



Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dirección de Investigación

Subdirección de Programación y Evaluación

Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Sede	División:	Agronomía	Departamento:	Fitomejoramiento
Tema estratégico (ANA/PEP):	Innocuidad Alimentaria				
Línea de investigación:	Producción de semillas				
Título del proyecto:	Respuesta fisiológica y bioquímica de la germinación, el vigor y el desarrollo de plantas, a la aplicación de nanopartículas.				
Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000)	50,000.00	El proyecto es:	Nuevo	Continuación	x
Tipo de investigación:	Básica	Aplicada	x	Tecnológica	e-mail del responsable
Vinculación:	Si	x	No	Fondos concurrentes:	En especie
Cooperante(s):	CIQA				
Entidad (es):	Coahuila	Municipio (s):	Saltillo		
Localidades:	UAAAN, CIQA				
A realizar durante el(los) año(s):	2018				
Participantes		Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma	
Responsable	Dra. Norma A. Ruiz Torres	425105011	3163		
Colaborador:	Dra. Ileana Vera Reyes	CIQA			
Colaborador:	Dr. Hugo Ricardo Lira Saldivar	CIQA			
Colaborador:	Dr. Froylán Rincón Sánchez	425105011	3162		
Colaborador:	Dr. Bulmaro Méndez Arguello	CIQA			
Colaborador:	Dr. Juan Manuel Martínez Reyna	425105011	2930		
		Grado por obtener	Matrícula	Firma	
Tesista:	Marco Antonio Galindo Rivas	Licenciatura	41143579		
Programa Docente:	Ing. Agrónomo en Producción				
Tesista:	Heriberto Reyes Fernández	Licenciatura	41143512		
Programa Docente:	Ing. Agrónomo en Producción				
Tesista:	Adán Gutiérrez Ramírez	Licenciatura	41133521		
Programa Docente:	Ing. Agrónomo en Producción				
	Vo. Bo.	Autoriza			
Firma y sello					
Nombre	Dr. Alfonso López Benítez		Dr. Armando Robledo Olivo		
	Jefe de Departamento Fitomejoramiento		Subdirector de Programación y Evaluación		

- Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo



Protocolo para Proyecto de Investigación 2018

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Respuesta fisiológica y bioquímica de la germinación, el vigor y el desarrollo de plantas, a la aplicación de nanopartículas.

50,000.00

2.- Introducción

La nanotecnología comprende el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales en tamaño de millonésimas de metros (nanómetros). Cuando se manipula la materia a esta escala, presenta propiedades únicas, y estas dependen de su tamaño, forma y distribución dentro de la muestra. Estos factores se pueden modificar al variar el tipo de ion y la dosis. Las nanopartículas son actualmente utilizadas en diversos productos industriales, tecnológicos, médicos y agrícolas. Dentro de los procesos en los cuales participan las nanopartículas están la purificación del agua, tratamiento de aguas residuales, remediación ambiental, procesamiento y envasado de alimentos, aplicaciones industriales, y en la medicina, entre otros. En la agricultura, se han utilizado para el mejoramiento de los cultivos y liberación de diferentes compuestos como pesticidas logrando aplicar cantidades pequeñas en partes específicas de la planta, sin afectar otros tejidos.

La nanotecnología puede ser una herramienta que permita aumentar la producción por sus propiedades únicas; por ejemplo, mejorar la eficiencia de uso de nutrientes a través de nanoformulaciones de fertilizantes, la atención y el control de plagas, el desarrollo de pesticidas e insecticidas comerciales de nueva generación, reduciendo así la cantidad del producto por aplicar al suelo o al follaje, protegiendo al agroecosistema.

Actualmente se está evaluando la efectividad de la aplicación de diferentes nanopartículas y de micropartículas, como una opción para promover el vigor de germinación de semillas y el crecimiento de plántulas. Resultados obtenidos en diversos estudios indican que las nanopartículas de Zn, Fe, Ti, Si a concentraciones bajas (0-100 ppm), tienen un efecto positivo en el vigor de germinación y en el incremento de tallo y/o radícula. Además de incrementos en los niveles de clorofila.

Objetivos

- Determinar el efecto en la germinación, de la aplicación de nanopartículas de Cu y Fe, a diferentes concentraciones, durante el proceso de imbibición, en semillas de maíz y pepino.
- Conocer la respuesta fisiológica a la aplicación de nanopartículas de Cu, en plantas de maíz, cultivadas en invernadero.
- Identificar en laboratorio, los niveles de toxicidad por aplicación de nanopartículas de Cu y Fe, durante el proceso de germinación.

Hipótesis

La aplicación de nanopartículas de CuO y Fe₂O₃ en concentraciones bajas, promueve el vigor de germinación, y el crecimiento de plántula, por su función como cofactores enzimáticos.

La aplicación de nanopartículas de CuO y Fe₂O₃ incrementa los niveles de clorofila, por ser iones involucrados en su síntesis.

La aplicación al sustrato de nanopartículas de CuO en concentraciones altas (500-1500 ppm), afecta el crecimiento de plantas, por inhibir la división celular.

3.-Revisión de Literatura

Las propiedades novedosas que muestran las nanopartículas (NPs) han hecho que sean el objeto de estudio de los últimos años. Las NPs son la aplicación más utilizada de la nanotecnología (NT) con dimensiones entre 1 y 100 nm. Poseen propiedades únicas que les dan aplicaciones potenciales en la agricultura. Las NPs de metales nobles como el oro, plata y el cobre, han sido objeto de investigación por sus diversas aplicaciones (Ferrer, 2012). Existen diversos tipos como ultrafinas, aglomerados y agregados, y tienen la capacidad potencial de viajar en el interior de organismos (plantas) que otros materiales o partículas más grandes no pueden hacer. Por lo tanto, se pueden evaluar diversas interacciones de las NPs con fluidos, células y tejidos (Bhattacharyya et al., 2014).

La eficiencia de absorción y los efectos de las NPs sobre las diversas funciones de crecimiento y procesos metabólicos, varían de manera diferenciada entre las plantas (Nair et al., 2010). Considerando lo anterior, Chinnamuthu y Boopathi (2009) muestran que las NPs pueden ser usadas en el manejo de las semillas e indican una variedad de aplicaciones, entre las que incluyen la imbibición con nano-encapsulaciones de cepas específicas de bacterias a lo cual denominan "semillas inteligentes", asegurando el establecimiento en campo, mejorando la productividad de los cultivos. Estos autores también mencionan que la NT ofrece como herramienta la aplicación de NPs, que mejoran la germinación de las semillas y los parámetros fisiológicos relacionados, para optimar la capacidad de absorción, degradación de reservas y división celular. Otros autores (Hashemi y Mousa, 2013; Ullah y Arshad, 2014) mencionan que las semillas tratadas con materiales a nano escala, generan un cambio en la dinámica de la germinación, observándose un incremento en el porcentaje de germinación y el índice de velocidad de emergencia. El periodo de germinación se acelera debido a la mayor disponibilidad de agua, y el porcentaje de germinación final se incrementa, lo cual indica condiciones adecuadas para el crecimiento de las semillas. La clave para el aumento de la tasa final de germinación de las semillas es la penetración de nanomateriales en la semilla (Khodakovskaya et al. 2009). El efecto de las NPs comienza a manifestarse desde la germinación de las semillas, reflejándose en una mayor emergencia y uniformidad que se observa en la germinación final, debido principalmente a la penetración de nanomateriales en la semilla, que permiten aumentar la imbibición de agua y micronutrientes, acelerando la degradación de reservas, y beneficiando a las primeras etapas del proceso germinativo. En estudios realizados por Mahmoodzadeh et al. (2012), evidencian los efectos de titanio a nanoescala con partículas de TiO_2 , reportando una promoción de la germinación del 75 % con la aplicación de NPs (20 nm de tamaño de partícula a 2000 mg L^{-1} de concentración). Najafi et al. (2016) utilizaron como fertilizantes NPs de Fe/SiO_2 en dosis bajas, reportando efectos significativos en la germinación y aumento de longitud del brote en los cultivos del maíz y la cebada. 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).

Savithamma et al. (2012) demostraron que la tasa de germinación de semillas tratadas con NPs de plata es 28 % mayor que la del control. De acuerdo a los autores, la contribución de las NPs fue facilitar el movimiento de agua y nutrientes a través de la cubierta de la semilla para acelerar la germinación de semillas y crecimiento de plántulas.

Sin embargo, los estudios para determinar si realmente es benéfico usar NPs como parte del acondicionamiento de la semilla, son pocos, por lo que se tiene que considerar el concepto de calidad de la semilla, ya que está relacionado con la respuesta germinativa, e implica también aspectos genéticos, fisiológicos y morfológicos (Carvalho y Nakagawa, 2012), por lo que es importante realizar más investigación en este tema.

Estudio I. Efecto de nanopartículas de CuO y Fe₂O₃ en la germinación de semillas y desarrollo de planta de pepino y maíz.

El trabajo se llevará 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". Se utilizará semilla certificada de hortalizas, pero que han estado almacenadas por dos años, esto con la intención de que tengan algún grado de deterioro y que su porcentaje de vigor y germinación se haya reducido en al menos 20 %. Se incluirá semilla de melón, pepino, calabaza y maíz. Se hará un estudio preliminar para conocer la calidad fisiológica de estas semillas, de acuerdo a la ISTA (2012), esto para constatar el nivel de deterioro y, que, al aplicar los tratamientos, se pueda evaluar el efecto promotor de las nanopartículas en la germinación y en el vigor.

Este estudio consistirá de pruebas de germinación y de vigor para cada especie, con la aplicación de diferentes dosis de nanopartículas comerciales de CuO y Fe₂O₃. Inicialmente se realizará la imbibición de la semilla sobre papel filtro en cajas Petri, con soluciones previamente preparadas con diferentes concentraciones de NPs (bajas: testigo, 10, 20, 50, 100; y altas: testigo, 500, 1000 y 2000 ppm) por 24 h. El testigo se tratará con agua destilada. Posteriormente las semillas se sembrarán entre papel Anchor humedecido con agua destilada, y se enrollarán en forma de taco. Se establecerán 6 repeticiones de 25 semillas por cada tratamiento, estas serán colocadas en una canastilla en una cámara germinadora a 25 °C. Se harán dos evaluaciones, la primera al cuarto día después de la siembra, identificando plántulas normales como un indicador de vigor de germinación y la segunda al séptimo u octavo día (dependiendo de la especie), para determinar plántulas normales, plántulas anormales, semillas sin germinar, longitud de tallo, longitud de radícula, peso seco de tallo y de radícula. Antes de obtener el peso seco, se determinará el contenido relativo de clorofila con un SPAD 502 PLUS. El estudio se establecerá en un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Se realizará una comparación de medias por medio de la Prueba de Tukey.

Estudio II. Aplicación de nanopartículas de CuO en concentraciones altas para determinar su efecto en plantas de maíz cultivadas en invernadero.

Semillas de la variedad Jaguan, se sembrarán en macetas de polietileno de 2 L de capacidad. Se utilizará como sustrato una mezcla de vermiculita y perlita 1:1 (v/v). Se aplicará fertilización de fondo con N-P-K al momento de realizar la mezcla de los sustratos. Se realizarán riegos con solución nutritiva Hoagland, eliminando el nutriente que será aplicado en forma de nanopartícula. Cada planta recibirá dosis de CuO de acuerdo al tratamiento correspondiente (0, 500, 1000 y 1500 ppm). Se aplicará insecticidas y fungicidas como tratamientos preventivos.

Se evaluarán las siguientes variables: número de hojas, altura de planta, índice relativo de clorofila, producción de biomasa seca (raíz/tallo). Se realizarán también mediciones de la tasa de asimilación de CO₂, conductividad estomática, CO₂ intercelular y transpiración: estas mediciones se harán utilizando un aparato portátil de fotosíntesis LI-6300 (LI-COR, inc. Lincoln, Nebraska, EUA.).

Para determinar el peso seco, plantas completas se separarán en raíz y tallo, se pondrán en bolsas se papel de estraza y se determinará peso seco a temperatura de 70°C por 72 horas. El bioensayo se establecerá en un diseño completamente al azar, con 6 plantas por tratamiento. Para analizar los datos se

utilizará el programa estadístico SAS versión 9.1.

Cronograma de Actividades para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Adquisición de material y reactivos		x	x	x								
Siembra en laboratorio y aplicación de NPs		x	x	x	x							
Toma de datos		x	x	x	x							
Siembra en invernadero y aplicación de NPs					x	x	x	x				
Toma de datos					x	x	x	x				
Asistencia a congreso				x						x		
Escritura de tesis								x	x	x	x	
Examen profesional												x

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Adquisición de material y reactivos de laboratorio		20	10									
Adquisición material invernadero				10	10							
ESTO ES LO IDEAL												

Duración total del proyecto

Año de Inicio	2018	Año estimado de conclusión	2018
---------------	------	----------------------------	------

5.-Productos Esperados

- 3 tesis de Licenciatura
- 2 ponencias en Congreso
- 1 publicación

6.-Literatura Citada

Bhattacharyya, A., R. Chandrasekar, C.A. Kumar, T.T. Epedi, P. and Shetty. 2014. Application of nanoparticles in sustainable agriculture: Its current status. International book mission. 2: 429-448.

Carvalho, N.M. and J. Nakagawa. 2012. Sementes: ciência, tecnologia e produção. Jaboticabal: FUNEP. 5ta Ed. 590 p.

Chinnamuthu, C.R. and M. Boopathi. 2009. Nanotechnology and Agroecosystem. Tamil Madras Agric. J. 96(1-6):17-31.

Ferrer, T. E. 2012. Investigación en nanotecnología con aplicaciones en microbiología, biotecnología y ciencias. Universidad Interamericana de Puerto Rico. Revista 360° Vol. 12. pp. 1-9.

Hashemi, E. and M. Mosavi. 2013. Effect of anatase nanoparticles (TiO₂) on parsley seed germination (*Petroselinum crispum*) In Vitro. Biol Trace Elem Res 155:283-286.

ISTA (International Seed Testing Association). 2012. Reckenholz, 8046 Zürich, Switzerland. 513 p.

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. doi.org/10.24218/jnat.2015.12. Vol. 1 (3), pp. 14-20.

Khodakovskaya, M., 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* 3(10):3221-3227.

Mahmoodzadeh, H., M. Nabavi, and H. Kashefi. 2013. Effect of nanoscale titanium dioxide particles on the germination and growth of canola (*Brassica napus*). *Journal of Ornamental and Horticultural Plants* 3(1):25-32.

Nair, R., S. H. Varghese, B. G. Nair, T. Maekawa, Y. Yoshida, y D. S. Kumar. 2010. *Nanoparticulate material delivery to plants*. *Plants science*, 179:3. 154-163.

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*. doi:10.1080/03650340.2016.1239016. 24 p.

Savithramma, N., S. Ankanna, and G. Bhumi. 2012. Effect of nanoparticles on seed germination and seedling growth of *Boswellia ovalifoliolata* and endemic and endangered medicinal tree taxon. *Nanovision* 2:61-68.

SAS 9.4. (Statistical Analysis System). 2009. SAS Institute Inc.

Ullah, S. and M. Arshad. 2014. Exposure-Response of *Triticum aestivum* to titanium dioxide nanoparticles application: seedling vigor index and micronuclei formation. *Institute of Environmental Sciences and engineering* 20(1):57-61.