and Biotechnology* 94(2): 287-293.
- Yoon, H., Kang, Y. G., Chang, Y. S., and Kim, J. H. (2019). Effects of zero valent iron nanoparticles on photosynthesis and biochemical adaptation of soil-grown *Arabidopsis thaliana*. *Nanomaterials* 9(11): 1-13.

Yuan, J., Chen, Y., Li, H., Lu, J., Zhao, H., Liu, M. and Glushchenko, N. N. (2018). New insights into the cellular responses to iron nanoparticles in *Capsicum annuum*. *Scientific Reports* 8: 1–9.

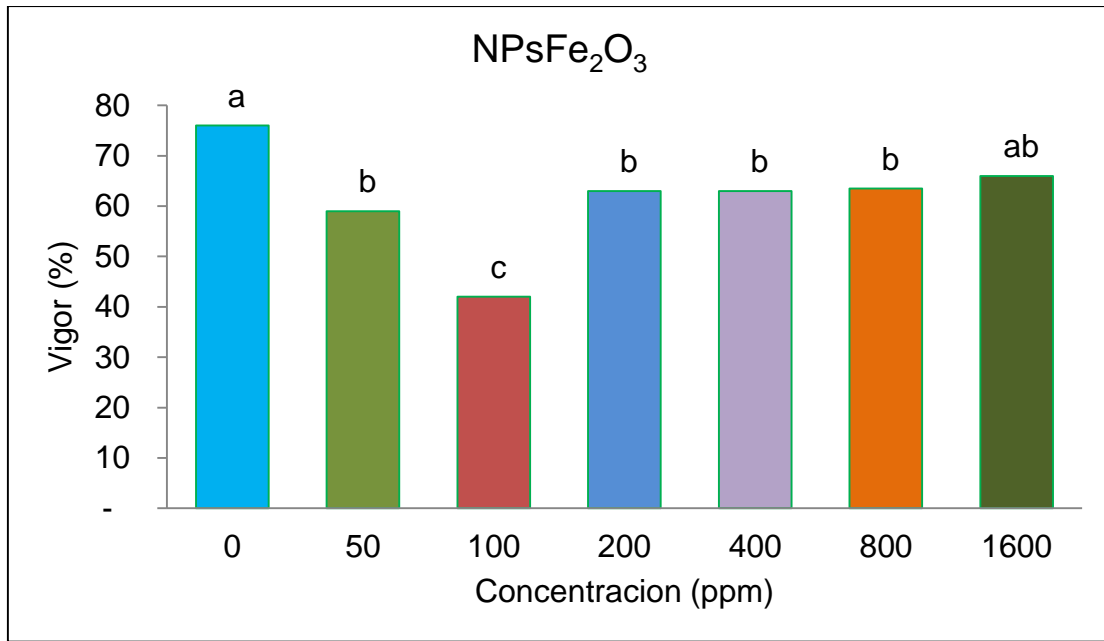
VII. ANEXOS



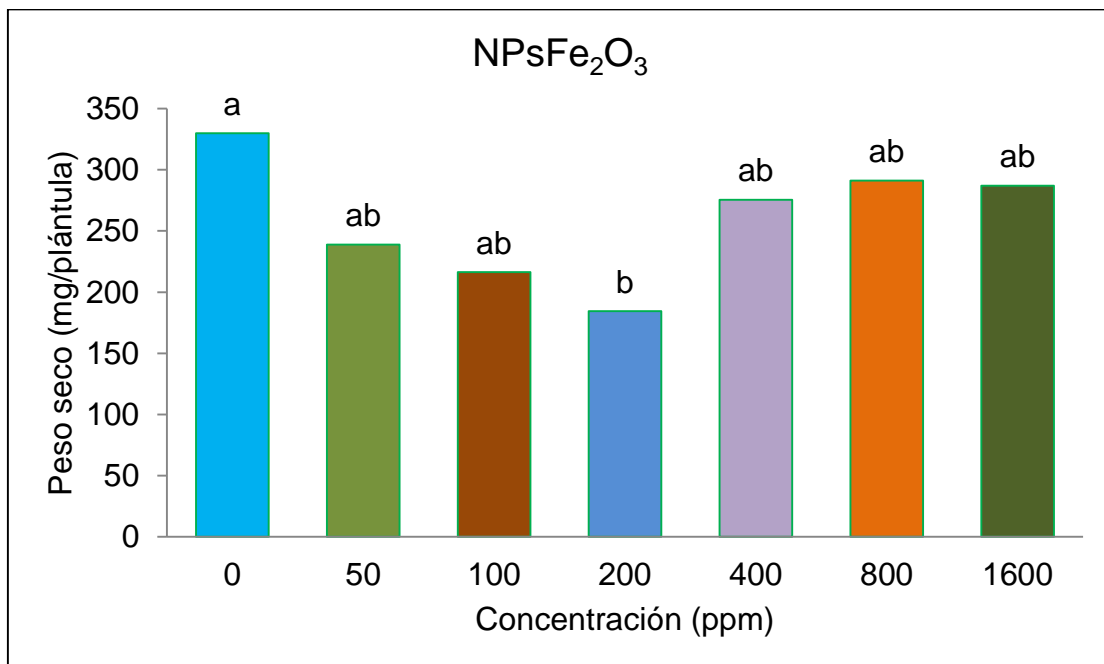
Anexo 1. Longitud de Plúmula (cm) en las diferentes concentraciones de NPsFe₂O₃.



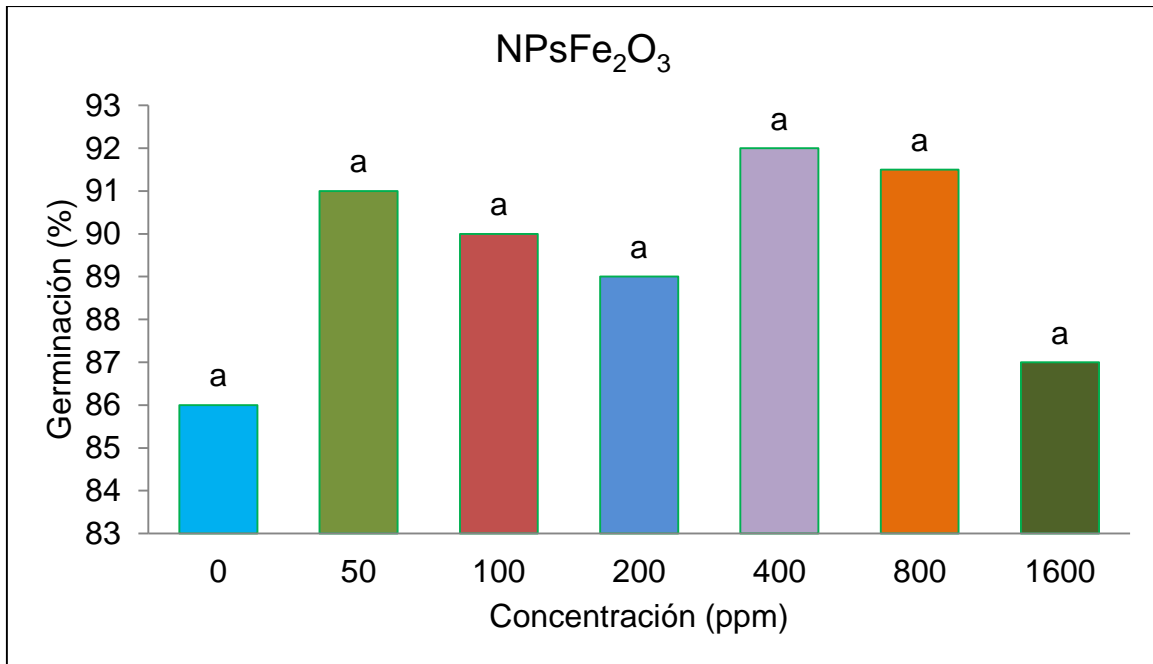
Anexo 2. Longitud de radícula (cm) en las diferentes concentraciones de NPsFe₂O₃.



Anexo 3. Porcentaje de vigor de germinación en las diferentes concentraciones de NPsFe₂O₃.



Anexo 4. Peso seco (mg/plántula) en las diferentes concentraciones de aplicación de NPsFe₂O₃.



Anexo 5. Efecto de las diferentes concentraciones de NPsFe₂O₃ en el porcentaje de germinación en semillas de pepino.

