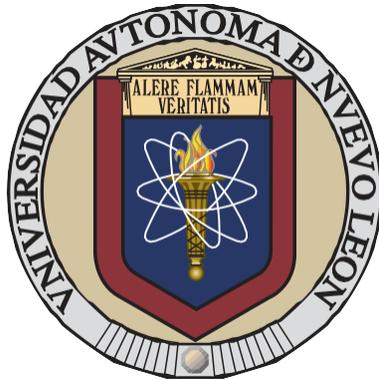


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**EVALUACIÓN FENOTÍPICA Y BIOQUÍMICA DE GENOTIPOS DE MAÍZ (*Zea mays*  
L) BAJO LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE NANOTUBOS DE  
CARBONO Y MgO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRÍA EN  
CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**PRESENTA**

**JUAN ANGEL ESPINOZA ALONSO**

**General Escobedo, N.L.**

**Noviembre 2021**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**EVALUACIÓN FENOTÍPICA Y BIOQUÍMICA DE GENOTIPOS DE MAÍZ (*Zea mays* L) BAJO LA APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE NANOTUBOS DE CARBONO Y MgO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRÍA EN  
CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**PRESENTA**

**JUAN ANGEL ESPINOZA ALONSO**

**General Escobedo, N.L.**

**Noviembre 2021**

ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR



---

Ph. D. Francisco Zavala García  
Asesor Principal



---

Ph. D. Guillermo Niño Medina  
Asesor Auxiliar



---

Ph. D. Sugey Sinagawa García  
Asesor Auxiliar



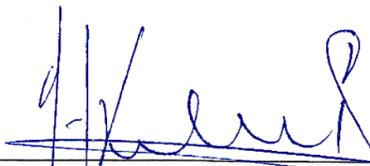
---

Ph. D. Marisol Galicia Juárez  
Asesor Auxiliar



---

Ph. D. Josué Israel García López  
Asesor Auxiliar



---

Ph. D. Juan Antonio Vidales Contreras  
Subdirector de Estudios de Posgrado e Investigación

## DEDICATORIA.

Dedico esta tesis a las personas que me acompañan en la vida, a mi madre **María Juana Alonso Mata**, quien me ha enseñado todo lo que sé, ella me ha impulsado a estar siempre en paz y disfrutar la vida, madre eres la persona que yo más amo y me es placentero sentirte a mi lado terminando esta maestría, en la que participaste siempre presente.

A mi esposo **Emilio Araujo**, quien me ha acompañado y apoyado en este camino, gracias, porque a pesar de estar tan ajeno a esta rama del conocimiento, nunca dudaste en decir sí, cuando necesitaba de tu ayuda y además por impulsarme a seguir.

A mi asesor de Tesis, **Francisco Zavala**, con quién además de relacionarme como estudiante, me permitió hacerlo como ser humano, con dudas e inseguridades que él, siempre ahuyentó.

A mi asesora **Marisol Galicia**, por estar al pendiente de mi desarrollo y ser un pilar en mi formación, dándome seguridad y alentándome, gracias por motivarme.

A mi asesora **Sugey Sinagawa**, por estar al pendiente de las ausencias en mi trabajo de tesis, al técnico de laboratorio, **Jesus Lara**, por apoyarme en la realización de los trabajos asociados y sobre todo a todas las personas, compañeros y empleados involucrados.

## AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi familia, principalmente a mi **madre, a mi padre y a mi esposo.**

A mi director de Tesis, el Dr. **Francisco Zavala García**, quien me acompañó en el camino de estos dos años y me ayudó a crecer académicamente, siempre confió en mis capacidad y las alentó de la manera más positiva que pudo encontrar.

A mis compañeros de la facultad de Agronomía, quienes, al ver la necesidad de cualquier proyecto, participan activamente con gusto y entusiasmo.

Agradezco también a mis asesoras de Tesis, las Dras. **Sugey Sinagawa y Marisol Galicia**, por su amable atención en el desarrollo de mi tesis y los trabajos que de ella emanaron y por siempre estar en contacto con el lado humano de la actividad.

A todas las personas que conocí y convivieron conmigo durante estos dos años de maestría.

A la vida.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>17</b>
<i>Hipótesis.....</i>	<i>19</i>
<b>1.2. Objetivo General .....</b>	<b>19</b>
<b>1.2.1 Objetivos Específicos.....</b>	<b>20</b>
<b>2 REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>21</b>
<b>2.1 Perspectivas del Maíz.....</b>	<b>21</b>
<b>2.2 Uso de Nuevas Tecnologías, Efectos de Nanopartículas en Ecosistemas</b>	<b>23</b>
<b>2.3 Ejemplos de la Aplicación de Nanopartículas en los Cultivos.....</b>	<b>25</b>
<b>2.4 Metabolismo Secundario y el Efecto de la Aplicación de Nanopartículas</b>	<b>27</b>
<b>2.5 Actividad Antioxidante .....</b>	<b>31</b>
<b>3 MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1 Material Vegetal.....</b>	<b>34</b>
<b>3.2 Material no Vegetal. ....</b>	<b>35</b>
<b>3.3 Métodos .....</b>	<b>35</b>
<b>3.3.1 Establecimiento del Ensayo de Campo .....</b>	<b>35</b>
<b>3.3.1.1. Aplicación de los Tratamientos.....</b>	<b>37</b>
<b>3.3.1.2 Toma de Muestras .....</b>	<b>37</b>
<b>3.3.1.3 Variables Agronómicas.....</b>	<b>38</b>
<b>3.3.2 Establecimiento del Ensayo en Charolas de Germinación. ....</b>	<b>40</b>

3.3.2.1 Variables Agronómicas.....	40
3.3.3 Establecimiento del Ensayo de Charolas de Germinación con Aplicación de Estrés de Sequía y Alta Temperatura .....	44
3.3.3.1 Variables Agronómicas.....	45
3.4 Análisis Estadístico .....	47
3.5 Análisis de Enzimas Antioxidantes .....	49
3.5.1 Extracción de la Enzimas Antioxidantes .....	49
3.5.2 Evaluación de actividad enzimática CAT.....	49
3.5.3 Cuantificación de Polifenoles Totales.....	50
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	52
4.1 Ensayo de Campo.....	52
4.1.2 Determinación de Compuestos Fenólicos y Actividad Antioxidante..	63
4.2 Ensayo en Charolas de Germinación.....	64
4.3 Ensayo de Charolas de Germinación con Aplicación de Estrés de Sequía y Alta temperatura.....	75
4.3.1 Genotipo morado San Luis .....	75
4.3.2. Genotipo Blanco Hualahuises .....	86
5 CONCLUSIONES .....	95
6 RECOMENDACIÓN.....	96
7 BIBLIOGRAFÍA. ....	97

## ÍNDICE DE CUADROS

<b><i>Cuadro 1. Valores de cuadrados medios de las variables agronómicas y de rendimiento en el análisis de varianza (<math>p \leq 0.05</math>).....</i></b>	<b><i>53</i></b>
<b><i>Cuadro 2. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la doble interacción Genotipo X NP X Concentración de la variable peso seco de 100 semillas.....</i></b>	<b><i>54</i></b>
<b><i>Cuadro 3. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la doble interacción Genotipo X NP X Concentración, de la variable volumen de 100 semillas .....</i></b>	<b><i>56</i></b>
<b><i>Cuadro 4. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la doble interacción Concentración X NP X Genotipo, de la variable Diámetro de mazorca .....</i></b>	<b><i>57</i></b>
<b><i>Cuadro 5. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción entre Genotipo X Concentración, de la variable Longitud de la mazorca.....</i></b>	<b><i>58</i></b>
<b><i>Cuadro 6. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción entre NP X Concentración, de la variable Longitud de la mazorca.....</i></b>	<b><i>59</i></b>
<b><i>Cuadro 7. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción entre NP X Concentración de la variable Rendimiento por mazorca .....</i></b>	<b><i>61</i></b>
<b><i>Cuadro 8. Comparación de medias del factor principal Genotipo de la variable número de mazorcas (<math>p \leq 0.05</math>).....</i></b>	<b><i>62</i></b>
<b><i>Cuadro 9. Comparación de medias del factor principal Concentración (<math>p \leq 0.05</math>), de la variable número de mazorcas .....</i></b>	<b><i>62</i></b>
<b><i>Cuadro 10. Comparación de medias del factor principal Genotipo de la variable altura de la mazorca (<math>p \leq 0.05</math>) .....</i></b>	<b><i>63</i></b>

<b>Cuadro 11. Valores de cuadrados medios de las variables agronómicas y de rendimiento (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>64</b>
<b>Cuadro 12. Valores de cuadrados medios de las variables consideradas en el estudio de charolas.....</b>	<b>66</b>
<b>Cuadro 13. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple Genotipo X NP de la variable Masa seca de la semilla (MSS).....</b>	<b>67</b>
<b>Cuadro 14. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple NP X Genotipo de la variable reducción de reservas de la semilla.....</b>	<b>68</b>
<b>Cuadro 15. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple NP X Genotipo de la variable Eficiencia de conversión de reservas de la semilla (E CRS).....</b>	<b>69</b>
<b>Cuadro 16. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple NP X Genotipo de la variable tasa de movilización de reservas a la plántula (TMRP) 70</b>	
<b>Cuadro 17. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple NP X Genotipo de la variable gasto energético .....</b>	<b>70</b>
<b>Cuadro 18. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple NP X Concentración de la variable peso seco de raíz (PSR) .....</b>	<b>72</b>
<b>Cuadro 19. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple NP X Concentración de la variable reducción de reservas de las semillas.....</b>	<b>72</b>
<b>Cuadro 20. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple NP X Concentración de la variable tasa de reducción de la reservas de la semillas .</b>	<b>73</b>

<b>Cuadro 21. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable peso seco de plántula (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>74</b>
<b>Cuadro 22. Valores de cuadrados medias del genotipo morado San Luis en la comparación de condiciones de sequía y condiciones normales .....</b>	<b>77</b>
<b>Cuadro 23. Comparaciones de medias de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo total de plántula (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>78</b>
<b>Cuadro 24. Comparaciones de medias de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo de plántula.....</b>	<b>78</b>
<b>Cuadro 25. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable peso seco de semilla (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>80</b>
<b>Cuadro 26. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable peso seco de raíz (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>80</b>
<b>Cuadro 27. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable actividad enzimática catalasa (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>81</b>
<b>Cuadro 28. Valores de cuadrados medios del genotipo morado San Luis en la comparación de condiciones de alta temperatura y condiciones normales .....</b>	<b>82</b>
<b>Cuadro 29. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo total de plántula.....</b>	<b>83</b>
<b>Cuadro 30. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo plántula .....</b>	<b>83</b>

<b>Cuadro 31. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo de raíz.....</b>	<b>85</b>
<b>Cuadro 32. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable actividad enzimática catalasa (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>86</b>
<b>Cuadro 33. Valores de cuadrados medios del genotipo Blanco Hualahuises en la comparación de condiciones de sequía y condiciones normales .....</b>	<b>87</b>
<b>Cuadro 34. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable peso seco de semilla .....</b>	<b>88</b>
<b>Cuadro 35. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable largo total de plántula (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>89</b>
<b>Cuadro 36. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable largo de plántula (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>89</b>
<b>Cuadro 37. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable Peso seco de la semilla .....</b>	<b>89</b>
<b>Cuadro 38. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable actividad enzimática catalasa (<math>p \leq 0.05</math>).....</b>	<b>90</b>
<b>Cuadro 39. Comparación de medias del factor principal Nanopartícula de la variable Peso seco de raíz.....</b>	<b>90</b>
<b>Cuadro 40. Valores de cuadrados medios del genotipo Blanco Hualahuises en la comparación de condiciones de alta temperatura y condiciones normales.</b>	<b>92</b>

<b><i>Cuadro 41. Comparaciones de medias (<math>p \leq 0.05</math>), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable compuestos fenólicos .....</i></b>	<b><i>93</i></b>
<b><i>Cuadro 42. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable actividad enzimática catalasa .....</i></b>	<b><i>94</i></b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Vías del metabolismo secundario de las plantas .....</i>	<b>28</b>
<i>Figura 2. Anillo de fenol e hidroxilo que conforma principalmente a todos los compuestos fenólicos.....</i>	<b>29</b>

## RESUMEN

La importancia del cultivo de maíz en México se debe a que es el cultivo con mayor extensión territorial sembrada y es el motor económico del país por su importancia en el mercado. México es el centro de origen y diversidad del maíz, debido a esto, la gran diversidad de maíces nativos y principalmente pigmentados toma importancia para su estudio, pues las razas pigmentadas producen compuestos fenólicos, que son metabolitos secundarios de importancia económica por los beneficios en actividades del ser humano; pero que, además, promueven la resistencia del cultivo a condiciones de estrés abiótico. Diversas investigaciones han demostrado que la aplicación de nanopartículas, promueven la producción de metabolitos secundarios y del complejo enzimático regulador del estrés oxidativo. En esta investigación se analizó el efecto de la aplicación de nanopartículas funcionalizadas, específicamente con nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con un grupo OH para una de ellas y para la otra con óxido de magnesio, además de una nanopartícula metálica de óxido de magnesio, en la concentración de compuestos fenólicos y su relación con la resistencia a estrés abiótico, llevándose a cabo en tres fases: 1) ensayos de campo y aplicación foliar de las nanopartículas mencionadas, 2) dos ensayos en charolas de germinación, aplicando las nanopartículas como pretratamiento en el proceso de germinación de las semillas de maíz, aplicando estrés abiótico a plántulas de 14 días. Entre los resultados

sobresalen que la aplicación de nanopartículas con componentes metálicos generaron cambios en las variables que se asocian al rendimiento y cambios fisiológicos en las plantas, además los resultados indican que la aplicación de nanopartículas en un cultivo agrícola, deben realizarse de manera específica, describiendo previamente la interacción entre el cultivo y la nanopartícula, es por eso la importancia que tienen investigaciones como esta, ya que describen la interacción específica de ciertas nanopartículas con genotipos específicos; además la aplicación de las nanopartículas utilizadas en este ensayo no provocaron efectos tóxicos o negativos para el desarrollo vegetal.

## **ABSTRACT**

The relevance of corn production in Mexico lies on it being the crop with the largest territorial extension and being an economic engine due to its importance in the market. Mexico is the center of origin and diversity of corn, this is the reason why the native and pigmented corns are relevant to being studied, these kinds of corns produce phenolics compounds, secondary metabolites, these compounds have economic importance because the benefits in human health and are associated to abiotic stress resistance in plants.

Many recent investigations have proved the application of nanoparticles promotes secondary metabolites production and the oxidative stress enzymatic complex. In this investigation the effects of application of nanoparticles was analyzed specifically with Multi-walled Carbon Nanotube functionalized with an OH group for one of them and Magnesium oxide for the other one, additionally a metal nanoparticle of magnesium oxide, in concern of phenolics compounds concentration and its association with the stress abiotic resistance carrying on three phases: 1) Field trial with foliar application of the nanoparticles described above, 2) two assays at seedlings of 14 days, applying nanoparticles as pretreatment in germination process of corn seeds.

The results stood out that nanoparticles application with metallic components generate changes in physiological and yield variables, also the results indicate the nanoparticles application in crops should be realized specifically between the target crop and the nanoparticle as the analysis made in this investigation, also the nanoparticles used don't generate negative effects for the vegetable development.

## 1 INTRODUCCIÓN

La importancia del cultivo de maíz en México se debe a que es el cultivo con mayor extensión sembrada y además es motor económico en el país, por su importante participación en la dieta de los mexicanos. México es el centro de origen y diversificación del maíz y es debido a esto, la focalizada atención puesta en la conservación de su diversidad y en su producción, pues en los últimos años, con el incremento en las temperaturas en las zonas agrícolas, la escasez de agua, la alta temperatura y la susceptibilidad a nuevas plagas, han provocado pérdidas en el rendimiento y calidad del grano de este cereal (Kato et al., 2009). Diversos programas de mejoramiento genético se llevan a cabo para desarrollar nuevas variedades, con características que puedan mitigar los efectos de las condiciones climáticas adversas, como el desarrollo de organismos genéticamente modificados, mejoramiento genético utilizando la diversidad de los centros de origen y el uso de la maquinaria bioquímica de la planta. (Calanca, 2017)

Dentro de la diversidad en el cultivo del maíz, se cuenta a los maíces de granos pigmentados de color morado, amarillo, naranja y blanco, entre otros. Las diferentes pigmentaciones que se presentan toman importancia dentro de este estudio y en

particular la de los maíces de granos morados debido a la presencia de compuestos fenólicos, que son pigmentos hidrosolubles y se encuentran en diferentes plantas cumpliendo diversas funciones bioquímicas, por ejemplo: confieren resistencia a la radiación ultravioleta y también actúan atrayendo insectos polinizadores (Chalker-Scott, 1999), entre muchas otras. Las antocianinas se encuentran en los tejidos de la planta y los granos, son un metabolito secundario con una gran importancia económica por los beneficios en diferentes actividades del ser humano, como lo son su uso en cosméticos y en la dieta humana como estabilizadores de radicales libres; su presencia se ha visto relacionada con la capacidad de promover en los cultivos, la resistencia a condiciones de estrés abiótico, incluyendo al cultivo de maíz.

De acuerdo a los resultados de Adhikari *et al.* (2012), la expresión fenotípica en la producción de estos pigmentos pueden afectarse por la aplicación de nanopartículas a las plantas; las nanopartículas son ampliamente utilizadas en la industria y la comercialización de productos, lo que ha ocasionado su entrada a los ambientes naturales causando efectos potenciales en las funciones de los ecosistemas y su estructura, por esta razón han tomado relevancia en la agricultura, y los efectos en los cultivos de alto interés agrícola. Hoy en día diversas investigaciones tales como las de Fox *et al.* (2020) y Haghghi *et al.* (2014) han demostrado que la aplicación de nanopartículas, mediante agregados en suelo, soluciones hidropónicas y aplicación foliar, promueven incrementos en la producción de biomasa producida, por lo que se busca utilizarlos como fertilizantes en cultivos de interés como cereales y hortalizas.

Además, parece que su aplicación produce un aumento en la concentración de metabolitos secundarios como en los compuestos fenólicos, lo cual pudiera ayudar a conferir respuestas favorables en las plantas bajo condiciones de estrés abiótico y disminuir los efectos negativos del cambio climático, manifestado a través de un aumento de la temperatura y menores cantidades de precipitación, entre otros.

Debido a las evidencias presentadas para el desarrollo de este trabajo, se plantea la siguiente hipótesis.

### **1. Hipótesis.**

La aplicación de nanopartículas tales como los nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con un grupo OH, nanotubos de carbono de pared múltiple con óxido de magnesio y nanopartículas metálicas de óxido de magnesio a las plantas de maíz induce un aumento en la producción de compuestos fenólicos generando una respuesta favorable al estrés por sequía y alta temperatura.

Para la prueba de esta hipótesis se desarrolló el presente trabajo con el siguiente objetivo.

### **1.2. Objetivo General**

Comparar el efecto de la aplicación de tres nanopartículas, tales como nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con un grupo OH, nanotubos de carbono

de pared múltiple con óxido de magnesio y nanopartículas metálicas de óxido de magnesio en diferentes concentraciones tales como 100, 150 y 250 mg L<sup>-1</sup> en la producción de compuestos fenólicos en genotipos de maíz y su posible relación con resistencia a sequía y alta temperatura.

### **1.2.1 Objetivos Específicos.**

1. Evaluar la aplicación de las tres nanopartículas mencionadas en la concentración de compuestos fenólicos en tejidos vegetales de la planta de maíz.
2. Identificar la respuesta de la plántula de maíz a la aplicación de las nanopartículas y la resistencia al estrés por sequía y alta temperatura.

**2.1 Perspectivas del Maíz**

El cereal más importante para México es el maíz, debido a que se encuentra involucrado en la alimentación humana, ganadera y procesos industriales; fue evolucionando a partir del teocintle desde hace más de 10 mil años y por eso se dice que nuestra nación es denominada como centro de origen de esta especie, pues se domesticó en cuatro zonas del territorio nacional, siendo el más reconocido el que comprende el centro y sur del país llegando hasta América central. El maíz pertenece a la familia *Poaceae*, conocida también como “gramíneas”. Su nombre científico es *Zea mays* y se reporta que en México tenemos un poco más de 60 razas distintas de maíz; es una planta anual, de porte robusto sin ramificaciones y puede alcanzar 4 m de altura, de flores son monoicas, lo que significa que su polinización es cruzada por manipulación física o mediante el transporte del polen por el viento. Posee hojas lanceoladas, alternas, de raíces fasciculadas y llegan a salir del suelo. Como requerimientos ambientales tolera temperaturas de entre 14 y 40 °C, sin capacidad de sobrevivencia a 0 °C por más de 8 horas en el desarrollo vegetativo, con un requerimiento de 5 mm de lámina de agua por día, dependiendo de la etapa de crecimiento, destacando la etapa de floración como la más crítica. La temperatura del suelo para germinar oscila entre los 15 a 20 °C (Arce, 2017).

Según el último reporte publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, la producción de cereales secundarios (considerado el maíz uno de ellos) en el año 2020 se ha incrementado en 6.9 millones de toneladas en el mundo (FAO, 2021) y según el reporte del mercado del maíz de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, la estimación de consumo aumentó en México 0.7 % en el 2019/2020 en comparación al ciclo 2017/2018

México ocupa el séptimo lugar en la producción de maíz a nivel mundial y su principal ciclo productivo es el de primavera-verano con el 71.5 % de la producción anual; en este ciclo, alrededor del 70 % se siembra bajo condiciones de temporal. Con relación a los tipos de maíz, la mayor producción corresponde para el maíz blanco, el cual se destina principalmente para la alimentación humana en la producción de tortillas, tamales, aceites. El maíz amarillo se utiliza principalmente para la alimentación animal y en menor medida para consumo humano. La producción de los maíces pigmentados se reduce a la producción para el consumo comunitario, aunque en los últimos años ha cobrado mayor relevancia por sus propiedades nutraceuticas (CIMA, 2020).

En el año 2019, el maíz tuvo una producción de 27.6 millones de toneladas y se estima que debido a las sequías del último periodo de producción del ciclo otoño/invierno del 2019/2020, los reportes de producción del 2020, cierran con 4.5 % menos, con un aproximado de 26.4 millones; las repercusiones que esto tiene en la economía mexicana, se ven reflejadas en la cantidad de maíz que es necesario importar y de

cómo se aleja de la autosuficiencia, quedando a la expectativa del precio del maíz a nivel internacional; esta tendencia de altibajos, se observa desde años atrás, haciendo responsable al cambio climático y a la ausencia en la inversión dirigida a combatir estos efectos en materia de adaptación abiótica de este cultivo en el país (Del Pilar-Martínez, 2020).

## **2.2 Uso de Nuevas Tecnologías, Efectos de Nanopartículas en Ecosistemas**

Hoy en día, entender el mundo y sus problemáticas se ha vuelto un desafío, por lo tanto, el uso de nuevas tecnologías permite encontrar soluciones novedosas para mitigar las consecuencias de las actividades humanas. La nanotecnología forma parte de estas nuevas tecnologías, es un campo multidisciplinario combinando diferentes disciplinas como la química, física y biología. Las nanopartículas (NP's), se presentan en el ambiente de forma natural, en la formación de minerales en suelos y como productos bacterianos; las nanopartículas tienen características que no están presentes en el elemento en dimensiones normales, y su generación implica mezclar diferentes materiales, además se pueden producir en tamaños, formas, superficies, con distintas propiedades ópticas, térmicas, eléctricas, de pureza y estabilidad, responsables de su reactividad con la biomoléculas.

Las NP's son agregados atómicos o moleculares con dimensiones de entre 1 a 100 nanómetros (nm), que pueden modificar drásticamente sus propiedades fisicoquímicas comparadas con el elemento a escala macrométrica. Dependiendo de su origen, se

pueden distinguir tres tipos según Salama (2012): Naturales, incidentales y por diseño. Las nanopartículas que se encuentran en la primera clasificación han existido desde los inicios de la Tierra y siguen presentándose en el ambiente, pueden ser: polvo volcánico, lunar, mineral, entre otros. Las nanopartículas incidentales, provienen del desecho generado por actividades antropogénicas, toma lugar como resultado de procesos industriales. La última clasificación y en la que se enfoca en esta investigación, serán las nanopartículas especialmente diseñadas para cierto uso, las cuales se clasifican en cuatro tipos o grupos (Ju y Lead, 2008):

1. Los basados en materiales de carbono como los fullerenos, nanotubos de carbono de pared simple y los de pared múltiple.
2. Los basados en metales como los puntos cuánticos, nanopartículas de oro, plata, zinc, aluminio, óxido de zinc, etc.
3. Dendrímeros, los cuales son nano polímeros contruidos a partir de estructuras complejas, capaces de funcionar bajo cierta función química.
4. Los compuestos, los cuales combinan las nanopartículas con materiales que no se encuentran a escala nanométrica y presentan diferentes morfologías como esferas, tubos, etc.

Las NP's son ampliamente utilizadas en la industria y la comercialización de productos, lo que ha ocasionado su entrada a los ecosistemas afectando a plantas y animales; sin embargo, sus efectos en ellos no están del todo descritos (Rana y Kalaichelvan,

2013). Las industrias dedicadas a las pinturas, materiales semiconductores eléctricos, automóviles, cosméticos y medicina son las que liberan más nanopartículas al ambiente debido al mal manejo de los desechos industriales y domésticos. Hay tres grupos de nanopartículas mayormente distribuidas en el ambiente por las actividades industriales, las óxido metálicas ( $\text{TiO}_2$ ), metálicas (Ag, ZnO,  $\text{CeO}_2$ , Cu, CuO, Al, Ni) y las no metálicas: fullerenos, nanotubos de carbono unicapa y multicapa (Rastogi *et al.*, 2017).

La aplicación de la nanotecnología en la agricultura incluye su uso en la formulación de fertilizantes para incrementar el crecimiento, producción y promover la resistencia de la planta a condiciones ambientales; además, como pesticidas para el control de enfermedades y plagas y como sensores para monitorear condiciones ambientales como la calidad del suelo (Servin *et al.*, 2015); las NP's mayormente estudiadas son las metálicas y óxido metálicas por su extenso uso en la industria; un ejemplo de ellas son las compuestas por dióxido de titanio, plata, óxido de zinc, dióxido de cerio, cobre, aluminio, níquel y hierro; algunas NP's no metálicas como los nanotubos de carbonos y los fullerenos también han sido estudiados para evaluar su efecto tóxico en las plantas, aunque otros estudios han demostrado además un efecto benéfico (Tripathi *et al.*, 2015).

### **2.3 Ejemplos de la Aplicación de Nanopartículas en los Cultivos**

En un estudio con arroz (*Oryza sativa*), se evaluó la aplicación de nanopartículas de plata de 18 nm, con periodos de tres riegos constantes durante siete días. Los resultados demostraron que una alta concentración de NP's penetran la pared celular y generan daños en las vacuolas, a diferencia que cuando se tenían en una baja

concentración. Las NP's de plata a concentraciones de  $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ , aceleraron el crecimiento de las raíces, mientras que en concentraciones de  $60 \mu\text{g mL}^{-1}$  inhibieron la capacidad de la raíz para crecer (Mirzajani *et al.*, 2013). Otro estudio realizado por Cvjetko *et al.* (2017) demostraron una relación inversa entre el tamaño de las NP's de plata y la toxicidad, ya que las NP's pequeñas provocaron mayor toxicidad en comparación con aquellas de tamaño mayor.

En otro estudio donde se expusieron plantas de maíz a nanotubos de carbono, el cultivo no manifestó síntomas de estrés ligado a la exposición de dicha nanopartícula; sin embargo, presentaba translocación de los nanotubos del suelo a la raíz, tallo y hojas. Un futuro enfoque de estudio es agregar grupos funcionales activos en la superficie de estos nanotubos para la toma de nutrientes en las plantas, haciendo una función de transporte de dichas NP's (Cano *et al.*, 2016).

En un estudio realizado por Lahiani *et al.* (2013) se analizaron tres concentraciones de nanotubos de carbono de pared múltiple de 15-40 nm de diámetro, suplementando el medio MS con los nanotubos de carbono a 50, 100 y  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$  y por aspersión a la semilla de maíz a 25, 50 y  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Las evaluaciones para el primer experimento resultaron al 10° y 11° día, donde la tasa de germinación y crecimiento se incrementó significativamente en las concentraciones de 100 y  $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ , comparadas con el control (sin tratamiento de nanopartículas) y la menor concentración a  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ , estos mismos resultados se observaron en el segundo experimento de esta

investigación, donde la aspersión de la semilla se evaluó para las mismas variables, teniendo mejores resultados en las dos concentraciones más altas.

#### **2.4 Metabolismo Secundario y el Efecto de la Aplicación de Nanopartículas**

El metabolismo se define como el conjunto de reacciones químicas realizadas por las células de los seres vivos, para sintetizar sustancias complejas o para degradar sustancias complejas y obtener las simples, esto con el fin de llevar a cabo su ciclo de vida. Las plantas, además del metabolismo primario, el cual se presenta en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario (Figura 1), lo que les permite producir compuestos que desempeñan funciones ecológicas, medicinales, pesticidas, de pigmentación y aroma, entre muchas otras, estos se denominan metabolitos secundarios; los metabolitos secundarios no presentan una función única y definida y se encuentran distribuidos en el reino vegetal, presentándose indistintamente en los grupos de plantas.

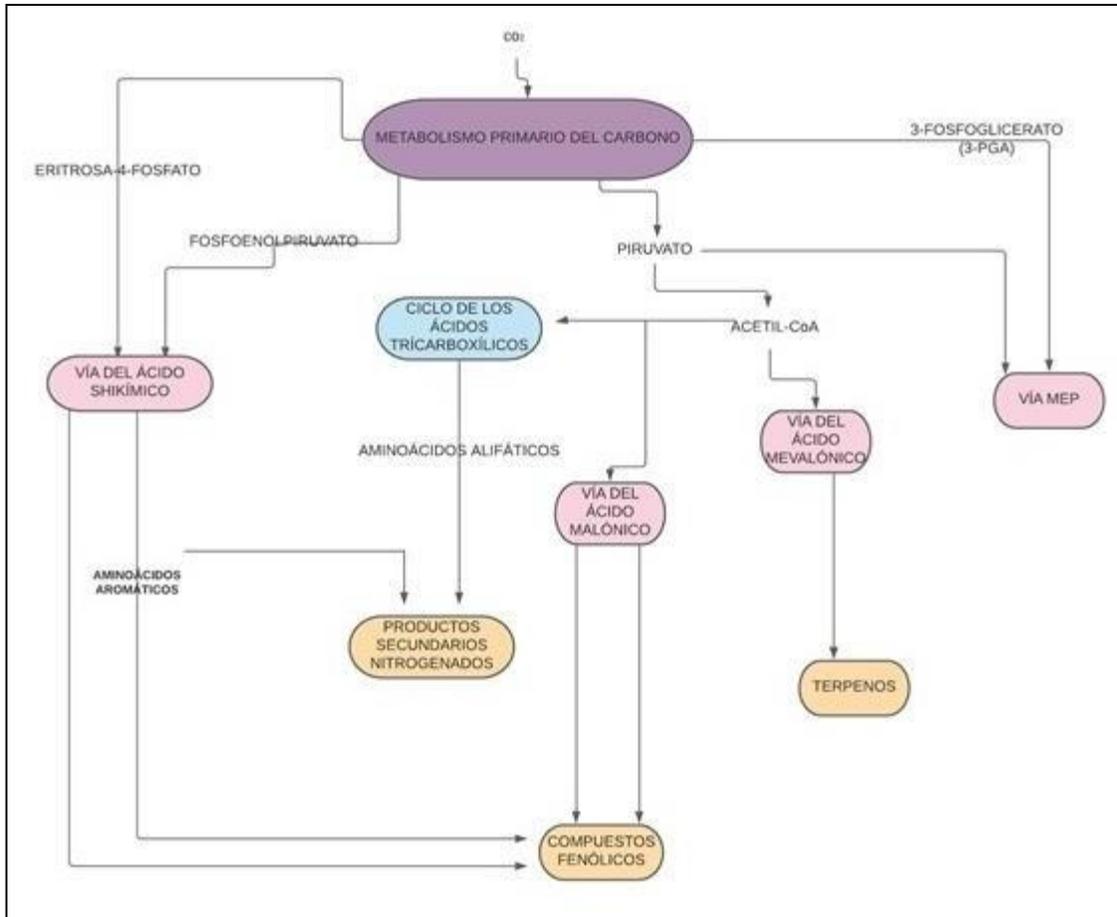


Figura 1. Vías del metabolismo secundario de las plantas que producen los tres tipos generales de compuestos secundarios: productos nitrogenados, productos fenólicos, y terpenoides. También se muestra su relación con el metabolismo primario. "Secondary Metabolites and Plant Defense". En: *Plant Physiology, Fourth Edition*. Sinauer Associates, Inc. 2006. Capítulo 13.

Los metabolitos secundarios se agrupan en cuatro clases principales:

- 1) Terpenos.
- 2) Compuestos fenólicos.
- 3) Glicósidos.
- 4) Alcaloides.

Los compuestos fenólicos contienen al menos un grupo fenol y un grupo hidroxilo en su estructura (Figura 2) comprende moléculas sencillas como ácidos fenólicos hasta polímeros como lignina y taninos. Las rutas básicas implicadas en su formación, son la del ácido malónico (poco empleada por plantas) y la del ácido siquímico (ruta que desencadena la producción de compuestos fenólicos derivados de aminoácidos aromáticos); en esta ruta se sintetizan la mayor parte de los compuestos fenólicos en las plantas, los precursores de ácido siquímico son la eritrosa-4-P y ácido fosfoenolpirúvico, posterior al ácido siquímico se producen aminoácidos aromáticos como la fenilalanina, de donde se derivan la mayoría de los compuestos fenólicos.

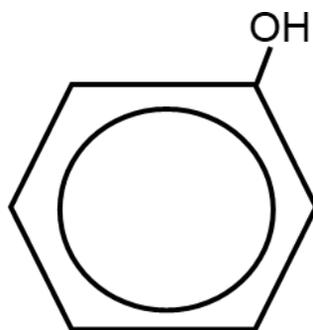


Figura 2. Anillo de fenol e hidroxilo que conforma principalmente a todos los compuestos fenólicos.

Este aminoácido se incorpora a la dieta animal, clasificado como aminoácido esencial (García y Carril, 2011). Estos compuestos se denominan comercialmente como antioxidantes y tienen como función proteger del deterioro que causan los radicales libres oxidantes y son reconocidos por prevenir enfermedades y mejorar la salud humana. El maíz, contiene una gran variedad de compuestos antioxidantes y se producen tanto en el grano, el cual es el producto de interés en la producción comercial

de maíz, como en el rastrojo que queda una vez cosechada la mazorca y es considerado desecho; de este rastrojo, que en México asciende a más de 25 millones de toneladas, es posible encontrar fuentes de compuestos fenólicos, el cual pueda dar valor agregado a productos comerciales como cosméticos, alimentación y en la industria farmacéutica (Vázquez *et al.*, 2017).

En cuanto a la funcionalidad de este metabolismo secundario y su relación con la aplicación de nanopartículas, autores como Tripathi *et al.* (2017) demostraron un efecto benéfico ocasionado por las NP's de plata, el cual se vio reflejado en la producción de enzimas oxidantes y moléculas antioxidantes como un mecanismo de adaptación. Las NP's de cobre y óxido de cobre son otro modelo de estudio importante, pues una alta concentración de estas provocó un desarrollo deficiente de la raíz de ciertos cultivos (Adhikari *et al.*, 2012). Por otra parte, las NP's de cobre han mostrado tener incidencia en la mejora de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en plantas de cebada (Shaw *et al.*, 2014) y diferentes compuestos antioxidantes se incrementaron significativamente en plantas de lenteja y cebada (Song *et al.*, 2016). La exposición a nanotubos de carbono de pared múltiple en concentración de 100 y 250  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en *Satureja khuzestanica* provocaron cambios en la biosíntesis de metabolitos secundarios, con mayor énfasis en compuestos fenólicos totales con relación al control. En conclusión, los contenidos totales de flavonoides y fenólicos alcanzaron un valor de hasta 2.6 a una concentración de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de MWNT, en comparación con el control (Lahiani *et al.*, 2013; Ghorbanpour y Hadian, 2015).

Con base a esta secuencia de aplicar nanopartículas y observar cambios en la producción de metabolitos secundarios, es que los enfoques en la producción de nuevos fertilizantes incluyen el uso de nanopartículas, ya que el uso de enzimas antioxidantes, alta producción de metabolitos secundarios, ajustes osmóticos y cambios en la elasticidad de los tejidos celulares han sido las estrategias utilizadas para aquellas especies vegetales que se encuentran en la clasificación de “Plantas tolerantes a sequía” (Varela *et al.*, 2016), por lo que en esta investigación se busca poder sentar las bases en el control este mecanismo, a través del factor externo de la aplicación de nanopartículas en el cultivo de maíz.

## **2.5 Actividad Antioxidante**

El desarrollo de una planta está estrechamente relacionado con un óptimo ambiente, considerando aspectos nutrimentales, bióticos y abióticos; cuando uno de estos se ve alterado, se presenta lo que denominamos, estrés. La respuesta de la planta al estrés varía según la intensidad de este y se manifiesta en el metabolismo de la planta, en el incremento de la fotorrespiración, alteración en la cadena transportadora de electrones, inhibición en la fotosíntesis y reducción en la producción de biomasa; también los ciclos celulares se ven alterados y la estructura celular se altera para amortiguar los efectos del estrés. Los estrés de tipo abiótico, principalmente son los relacionados al déficit de agua, salinidad, congelación, altas temperaturas y estrés oxidativo; en esta investigación toma importancia el relacionado al estrés hídrico y de altas temperaturas, ya que son las principales causas de pérdidas y déficit en la producción de maíz a nivel nacional (Pandey *et al.*, 2017). Un aspecto importante del

estrés en la planta es la presencia de las especies reactivas de oxígeno (ERO), ya que en bajas concentraciones, juegan un papel importante en las actividades funcionales en la planta en diferentes estados fenológicos; sin embargo, cuando su concentración aumenta como resultado de alteraciones en el organismo en respuesta del estrés, se llega a lo que conocemos como estrés oxidativo, el cual se define como el daño provocado por el efecto de especies químicas reactivas, producto de la reducción del oxígeno molecular que pueden ser radicales libres (Peralta y Volke, 2012).

Las plantas tienen un sistema antioxidante el cual se encarga de mantener la homeostasis de las ERO, este sistema tiene dos componentes: 1) no enzimáticos como los compuestos de ácido ascórbico, carotenoides, compuestos fenólicos, etc. Los cuales tienen efectos antioxidantes estabilizando las altas concentraciones de ERO. 2) enzimáticos en los que se incluyen las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), Ascorbato peroxidasa (APX), glutatión S transferasa (GST) entre las más conocidas (Silva *et al.*, 2019).

Una vez formadas las especies reactivas de oxígeno, el complejo sistema de actividad antioxidante y la producción de diferentes metabolitos son los encargados de desintoxicar a la planta de estas moléculas, las cuales provocan los daños a nivel celulares que en muchos casos llevarán a la muerte celular y afectaciones en los cultivos (Feitosa *et al.*, 2009). El alivio del estrés abiótico, el cual incluye efectos de sequía y altas temperaturas es frecuentemente asociado al uso de nanopartículas en

la mejora de los sistemas enzimáticos. Sun et al. (2020) probaron que la aplicación de nanopartículas de óxido de zinc ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) en el sustrato del cultivo de maíz inducen una tolerancia a sequía, teniendo efectos en el incremento de la actividad enzimática SOD, CAT y APX, las cuales redujeron los niveles de la molécula de peróxido de hidrógeno bajo condiciones de sequía. Por otro lado, Shah et al. (2021) confirmaron que el pretratamiento de semillas maíz con nanopartículas de óxido de titanio a  $60 \text{ mg L}^{-1}$  resultaron con un incremento en el contenido de metabolitos secundarios, actividad CAT y SOD bajo condiciones de estrés salino.

**3.1 Material Vegetal**

Se utilizaron tres genotipos mejorados de maíz para la fase de experimentación 1 y 2 con el fin de disminuir la variabilidad genética dentro de la población y poder determinar con mayor precisión las variaciones causadas por la aplicación de las nanopartículas; los genotipos utilizados fueron:

- 1) Híbrido de maíz morado: Negro carioca.
- 2) Híbrido de maíz amarillo: Amarillo zanahoria.
- 3) Híbrido de maíz blanco: Pioneer P3057W

Para el tercer experimento en charolas de germinación, se utilizaron dos genotipos los cuales se describen a continuación:

- 1) Maíz morado: Morado San Luis
- 2) Maíz blanco: Blanco Hualahuises

### **3.2 Material no Vegetal.**

En los experimentos, tanto de campo como los de charolas de germinación, se utilizaron tres nanopartículas: 1) Nanotubos de carbono de pared múltiple (MWNT's) funcionalizados con OH, 2) Nanotubos de carbono de pared múltiple (MWNT's) funcionalizados con Magnesio y 3) Una nanopartícula metálica de MgO. Las nanopartículas fueron adquiridas de la empresa Galippsso Trading®.

### **3.3 Métodos**

#### **3.3.1 Establecimiento del Ensayo de Campo**

Los trabajos se realizaron en las instalaciones de la Facultad de Agronomía, tanto en la Unidad Académica de Marín ubicada en Marín, N.L. así como en los Laboratorios de Biotecnología y de Química y Bioquímica en el campus de Ciencias Agropecuarias de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ubicada en el municipio de General Escobedo, N.L.

En esta primera fase se utilizó un diseño experimental de parcelas subdivididas, utilizando como parcela grande los tres genotipos ya mencionados (Amarillo HIT-24, Negro coriaca y Pioneer P3057W), como parcela mediana se utilizaron las nanopartículas, desde ahora, se mencionarán como MWNT's-OH, MWCNT's-MgO y Np-MgO (Nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con OH, Mg y metálica de MgO, respectivamente); y como parcela chica se utilizaron las

concentraciones ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $150 \text{ mg L}^{-1}$  y  $250 \text{ mg L}^{-1}$ ) seleccionadas con base a los trabajos de Lahiani *et al.* (2013) y Hatami *et al.* (2016).

Previo a la siembra, se aplicó gallinaza al suelo a una concentración de  $3 \text{ ton ha}^{-1}$ . Se realizó una aplicación de herbicida preemergente con  $2 \text{ kg}$  de atrazin en  $300 \text{ L}$  de agua  $\text{ha}^{-1}$  ( $6.6 \text{ g L}^{-1}$ ). Después de la siembra se colocó un sistema de riego por goteo y el 2 de marzo se aplicó Lambda cyhalotrina con una dosis de  $30 \text{ g ha}^{-1}$  (En una concentración de  $0.2 \text{ g L}^{-1}$ ) para mantener al cultivo libre del ataque de patógenos como el gusano cogollero, araña roja, y gusano trozador, que pudieran afectar al buen desarrollo del cultivo.

Para llevar a cabo la aplicación de las NP's, se inició con la imbibición de la semilla en cada uno de los tratamientos durante  $24 \text{ h}$ . Este Proceso de imbibición se llevó a cabo el día 30 de enero de 2020 y posteriormente la semilla se puso a germinar en charolas de germinación de  $20 \times 10$  ( $200$  plantas por charolas) bajo condiciones controladas para mitigar los efectos de bajas temperaturas en la Unidad Académica Marín. A los 18 días después (17 de febrero del 2020) se realizó el trasplante de las charolas de germinación al lote experimental, correspondiente al ciclo de otoño-invierno del 2019-2020. El trasplante se realizó en surcos a  $0.8 \text{ m}$  de separación y una distancia entre plantas de  $0.20 \text{ m}$ . La unidad experimental fue de 4 surcos de  $5 \text{ m}$  de largo utilizando tres repeticiones.

#### **3.3.1.1. Aplicación de los Tratamientos**

Posteriormente, para las aplicaciones de las NP's en campo, se prepararon suspensiones utilizando agua corriente; las suspensiones se homogeneizaron con un sonicador de sonda (Qsonica, CT, USA) durante 30 min a 120 voltios, 3 amperios y 50 a 60 GHz, tal como lo realizó (García-López et al. 2018) Estas actividades se realizaron en el laboratorio de Química y Bioquímica en el campus de Ciencias Agropecuarias de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ubicada en el municipio de General Escobedo, N.L.

Las aplicaciones de las nanopartículas en campo después del trasplante se realizaron en las siguientes etapas del desarrollo: 1) Etapa V3-V4 y 2) Etapa V7-V8, (según la clasificación de la Universidad de Iowa, 2008) mediante aplicación foliar según la metodología usada por Ghorbanpour *et al.* (2015) y Lahiani *et al.* (2013) quienes evaluaron la aplicación de MWNT's, a 250 mg L<sup>-1</sup>. La aplicación de las nanopartículas se realizó utilizando atomizadores comerciales con capacidad de un litro.

#### **3.3.1.2 Toma de Muestras**

El 7 de junio de 2020 se realizaron muestreos de las láminas y vainas de la hoja de la mazorca de 10 plantas por unidad experimental formándose una muestra compuesta de las 10 hojas y vainas, de tal manera que se tuvo una muestra compuesta de cada unidad experimental para la determinación de actividad antioxidante catalasa.

Para su posterior análisis, las láminas de la hoja de la mazorca, por cada unidad experimental se mezclaron y se preparó un compuesto de 3 g a partir del cual se realizarán los ensayos de extracción de compuestos fenólicos y de actividad enzimática catalasa.

### 3.3.1.3 Variables Agronómicas

Se consideraron como variables de respuesta, las siguientes características agronómicas, las cuales resultaron de la siguiente metodología:

2. Número de mazorcas: Una vez obtenido el número total de mazorcas de cada unidad experimental, se dividió entre el número de plantas.

$$N^{\circ} \text{ Mazorcas U.E.} / N^{\circ} \text{ de plantas U.E}$$

3. Rendimiento por mazorca (RM gmz<sup>-1</sup>): Una vez desgranadas las mazorcas de la unidad experimental, se dividió el peso del grano (g) entre el número de mazorcas.

$$g \text{ de grano obtenido por U.E} / N^{\circ} \text{ de mazorcas}$$

4. Peso seco de 100 semillas (P100s g): Contabilizadas 100 semillas obtenidas por unidad experimental se secaron a 80 ° C durante 72 h y se dejaron enfriar durante 24 h, se pesaron las semilla y se registró como variable.

5. Volumen de 100 semillas (V100s mL): Contabilizadas 100 semillas obtenidas por unidad experimental se agregaron a una probeta, se agregó agua y se registró el desplazamiento del agua observado en la probeta, el cual indica el volumen inicial de la semilla (principio de Arquímedes).
  
6. Longitud de la mazorca (LM cm): Se registró la distancia en cm, de la base de la mazorca hasta la punta de esta, de 10 mazorcas por unidad experimental y se calculó un promedio, en aquella unidad experimental dónde el número de mazorca se vio comprometido, el cálculo se realizó con el mayor número de mazorcas obtenido.
  
7. Diámetro de la mazorca (DM cm): Se registró el diámetro en cm, de la parte más ancha de la mazorca, de 10 mazorcas por unidad experimental y se calculó un promedio, en aquella unidad experimental dónde el número de mazorca se vio comprometido, el cálculo se realizó con el mayor número de mazorcas obtenido.
  
8. Altura de la planta (AP cm): En campo y habiendo transcurrido la floración masculina, se registró en cm la altura desde la base de la planta en el suelo hasta el extremo de la espiga de 10 plantas por unidad experimental, se calculó un promedio y se utilizó el dato obtenido.

9. Altura de la mazorca. (AM cm): En campo y habiendo transcurrido la floración masculina, se registró en cm la altura desde la base de la planta en el suelo hasta la base de la mazorca primaria (en caso de que se presentaran mazorcas secundarias) de 10 plantas por unidad experimental, se calculó un promedio y se utilizó el dato obtenido.

### **3.3.2 Establecimiento del Ensayo en Charolas de Germinación.**

Se desarrolló un experimento en charolas de germinación. Este trabajo consistió en la aplicación de las NP's, al momento de la imbibición de la semilla en cada uno de los tratamientos durante 24 h el 25 de agosto 2020; posteriormente la semilla se puso a germinar en charolas de germinación de 5 X 10 (50 plantas por charolas) bajo condiciones controladas en la Unidad Académica Marín y a los 10 días se midieron 11 variables las cuales se describen a continuación: La unidad experimental de cada tratamiento estuvo compuesta por 20 plántulas y el diseño experimental utilizado fue el de parcelas subdivididas con el fin de homologar los análisis estadísticos.

#### **3.3.2.1 Variables Agronómicas**

Se consideraron como variables de respuesta, las siguientes características agronómicas en tres partes de las plántulas, (**parte aérea, resto del endospermo y raíz**), las cuales resultaron de la siguiente metodología,

10. Largo de plántula (LP cm): Se consideró el promedio de 10 plantas por unidad experimental en función de aquella fracción de la planta que se encuentra al extremo superior al endospermo, incluyendo el mesocotilo de la planta y en dirección a la última hoja de la plántula, el resultado se registró en cm.

Largo de raíz (LR cm): Se consideró el promedio de 10 plantas por unidad experimental en función de aquella fracción de la planta que se encuentra al extremo inferior al endospermo y en dirección a la punta de las raíces, el resultado se registró en cm.

Peso seco de plántula (PSP mg): Se consideró el promedio del peso en mg de 10 plántulas por unidad experimental en función de aquella fracción de la planta que se encuentra al extremo superior al endospermo incluyendo el mesocotilo de la planta y en dirección a la última hoja de la plántula, al secarse por 80°C durante 72 h.

11. Peso seco de raíz (PSR mg): Se consideró el promedio del peso en mg de 10 plantas por unidad experimental en función de aquella fracción de la planta que se encuentra extremo inferior al endospermo y en dirección a la punta de las raíces, al secarse por 80°C durante 72 hh.

12. Materia seca de la semilla (MSS, mg): Dato obtenido en  $\text{mg} \cdot \text{semilla}^{-1}$ , resultado del peso de 20 semillas menos el % de humedad (se registró el peso en fresco

de la semilla y se secaron a 80 ° durante 72 h y nuevamente se registró el peso en mg, la diferencia en pesos hace referencia al % de agua contenido en la semillas fresca y el cual fue removido después de las 72 h), este dato se dividió entre 20 para obtener las unidades mencionadas.

13. Materia seca del endospermo (MSE, mg•endospermo): se expresó en  $\text{mg}\cdot\text{endospermo}^{-1}$  y es el resultado de la diferencia entre el peso de la sección de 10 endospermos por unidad experimental, antes y después antes de incubar a 80 °C.

14. Reducción de reservas de la semilla (RRS, mg): Utilizando los datos obtenidos de la variable MSE y MSS se calculó la diferencia entre cuanta materia seca tiene la semilla y cuanta materia seca tiene el endospermo, determina cuanto se redujeron las reservas de la semilla para producir al endospermo, los resultados se expresan en  $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ .

$$RRS = MSS - MSE$$

15. Materia seca de plántula (DMSL mg•plántula): Es el valor obtenido del peso seco de la parte aérea y las raíces de las plantas, sin el endospermo.

16. Eficiencia de conversión de la reserva de la semilla (ECSR,  $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ ): Determinación de cuánta materia seca tenía la semilla al comienzo de la prueba

y qué cantidad de esa masa se convirtió en materia seca de plántula, es la relación entre la materia seca de la plántula y la reducción en las reservas de la semilla, los resultados se expresan en  $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$ .

$$ECRS = MSP/RRS$$

Tasa de reducción de reservas de las semillas (TRRS %): Esta relación permite la identificación de la cantidad de masa que se ha eliminado del tejido de reserva para mantener el metabolismo y para el desarrollo de la plántula durante el período de días en las que se mantuvieron en las charolas las plántulas. Evalúa la reducción real de las reservas, siendo una variable más confiable y comparable, ya que no está influenciada por factores externos como la masa seca de la semilla.

$$TRRS = \frac{RRS}{MSS} * 100$$

17. Tasa de movilización de reservas a la plántula (TMRP %): Representa cuánto se usó realmente para el crecimiento y desarrollo del eje embrionario durante la germinación. Se obtiene de la relación de la materia seca de la plántula (MSP) y la materia seca de la semilla (MSS) y el resultado se expresa en porcentaje.

$$TMRP = \frac{MSP}{MSS} * 100$$

18. Gasto energético (GE %): Se refiere a la resta de Materia seca del endospermo (MSE), la materia la plántula (MSP) de la materia seca de la semilla (MSS). Este dato se expresa en  $\text{mg}$  y se transforma a porcentaje.

$$GE = MSS - MSE - MSP / MSS * 100$$

### **3.3.3 Establecimiento del Ensayo de Charolas de Germinación con Aplicación de Estrés de Sequía y Alta Temperatura.**

Se desarrolló un experimento en charolas de germinación. Este trabajo inició con la aplicación de las NP's, en la imbibición de la semilla en cada uno de los tratamientos durante 24 h el 27 de marzo de 2021; posteriormente la semilla se puso a germinar en charolas de germinación de 5 X 10 (50 plantas por charolas) bajo condiciones controladas en la Unidad Académica Marín y a los 15 días, se dividieron en tres grupos de charolas, grupos a los cuales se les aplicaron los siguientes tratamientos:

1. Alta temperatura: Los genotipos de maíz para este experimento fueron dos, el Maíz Blanco Hualahuises y Maíz Morado San Luis, las altas temperaturas que se manejan fueron para el período de la noche, debido a que es cuando las temperaturas tienen mayor efecto en el crecimiento de las plantas. Las temperaturas nocturnas registradas al ambiente fueron de  $17 \pm 3$  °C; durante esta investigación el estrés de alta temperatura fue aplicado durante la noche con el uso de calentadores, provocando un ambiente con una temperatura de  $25 \pm 2$  °C. Tratamiento aplicado durante periodos de 12 horas nocturnas, ya que, durante el día, las plantas eran movidas al exterior para mantener en igualdad de condiciones con respecto al tratamiento testigo.

2. Sequía: Tratamiento que consistió en pausar el riego desde el 12 de abril hasta el 23 de abril, fecha en la que se registraron las variables agronómicas.

3. Condiciones normales, grupo control de plántulas donde la temperatura y el riego no se vieron afectados a las condiciones ambientales.

### **3.3.3.1 Variables Agronómicas**

Se consideraron como variables de respuesta, las siguientes características agronómicas en tres partes de las plántulas (**parte aérea, resto del endospermo y raíz**), las cuales resultaron de la siguiente metodología:

19. Largo total de plántula (LTP cm): Se consideró el promedio de 10 de plantas por unidad experimental, incluye la medida de extremo a extremo de la plántula (incluyendo Raíz y parte aérea), el resultado se registró en cm.

20. Largo de plántula (LP cm): Se consideró el promedio de 10 plantas por unidad experimental en función de aquella fracción de la planta que se encuentra al extremo superior al endospermo, incluyendo el mesocotilo de la planta y en dirección a la última hoja de la plántula, el resultado se registró en cm.

21. Largo de raíz (LR cm): Se consideró el promedio de 10 plantas por unidad experimental en función de aquella fracción de la planta que se encuentra al extremo inferior al endospermo y en dirección a la punta de las raíces, el resultado se registró en cm.

22. Peso seco de plántula (PSP mg): Se consideró el promedio del peso en mg de 10 plantas por unidad experimental en función de aquella fracción de la planta

que se encuentra al extremo superior al endospermo incluyendo el mesocotilo de la planta y en dirección a la última hoja de la plántula, al secarse por 80°C durante 72 h.

23. Peso seco de raíz (PSR mg): Se consideró el promedio del peso en mg de 10 plantas por unidad experimental en función de aquella fracción de la planta que se encuentra extremo inferior al endospermo y en dirección a la punta de las raíces, al secarse por 80°C durante 72 h.

24. Peso seco de semilla: se expresó en  $\text{mg} \cdot \text{endospermo}^{-1}$  y es el resultado del promedio de 10 endospermos por unidad experimental después de incubar a 80 °C.

### 3.4 Análisis Estadístico

El diseño experimental utilizado en los tres ensayos fue de un parcelas subdivididas, utilizando como parcela grande los genotipos, parcela mediana las nanopartículas y la parcela chica las concentraciones evaluadas. El modelo estadístico utilizado en los tres experimentos fue el siguiente:  $Y_{ijk} = \mu + \beta_i + \text{ss}_j + \varepsilon_{ij} + \text{hkh}_k + (\text{shsh})_{jk} + \varepsilon_{ijk}(b) + m_i m_i + (\text{smsm})_{ji} + (\text{hm})_{kl} + (\text{shmsm})_{jkl} + \varepsilon_{ijkl}$ ; sin embargo, debido al uso de un testigo absoluto, es decir sin aplicación de nanopartículas, el modelo estadístico utilizado fue el correspondiente a un parcelas divididas:  $Y_{ijk} = \mu + \beta_i + F_j + e_{ij}(a) + V_k + (FV)_{jk} + e_{ijk}(b)$

Para parcelas subdivididas:

$Y_{ijk}$ : Es la observación correspondiente al i-ésimo tratamiento principal.

$\mu$ : Es la media general.

$\beta_i$ : Es el efecto del i-ésimo tratamiento principal.

$\text{ss}_j$ : Es el efecto del j-ésimo bloque.

$\varepsilon_{ij}$ : Es el error (a) nivel de la parcela principal.

$\text{hkh}_k$ : Es el efecto del k-ésimo tratamiento secundario.

$(\text{shsh})_{jk}$ : Es el efecto de la ik-ésima interacción t X t.

$\varepsilon_{ijk}(b)$ : Es el error (b), a nivel de la subparcela.

$m_i m_i$ : Es el efecto del l-ésimo tratamiento terciario.

$(\text{smsm})_{jl}$ : Es el efecto de la il-ésima interacción t X t.

$(\text{hm})_{kl}$ : Es el efecto de la kl-ésima interacción t X t.

$(shmsm)jkl$ : Es el efecto de la  $ikl$ -ésima interacción.

$\epsilon_{ijkl}$ : Es el error (c) a nivel de la subparcela.

Para parcela divididas:

$Y_{ijk}$  es la observación en la labranza  $j$ , en la humedad  $k$ , en el bloque  $i$

$V_k$ : es el efecto del nivel  $k$  de variedades

$\mu$ : es la media verdadera general

$FV_{jk}$ : es el efecto de la interacción de la labranza  $j$  y humedad  $k$

$\beta_i$ : es el efecto del bloque  $i$

$F_j$ : es el efecto del nivel  $j$  de fechas

$e_{ijk}(b)$ : es el error experimental de la  $ij$ - $k$ -ésima subparcela

$e_{ij}(a)$ : es el error experimental de la  $ij$ -ésima parcela grande para fechas

## 3.5 Análisis de Enzimas Antioxidantes

### 3.5.1 Extracción de la Enzimas Antioxidantes.

Para llevar a cabo el análisis de actividad de enzimas antioxidantes, se generó una muestra compuesta de las 10 hojas de la mazorca y se maceró en nitrógeno líquido para cada unidad experimental. Se pesaron 200 mg de la muestra en un tubo eppendorf de 2 mL y posteriormente se agregaron 1.2 mL de buffer de fosfato de potasio [0.2 M, pH 7 con EDTA 0.01M] y se centrifugó a 15,000 rpm durante 20 minutos a 4 °C. El sobrenadante se recuperó y almacenó en refrigeración, mientras que el pellet fue suspendido en 0.8 mL del mismo buffer y se centrifugó nuevamente a 15,000 rpm durante 15 minutos a 4 °C.

### 3.5.2 Evaluación de actividad enzimática CAT

La actividad antioxidante se determinó de acuerdo con la metodología de Nakano y Asada (1981). Previo al análisis, se ajustó el espectrofotómetro a 240 nm, y se programó para hacer lecturas a intervalo de 30 s, por un tiempo de 90 s.

La solución de la reacción fue de 1 mL, estuvo compuesta de 15 µL de extracto de proteína, 965 µL del buffer y 20 µL de solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Las lecturas obtenidas se registraron y se obtuvieron las medias para utilizarse en la siguiente fórmula ( $\Delta$ ABS, ABS a los 90 segundos y ABS a 0)

$$ACT\ CAT = \Delta ABS * dilución * (V_{Total}/V_{muestra})/Coeficiente * [Proteína]$$

Dónde:

ACT CAT=  $\text{mmol mg prot}^{-1}$

[Proteína]= Concentración de proteína en  $\text{mg mL}^{-1}$ : Para llevar a cabo la cuantificación de proteína, se estableció una curva de calibración por triplicado, utilizando una solución de albúmina bovina ( $2 \text{ mg mL}^{-1}$ ) utilizando concentraciones de 0 a  $2 \text{ mg mL}^{-1}$ , con intervalo de  $0.2 \text{ mg mL}^{-1}$ , reactivo de Lowry (carbonato sódico al 2 % en NaOH a 0.1 M, sulfato cúprico al 1 % y tartrato sódico – potásico al 2 %) y reactivo de Folin-Ciocalteu en una relación 1:2 utilizando agua destilada, con tiempos de reposo de 10 antes del reactivo Folin-Ciocalteu y 45 minutos una vez aplicado este último a completa oscuridad, se realizan lecturas a 700 nm en un volumen de 1.2 mL; técnica de Lowry, estandarizada en el laboratorio de biotecnología de la Facultad de Agronomía, de la UANL, donde los ensayos fueron realizados (Lowry et al., 1951)

$V_{\text{Total}}$ = Equivale al volumen de la muestra + volumen del medio de reacción.  $\Delta\text{ABS min}^{-1}$ : Variación de la absorbancia por 90 segundos.

Coefficiente= Coeficiente de extinción molar del  $\text{H}_2\text{O}_2$  de=  $40 \text{ M cm}^{-3}$  (moles por centímetro)

### **3.5.3 Cuantificación de Compuestos Fenólicos Totales.**

Para llevar a cabo la cuantificación de polifenoles totales, se estableció una curva de calibración por triplicado, utilizando una solución de ácido gálico ( $0.1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) utilizando concentraciones de 0 a  $160 \text{ mg mL}^{-1}$ , con intervalo de  $20 \text{ mg mL}^{-1}$ .

La determinación de fenoles se realizó diluyendo el extracto de proteína (1:10) obtenido con la técnica anteriormente mencionada; se utilizaron 20  $\mu\text{L}$  de esta solución y se agregaron 1980  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Se preparó una solución a 1 N del reactivo Folin-Ciocalteu tomando 10 mL del reactivo 2 N y se diluyó en 10 mL de agua destilada. A cada uno de los estándares y muestras previamente preparados, se adicionaron 250  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin-Ciocalteu 1 N. Seguido del procedimiento anterior, se adicionaron 1250  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20 % y se dejó reposar por 2 h en la oscuridad, posteriormente se midió la absorbancia a 760 nm. Los resultados se reportaron en mg equivalentes de ácido gálico por g de muestra ( $\text{mgEAG g}^{-1}$ )

## 4

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Ensayo de Campo

De acuerdo con los resultados del análisis de varianza (Cuadro 1), se observa que todas las variables, excepto la altura de la planta, resultaron con diferencia altamente significativa para el factor Genotipo, mientras que el factor Nanopartícula (NP) no resultó con significancia estadística para ninguna de las variables. Para el factor Concentración, el número de mazorcas, rendimiento por mazorca, la longitud y el diámetro de la mazorca tuvieron significancia estadística. Para las interacciones simples, se presentó significancia en la interacción Concentración X NP en las variables rendimiento por mazorca, peso de 100 semillas, longitud y diámetro de la mazorca (RM, P100s, LM, DM, respectivamente); para la interacción Concentración X, Genotipo, las variables con significancia estadística fueron, peso de 100 semillas, volumen de 100 semillas y la longitud de la mazorca (P100s, V100s, LM, respectivamente) y por último la interacción doble, Genotipo X NP X Concentración mostró significancia para las variables peso de 100 semillas, volumen de 100 semillas y diámetro de la mazorca (P100s, V100s y DM, respectivamente) .

Cuadro 1. Valores de cuadrados medios de las variables agronómicas y de rendimiento en el análisis de varianza ( $p \leq 0.05$ ).

F. V	N° Mazorcas	RM <sup>1</sup> gmz <sup>-1</sup>	P100s <sup>2</sup> g	V100s <sup>3</sup> mL	LM <sup>4</sup> cm	DM <sup>5</sup> cm	AP <sup>8</sup> cm	Am <sup>9</sup> cm
Genotipo	1972.99**	31300.14**	758.48**	491.39**	38.19*	14.26*	566	899.1*
Error a	71.34	425.2	14.91	9.06	1.8	0.21	99.49	66.41
NP	230.51	918.48	1.91	0.19	1.39	0.52	57.16	10.78
Genotipo*NP	206.81	712.02	1.3	8.27	4.03	0.19	232.34	86.72
Error b	109.51	282.12	22.77	17.47	1.55	0.14	109.33	38.58
Concentración	161.79*	2.89.82**	5.06	3.78	2.7*	1.10**	114.12	88.33
Concentración* NP	30.81	779.08**	16.84*	11.22	2.38**	0.28**	39.5	114.12
Concentración* Genotipo	38.46	182.17	23.83**	15.41*	2.54*	0.06	14.84	24.97
Concentración*NP* Genotipo	11.98	137.89	37.44**	30.64**	1.21	0.18*	141.76	30.3
Error c	37.76	131.45	5.33	5.19	0.61	0.06	113.04	52.51

\*  $p < 0.01$  \*\*  $p < 0.05$ . RM: rendimiento por mazorca: P100s: Peso seco de 100 semillas, V100s: volumen de 100 semillas. LM: Largo de la mazorca. DM: Diámetro de la mazorca. AP: Altura de la planta. Am: Altura de la mazorca.

Considerando las interacciones dobles (Concentración X NP X Genotipo) para la variable de peso seco de 100 semillas (P100S, g), la comparación de medias se presenta en el Cuadro 2. En este cuadro se observa la gran variación en el comportamiento de los resultados en función de los tratamientos. El genotipo morado, presentó los mayores valores de la variable peso seco de 100 semilla a la aplicación de nanopartículas, sobresaliendo el MWCNT-OH, aplicado a 250 mg L<sup>-1</sup> comparado con el testigo (42.38 g y 17.51 g, respectivamente). Sin embargo, los datos demuestran que estas concentraciones tuvieron efectos negativos para NP-MgO, ya que la aplicación de 100 mg L<sup>-1</sup> resultó estadísticamente superior a la otras dos concentraciones (37.74, 13.64 y 17.34 para 100, 150 y 250 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente) y al control, denotando un posible efecto de toxicidad al incrementar las concentraciones (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la doble interacción Genotipo X NP X Concentración de la variable peso seco de 100 semillas, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias están presentados en gramos.

Maíz morado negro carioca				
	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	17.51 b a b	0 c c c	0 c b b	42.38 a a a
MWCNT-MgO	17.51 a a b	7.67 c b b	13.2 b a b	12.15 b c b
NP-MgO	17.51 b a b	37.74 a a a	13.64 b a b	17.34 b b b
Maíz amarillo HIT-24				
	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	20.53 a a a	22.3 a a a	21.37 a a a	21.2 a a b
MWCNT-MgO	20.53 a a a	22.74 a a a	23.93 a a a	20.55 a a a
NP-MgO	20.53 a a a	20.33 b a a	22.6 a a a	23.6 a a a
Maíz blanco P3057W				
	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	21.4 a a a	21.6 a a a	21.8 a a a	21.63 a a b
MWCNT-MgO	21.4 a a a	19.44 b a a	24.87 a a a	23.83 a a a
NP-MgO	21.4 a a a	22.6 b a b	21.27 a a a	22.13 a a a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con a b y c, corresponden a la comparación de la concentración entre las diferentes nanopartículas y por último las diferencias representadas con a b y c corresponden a la comparación entre los genotipos.

En los que respecta a los otros dos genotipos (maíz blanco y amarillo) la aplicación de las nanopartículas y las concentraciones no resultaron con significancia estadística, aunque los valores para esta característica fueron mayores comparadas con el genotipo morado.

Considerando la expresión de esta variable de peso seco de 100 semillas (P100s), los mayores valores se asocian más con la adaptación de los genotipos, ya que el genotipo morado (Negro Carioca) proviene de una zona ecológicamente diferente; estas respuestas a la aplicación de nanopartículas son similares a las reportadas por Kana *et al.* (2021), quienes reportaron que los efectos de la aplicación de nanopartículas alfa

en *Vigna unguiculata*, provocó un incremento en la producción de números de hojas, así como para la materia seca de la planta; sin embargo, este efecto no se presentó en término de rendimiento en la producción de semilla o el peso de las mismas.

Para el caso de la variable volumen de 100 semillas (V100s, mL), se observa en los valores medios (Cuadro 3), que la aplicación de nanopartículas y sus concentraciones, manifestaron el mismo comportamiento que la variable P100s. En el genotipo Negro Carioca, la MWCNT-OH presentó los mayores valores estadísticamente en la concentración de 250 mg L<sup>-1</sup> (38.51 mL) comparados con el tratamiento control y las concentraciones de 100 y 150 mg L<sup>-1</sup>. Para el caso de MWCNT-Mg no se observó una tendencia definida, ya que los valores medios más altos de los en las concentraciones 150 y 250 mg L<sup>-1</sup> fueron estadísticamente igual al testigo. Para el caso de la nanopartícula metálica (NP-MgO), los valores medios más altos fueron para la concentración de 100 mg L<sup>-1</sup> (30.49 mL) que resultó estadísticamente superior a la media del testigo y de las concentraciones de 150 y 250 mg L<sup>-1</sup>; probablemente en este último caso a la toxicidad que pudo presentar las altas concentraciones de esta nanopartícula.

Para el genotipo HIT-24 (Amarillo), la comparación de medias no presento diferencias significativas entre NP's o entre concentraciones; sin embargo, para el genotipo P3057W (Blanco), la comparación de medias para las nanopartículas y sus concentraciones se observó que la NP MWCNT-MgO presentó diferencias

significativas en las concentraciones a 150 y 250 mg L<sup>-1</sup>, resultando con mayores valores que el testigo o la concentración de 100 mg L<sup>-1</sup> (Cuadro 3). Estos resultados contrastan con una reciente investigación donde se analizó la aplicación de nanopartículas metálicas (Cu, Fe y Co) y se observó que la aplicación de estas nanopartículas se relaciona con un incremento en términos de rendimiento y en la resistencia a sequía (Son *et al.*, 2019).

Cuadro 3. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la doble interacción Genotipo X NP X Concentración, de la variable volumen de 100 semillas, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias se encuentran expresados en mililitros.

Maíz morado negro carioca				
	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	16.44 b a a	0 c c b	0 c b b	38.51 a a a
MWCNT-MgO	16.44 a a a	7.07 b b b	13 a a b	11.73 a b b
NP-MgO	16.44 b a a	30.49 a a a	11.49 b a b	12.49 b b b
Maíz amarillo HIT-24				
	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	18 a a a	20.67 a a a	18.67 a a a	19 a a b
MWCNT-MgO	18 a a a	19.83 a a a	20.33 a a a	18.33 a a a
NP-MgO	18 a a a	18.67 a a b	22 a a a	21 a a a
Maíz blanco P3057W				
	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	19.33 a a a	18.33 a a a	20 a a a	19 a a b
MWCNT-MgO	19.33 ab a a	17 b a a	22.39 a a a	20.67 a a a
NP-MgO	19.33 a a a	19.33 a a b	18.33 a a a	20 a a a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con a b y c, corresponden a la comparación de la concentración entre las diferentes nanopartículas y por último las diferencias representadas con a b y c corresponden a la comparación entre los genotipos.

Para el caso de la variable diámetro de mazorca, en el genotipo negro carioca no fue posible determinar la comparación de medias, ya que las mazorcas de este genotipo no se desarrollaron correctamente. Para los otros dos genotipos, no hubo una tendencia clara en la aplicación de las NP's, ya que presentaron un comportamiento,

en general, igual que el testigo sin la aplicación de NP, con la excepción del genotipo amarillo HIT-24 con la NP-MgO, ya que las tres concentraciones aplicadas (100, 150 y 250 mg L<sup>-1</sup>) resultaron estadísticamente superior al control, lo que pudiera indicar un posible uso benéfico de esta nanopartícula (Cuadro 4). Resultados similares se presentaron en el trabajo de Hoang *et al.* (2019), quienes observaron en maíces de pigmentación amarilla, que la aplicación de NP de cobre tuvo efectos en la longitud de la mazorca, mientras que nanopartículas de cobalto, produjeron mazorcas más cortas, lo que indica que esta característica es sensible a la aplicación de nanopartículas metálicas. Para el genotipo blanco P3057W, no se observaron diferencias entre los tratamientos y el control, por lo que es posible que la aplicación de diferentes concentraciones de estas nanopartículas no tiene un efecto significativo en la variable diámetro de mazorca. Es importante destacar que, para esta variable, al hacer la comparación entre genotipos, el P3057W presentó valores más altos estadísticamente, comparadas con los otros genotipos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la doble interacción Concentración X NP X Genotipo, de la variable Diámetro de mazorca, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias están dados en centímetros.

Maíz morado negro carioca				
	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	0 a a c	0 b a c	0 b a c	0 b a c
MWCNT-MgO	0 a a c	0 b a c	0 b a c	0 b a c
NP-MgO	0 a a c	0 b a c	0 b a c	0 b a c
Maíz amarillo HIT-24				
	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	3.17 a a b	2.97 b b b	3.4 a a b	3.33 a a b
MWCNT-MgO	3.17 a a b	3.38 a a b	3.67 a a b	3.3 a a b

NP-MgO	3.17 b a b	3.53 a a b	3.33 a a b	3.68 a a b
Maíz blanco P3057W				
	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	4.47 a a a	4.43 a a a	4.2 a b a	4.2 a b a
MWCNT-MgO	4.47 a a a	4.43 a a a	4.47 a a a	4.8 a a a
NP-MgO	4.47 a a a	4.57 a a a	4.67 a a a	4.77 a a a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación de la concentración entre las diferentes nanopartículas y por último las diferencias representadas con a b y c corresponden a la comparación entre los genotipos.

Las variables que presentaron significancia estadística en la interacción simple (dos factores), fueron: longitud de la mazorca y rendimiento por mazorca; los resultados de las comparaciones de medias de la primer variable se presentan en los Cuadros 5 y 6. Para el caso de la interacción Genotipo X Concentración (Cuadro 5), las NP's MWCNT-MgO y NP-MgO fueron las únicas que mostraron una mayor expresión de esta variable en las diferentes concentraciones comparadas con el testigo y siempre el genotipo P3057W fue el mayor comparativamente con los otros genotipos de todas las concentraciones.

Cuadro 5. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción entre Genotipo X Concentración, de la variable Longitud de la mazorca, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en centímetros.

	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
Negro Carioca	12.37 a a	13.44 a b	13.46 a b	13.02 a b
HIT-24	12.37 b a	14.41 a <b>ab</b>	13.97 a b	14.19 a b
P3057W	12.37 b a	15.68 a a	16.56 a a	16.21 a a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación de la concentración entre los diferentes genotipos.

Para el caso de la comparación de medias de longitud de la mazorca para la interacción Concentración X NP, se observó que dos de las NP's (MWCNT-OH y MWCNT-MgO) resultaron estadísticamente superior en todas las concentraciones comparadas al tratamiento control, no así entre ellas (Cuadro 6), demostrando con ello los efectos positivos en la aplicación de las NP's, asociadas con los nanotubos de carbono.

Cuadro 6. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción entre NP X Concentración, de la variable Longitud de la mazorca, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en centímetros.

	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	8.66 b a	15.13 a a	14.83 a a	14.13 a a
MWCNT-MgO	8.66 b a	13.29 a b	14.13 a a	14.6 a a
NP-MgO	8.66 c a	15.17 a a	12.93 b b	13.4 b a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación de la concentración entre las diferentes nanopartículas.

Para el caso de NP-MgO, la concentración que manifestó estadísticamente los valores medios más alto fue la de 100 mg L<sup>-1</sup>; aunque se mostraron valores medios más altos estadísticamente, comparadas con el control en las otras concentraciones (150 y 250 mg L<sup>-1</sup>), estos valores resultaron menores que el de 100 mg L<sup>-1</sup>, probablemente por un efecto de toxicidad ocasionado por estas concentraciones más altas. Resultados por toxicidad con Nanotubos de carbono de pared múltiple han sido reportados por otros autores como Stampoulis *et al.* (2009), el cual reportó una disminución en el 60 % en la producción de biomasa en la aplicación de los MWCNT a una concentración de 1

gmL<sup>-1</sup>, en comparación con el control, sin esta nanopartícula. Por otro lado, Mondal *et al.* (2011) concluyeron que la toxicidad parece depender de las dosis probadas en semilla de mostaza, donde los MWCNT oxidados para su dispersión, aplicados a 6.9 mg L<sup>-1</sup> provocó una reducción en el porcentaje de germinación del 7.6 % y una disminución en la producción de biomasa de 2.2 veces menor a aquellos MWCNT funcionalizados con pristina.

Los resultados para la variable Rendimiento por mazorca (RM), mostraron en su comparación de medias de la interacción NP X Concentración, que los nanotubos de carbono funcionalizados con OH y MgO aplicados a altas concentraciones tienen mejores efectos en comparación al control (Cuadro 7); sin embargo, para la nanopartícula metálica (NP MgO) la concentración más baja fue la que presentó los valores más altos. El uso de los nanotubos de carbono concuerda con algunos trabajos relacionados en la evaluación del rendimiento en maíz, arroz, etc., donde la aplicación de nanopartículas de cobre produjo incrementos del rendimiento de hasta el 20 % en el caso del maíz (Hoang *et al.* 2019; Chernikova *et al.* 2019), aunque para la nanopartícula metálica, las altas concentraciones pudieran haber tenido efectos de toxicidad, ya que las bajas concentraciones fueron las mejores estadísticamente hablando.

Cuadro 7. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción entre NP X Concentración de la variable Rendimiento por mazorca, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias están representados en gramos.

	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	24.6 ab <b>a</b>	17.81 b <b>b</b>	31.71 ab <b>a</b>	37.31 a <b>a</b>
MWCNT-MgO	24.6 b <b>a</b>	32.5 ab <b>ab</b>	40.62 ab <b>a</b>	44.8 a <b>a</b>
NP-MgO	24.6 b <b>a</b>	45.16 a <b>a</b>	36.16 ab <b>a</b>	41.78 ab <b>a</b>

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación de la concentración entre las diferentes nanopartículas.

Al hacer las comparación entre nanopartículas, la media de NP-MgO fue la más alta en la concentración baja (45.16 g), mientras que, a concentraciones altas, la NP asociada a Nanotubos de carbono funcionalizada fue la que expreso la media más alta (44.8 g).

Para el caso de los efectos principales, los análisis de varianza detectaron significancia para Número de mazorcas por unidad experimental, en el factor Genotipo y Concentración, y las comparaciones de medias se presentan en los Cuadros 8 y 9. Para el factor genotipos, esta variable mostró valores estadísticamente igual entre los genotipos P3057W y el Amarillo HIT-24, y diferentes al maíz negro carioca; esto quizás por los efectos causados por la falta de adaptación al ambiente de Marín, N.L.

Cuadro 8. Comparación de medias del factor principal Genotipo de la variable número de mazorcas ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en número de mazorcas por planta.

Número de mazorca				
Genotipo	Medias	n	E.E.	
P3057W	18.79	34	1.48	a
HIT-24	13.10	26	3.87	a
Negro carioca	1.69	22	4.53	b

Para el caso de factor concentración, aunque el análisis de varianza mostró significancia, la prueba de medias no resultó con significancia estadística, esto debido probablemente a la diferencia en el promedio de mazorcas entre los genotipos que mantienen un número de medias constantes y aquel que considerablemente no produjo mazorcas debido a su falta de adaptación, aunque se reconoce por otros autores, como Orak & Iptas (1999), que las diferencias para esta característica pueden atribuirse a las condiciones ambientales, al genotipo y a las aplicaciones agrícolas de fertilizante, riego, aclareo, entre otras (Cuadro 9).

Cuadro 9. Comparación de medias del factor principal Concentración ( $p \leq 0.05$ ), de la variable número de mazorcas, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en número de mazorcas por planta.

Número de mazorcas				
Concentración	Medias	n	E.E.	
150 mg L <sup>-1</sup>	0.23	24	0.03	a
250 mg L <sup>-1</sup>	0.23	26	0.03	a
0 mg L <sup>-1</sup>	0.23	8	0.14	a
100 mg L <sup>-1</sup>	0.21	25	0.03	a

Por último, la variable altura de mazorca resultó con significancia estadística en el factor genotipo y su comparación de medias muestra (Cuadro 10) que, al estar influenciada por el genotipo (Hallauer & Miranda, 1987), el maíz blanco P3057W y el Negro carioca superan estadísticamente al maíz amarillo HIT-24, esto muy relacionado al comportamiento según los factores abióticos de la zona donde son cultivados.

Cuadro 10. Comparación de medias del factor principal Genotipo de la variable altura de la mazorca ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en centímetros.

Altura de la mazorca

Genotipo	Medias	n	E.E.	
Negro carioca	98.33	26	3.59	a
P3057W	90.93	36	1.36	a b
HIT-24	85.92	27	3.59	b

#### 4.1.2 Determinación de Compuestos Fenólicos y Actividad Antioxidante

De acuerdo con los resultados del análisis de varianza para la determinación de compuestos fenólicos totales, no se encontraron diferencias significativas ya sea para los efectos principales o bien en las interacciones entre ellos; el mismo comportamiento se observó en la determinación de actividad antioxidante enzimática CAT, donde los niveles de esta enzima no se alteraron durante la aplicación de nanopartículas para este ensayo; esta enzima se encuentra asociada en los procesos de adaptación de los cultivos, como el maíz, al estrés de tipo abiótico, su sobre expresión, se encuentra asociada como indicador de resistencia (Li, 2016), sin embargo, este ciclo de cultivo no fue sometido a condiciones de estrés, por lo que no

es posible asociarles la aplicación sobre la resistencia a sequía o altas temperaturas, cómo en el caso del cobre, cobalto o hierro (Hoang *et al.*, 2019).

Cuadro 11. Valores de cuadrados medios de las variables agronómicas y de rendimiento ( $p \leq 0.05$ ).

F. V	CF <sup>1</sup> mgEAG g <sup>-1</sup>	ActCAT <sup>2</sup> (mmol mg•prot <sup>-1</sup> )
Genotipo	2.66	0.2
Error a	1.36	17.08
NP	2.71	39.7
Genotipo*NP	1.29	20.81
Error b	2.73	24.78
Concentración	1.27	34.09
Concentración*NP	3.53	21.03
Concentración*Genotipo	3.05	9.47
Concentración*NP* Genotipo	15.10	5.57
Error	1.98	16.05

CF<sup>1</sup> mg EAG g<sup>-1</sup> muestra: Compuestos fenólicos en miligramos por gramos de ácido gálico con relación a los gramos de la muestra inicial.

ActCAT<sup>2</sup> (mmol mg•prot<sup>-1</sup>): Actividad enzimática catalasa en milimoles por miligramos de proteína

## 4.2 Ensayo en Charolas de Germinación.

De acuerdo con los resultados del análisis de varianza (Cuadro 12), se observa que las variables: Peso seco de plántula (PSP), Reducción de las reservas de la semilla (RRS), Eficiencia de conversión de las reservas de la semilla (ECSR), Tasa de reducción de reservas de la semilla (TRRS), Tasa de movilización de reservas a la plántula (TMRP) y el Gasto energético (GE) resultaron con diferencia altamente significativa para el factor Genotipo, mientras que para el factor Nanopartícula, las variables que resultaron con diferencias significativas fueron para el Peso seco de raíz (PSR), Materia seca de la semilla (MSS), y la Reducción de reservas de la semilla

(RRS), y con diferencia altamente significativa se presentó en Peso seco de raíz (PSR) y Materia seca de semilla (PSS). Por último, para el factor Concentración, el Peso seco de plántula (PSP), Materia seca de la semilla (PSS), Reducción de reservas de la semilla (RRS), Eficiencia de conversión de reservas de la semilla (ECSR), la Tasa de reducción de reservas de la semilla (TRRS), Tasa de movilización de reservas a la plántula (TMRP) y gasto energético (GE) tuvieron significancia estadística.

Cuadro 12. Valores de cuadrados medios de las variables consideradas en el estudio de charolas.

F. V.	LP <sup>1</sup> mm•plántula	LR <sup>2</sup> mm•plántula	PSP <sup>3</sup> mg	PSR <sup>3</sup> mg	MSS <sup>5</sup> mg	MSE mg• endospermo	RRS mg	MSP mg	ECRS <sup>8</sup> mg•mg-1.	TRRS <sup>9</sup> %	TMRP <sup>10</sup> %	GE <sup>11</sup> %
Genotipo	3.64	0.26	1485.39	69192.66*	65192828.25**	32374.7	637930007.88**	383669.84	0.0021**	0.02*	0.28**	0.32**
Error a	11.32	36.2	2940.55	6850.2	290847.24	13049.06	251251.9	323609.88	0.0001	0.0027	0.01	0.01
NP	8.36	18.08	619.54	10338.03**	621423.92**	1631.53	561844.06*	110421.4	0.000041	0.00044	0.0049	0.0045
NP*Genotipo	23.09	8.85	934.12	1787.13	1035068.96**	2855.39	1015390.75**	374927.38	0.00025*	0.0011	0.02*	0.03*
Error b	8.09	9.26	350.15	923.41	93486.93	2660.99	105364.96	144004.16	0.000079	0.00079	0.01	0.01
Concentración	7.71	2.37	1259.25*	342.45	5284325.1**	3652.54	5513979.82**	191555.96	0.00044**	0.01**	0.06**	0.08**
Concentración* NP	4.85	5.1	470.32	4011.29**	1729444.55**	4718.82	1617323.07**	95940.66	0.00013	0.00099*	0.01	0.01
Concentración* Genotipo	4.07	0.54	115.32	340.08	72032.71	4966.59	97630.29	42295.83	0.000016	0.0014	0.0024	0.0029
Concentración* Genotipo*NP	2.46	5.61	533.05	280.24	142034.3	2174.2	124885.59	57134.08	0.000018	0.00048	0.0023	0.0023
Error	4.32	5.2	347.12	599.63	91247.05	4696.1	96762.48	134139.36	0.000069	0.0013	0.01	0.01

1. (LP: Largo de plántula, cm. LR: Largo de raíz, cm. PSP: Peso seco de planta, g. PSR: Peso seco de raíz, g. PSS: Peso seco de semilla, g. PG: Porcentaje de germinación, %. RRS: Reducción de reservas de la semilla. ECRS: Eficiencia de conversión de la reserva de la semilla, %. TRRS: Tasa de reducción de reservas de la semilla. TMRP: Tasa de movilización de reservas a la plántula. GE: Gasto energético.

Para las interacciones simples, se presentó significancia estadística para Genotipo X NP en las variables Materia seca de la semilla (PSS), Reducción de reservas de la semilla (RRS), Eficiencia de conversión de las reservas de la semilla (ECSR), la Tasa movilización de reservas a la plántula (TMRP) y el gasto energético (GE); en la interacción Concentración X NP las variables que resultaron con significancia estadística fueron Peso seco de raíz (PSR), Materia seca de la semilla (MSS) y la Reducción de reservas de la semilla (RRS). Por lo que discusión para esta fase de experimentación, al igual que la fase de campo, comenzará con las interacciones.

En las comparaciones de medias (Cuadro 13) con respecto a la primera interacción, Genotipo X NP, en la variable Materia seca de la semilla (MSS) se observó para las tres NP's evaluadas, el genotipo blanco P3057W, resultó con los mayores valores, seguido del genotipo Negro carioca y por último con el maíz Amarillo HIT-24,

Cuadro 13. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple Genotipo X NP de la variable Masa seca de la semilla (MSS), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en miligramos.

	Negro Carioca	HIT-24	P3057W
MWCNT-OH	5847.6 <b>b b</b>	4597.07 <b>c b</b>	7359.44 <b>a b</b>
MWCNT-MgO	5956.47 <b>b b</b>	4940.74 <b>c ab</b>	8290.91 <b>a a</b>
MgO	6119 <b>b a</b>	5375.84 <b>c a</b>	8117.01 <b>a a</b>

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en los genotipos aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación del genotipo entre las diferentes nanopartículas.

Cuando la comparación se hizo para cada genotipo comparando nanopartículas, los valores más altos estadísticamente fueron para la NP-MgO. Según los datos observados, esta nanopartícula metálica parece tener un efecto negativo en la utilización de las reservas de la semilla, ya que, al mantener los valores más altos, significa poca utilización de las reservas de las semillas, comparadas con las otras dos nanopartículas a base de nanotubos de carbono. Es importante mencionar el origen de los materiales genéticos utilizados, ya que el Amarillo y el Negro, provienen del estado de México y el Blanco (P3057W) es un híbrido que está representado para la zona noreste del país.

Con respecto a la variable reducción de reservas de la semilla (RRS), se observa el mismo comportamiento que la variable anterior, demostrando que el maíz P3057W, al estar adaptado ambientalmente a la zona, se llevan a cabo las actividades primarias de la germinación de manera óptima diferente a los otros genotipos, este genotipo fue donde hubo mayor reducción de estas reservas e inclusive de esta manera fue el que resultó con mayores reservas en el endospermo, esto debido probablemente al alto contenido y a la mejor estabilidad genética que este genotipo presenta (Cuadro 14).

Cuadro 14. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple NP X Genotipo de la variable reducción de reservas de la semilla, utilizando el método de

diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en miligramos•endospermo<sup>-1</sup>

	Negro Carioca	HIT-24	P3057W
MWCNT-OH	5560.86 b a	4290.79 c b	7091.56 a b
MWCNT-MgO	5694.38 b a	4652.12 c ab	7952.78 a a
MgO	5835.08 b a	5058.33 c a	7794.00 a a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en los genotipos aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación del genotipo entre las diferentes nanopartículas.

Con respecto a la variable Eficiencia de conversión de reservas de la semilla (ECSR %), se encuentra asociada con la capacidad del genotipo para remover nutrientes de los tejidos de reserva. En las tres NP's, el maíz amarillo mostró mejor eficiencia de conversión de las reservas de la semilla, en comparación con los maíces Negro carioca y el P3057W, con excepción de la MWCNT-MgO, donde el maíz negro carioca y el maíz amarillo Hit-24 comparten la superioridad estadística en comparación con el maíz blanco P3057W. Esto indica que, aunque el maíz blanco P3057W, presentó el mejor vigor en la semilla, la eficiencia de movilización no fue la mejor para este genotipo (Cuadro 15).

Cuadro 15. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple NP X Genotipo de la variable Eficiencia de conversión de reservas de la semilla (ECSR), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en miligramos•miligramos

	Negro Carioca	HIT-24	P3057W
MWCNT-OH	0.33 b a	0.43 a a	0.24 b a
MWCNT-MgO	0.35 a a	0.37 a a	0.2 b a
MgO	0.26 b a	0.36 a a	0.18 c a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en los genotipos aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación del genotipo entre las diferentes nanopartículas.

Para la variable tasa de movilización de reservas a la plántula (TMRP), se hace referencia a la proporción de los azúcares de las semillas pasan a ser parte de la planta; el comportamiento fue igual que para (ECSR) ya que el maíz amarillo resultó con la mayor capacidad de movilizar las reservas a la plántula, seguido del maíz Negro carioca y el maíz blanco P3057W; ambas variables representan la habilidad del genotipo para remover los nutrientes de los tejidos, confirmando la tendencia de este maíz amarillo a ser más eficiente que los otros dos (Cuadro 16). Sin embargo, el Negro carioca presentó con los nanotubos de carbono, una mayor eficiencia; mientras que en los otros genotipos no hubo significancia en las diferencias entre las nanopartículas.

Cuadro 16. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple NP X Genotipo de la variable tasa de movilización de reservas a la plántula (TMRP), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están presentadas porcentaje (%).

	Negro Carioca	HIT-24	P3057W
MWCNT-OH	31.49 b <b>ab</b>	40.16 a <b>a</b>	23.3 b <b>a</b>
MWCNT-MgO	33.55 a <b>a</b>	34.22 a <b>a</b>	19.05 b <b>a</b>
MgO	24.29 b <b>b</b>	33.63 a <b>a</b>	17.41 c <b>a</b>

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en los genotipos aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación del genotipo entre las diferentes nanopartículas.

Por último, para la variable gasto energético (GE), el comportamiento fue lo contrario a lo encontrado para las dos variables anteriores, ya que, en todas las nanopartículas, el GE fue menor en el Amarillo HIT-24, siendo los genotipos P3050W y Negro Carioca los que presentaron ahora, los valores más altos (Cuadro 17).

Cuadro 17. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple NP X Genotipo de la variable gasto energético, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están presentadas porcentaje (%).

	Negro Carioca	HIT-24	P3057W
MWCNT-OH	63.51 a a	53.18 b a	72.9 a a
MWCNT-MgO	62.16 b a	59.86 b a	77.05 a a
MgO	71.03 a a	60.27 b a	78.63 a a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en los genotipos aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación del genotipo entre las diferentes nanopartículas.

Este comportamiento está acorde a los resultados anteriores, ya que, al haber una mayor eficiencia en la movilización de las reservas, el costo estuvo asociado con el gasto energético.

En lo que respecta a la interacción de NP X Concentración, la variable Peso seco de raíz, las NP's asociadas a los nanotubos de carbono, incrementaron el peso seco en las diferentes concentraciones; mientras que la NP metálica, el comportamiento fue inverso, ya que el peso seco de raíz fue más bajo en las concentraciones que el testigo, posiblemente por la probable toxicidad que se puede incurrir con las diferentes concentraciones de esta NP (Cuadro 18). Segatto *et al.* (2020), explicando que las nanopartículas de óxido de magnesio son absorbidas en las células fibrosas del pericarpio de la semilla, y almacenado como aglomerado en las cavidades celulares, lo que favorecería la migración de las nanoestructuras al endospermo de la semilla, permitiéndole ser fuente de magnesio para la semillas, con disponibilidad durante el desarrollo y el proceso de germinación.

Cuadro 18. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple NP X Concentración de la variable peso seco de raíz (PSR), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están presentadas en miligramos.

	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	80.29 b b	125.86 a a	127.15 a a	125.04 a a
MWCNT-MgO	33.41 b c	113.17 a a	110.88 a a	105.45 a a
MgO	211.02 a a	134.61 b a	132.23 b a	126.11 b a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación de la concentración entre las diferentes nanopartículas.

Para la variable, reducción de reservas de las semillas (RRS) (Cuadro 19), la NP MWCNT-OH no presentó diferencias entre la aplicación de diferentes concentraciones y el tratamiento control, mientras que el MWCN-MgO, y el NP-MgO tuvieron menores valores en las aplicaciones de las NP's a las diferentes concentraciones comparadas con el control, lo que significa que la NP ayudaron a disminuir las reservas en el endospermo, consecuentemente a utilizarlas, posiblemente en otras partes de la plántula.

Cuadro 19. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple NP X Concentración de la variable reducción de reservas de las semillas, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en miligramos•endospermo<sup>-1</sup>

	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	5768.06 a c	5639.08 a a	5665.01 a a	5518.79 a a
MWCNT-MgO	7324.76 a b	5651.5 b a	5809.03 b a	5613.75 b a
MgO	8184.54 a a	5495.58 b a	5582.25 b a	5654.18 b a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación de la concentración entre las diferentes nanopartículas.

Al comparar nanopartículas dentro de cada concentración, la tendencia fue siempre a que las NP's asociadas al Mg fueron las que tuvieron los valores más bajos, indicando un efecto en disminuir las reservas en el endospermo, consecuentemente siendo más efectivas en promover la movilización hacia otras partes de la planta.

Para el caso de la variable tasa de reducción de reservas de la semilla (TRRS) (Cuadro 20), el MWCNT-OH, no presentó diferencias entre los tratamientos aplicados y el tratamiento control, mismo comportamiento tuvo la NP-MgO, no así para el MWCNT-MgO donde la aplicación a las concentraciones de 100, 150 y 250 mg L<sup>-1</sup> muestran valores inferiores estadísticamente al tratamiento control. Este comportamiento demuestra los efectos de los nanotubos de carbono funcionalizado con el MgO, al provocar una velocidad lenta en la reducción de las reservas de las semillas.

Cuadro 20. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple NP X Concentración de la variable tasa de reducción de la reservas de la semillas, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en porcentaje (%).

	0 mg L <sup>-1</sup>	100 mg L <sup>-1</sup>	150 mg L <sup>-1</sup>	250 mg L <sup>-1</sup>
MWCNT-OH	94.98 a b	94.54 a a	95.12 a a	94.77 a a
MWCNT-MgO	96.89 a a	95 b a	94.78 b a	94.51 b a
MgO	96.15 a a	94.5 a a	94.96 a a	94.73 a a

Las diferencias representadas con a, b o c corresponden a la comparación de cada nanopartículas en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a b y c**, corresponden a la comparación de la concentración entre las diferentes nanopartículas.

La variable peso seco de plántula, fue la única en las que el análisis de varianza no resultó con diferencias significativas en las interacciones simples, que pudiera

responder la significancia en los factores principales, resultando con diferencia significativa en el factor concentración, las comparaciones de medias indican que las tres concentraciones resultaron estadísticamente iguales entre ellas y mayores al tratamiento control (Cuadro 21).

Cuadro 21. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable peso seco de plántula ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en miligramos.

Peso seco de plántula				
Concentración	Medias	n	E.E.	
250 mg L <sup>-1</sup>	85.59	36	3.26	a
100 mg L <sup>-1</sup>	84.24	36	3.26	a
150 mg L <sup>-1</sup>	82.19	36	3.26	a
0 mg L <sup>-1</sup>	58.01	12	16.32	b

Este comportamiento claramente demuestra la tendencia del efecto de las nanopartículas a dirigir, con mayor certeza, al efecto en el crecimiento de la raíz; posiblemente por ser el principal órgano en desarrollo en las fases iniciales del crecimiento.

Los análisis de las variables con relación a la capacidad y la eficiencia de la semilla para formar a la plántula, bajo la aplicación de nanopartículas, permiten concluir que el vigor de las semillas se encuentra estrechamente relacionado al genotipo, es decir, que el genotipo mejor adaptado, en este caso el maíz P3057W y las nanopartículas de naturaleza de carbono, presentaron la mejor relación de efecto-beneficio en

comparación con aquellos genotipos que no se encuentran adaptados a la zona de Marín y a las nanopartículas de óxido de magnesio (Andrade *et al.*,2019)

### **4.3 Ensayo de Charolas de Germinación con Aplicación de Estrés de Sequía y Alta temperatura.**

Los análisis de esta sección fueron realizados aplicando el mismo modelo estadístico que en los ensayos anteriores. Para llevar esto a cabo, se analizaron cómo niveles de factores a las nanopartículas (MWCNT-OH, MWCNT-MgO y NP-MgO), las concentraciones aplicadas (0 y 250 mg L<sup>-1</sup>) y las condiciones ambientales, ya sea alta temperatura o sequía. Cada análisis se realizó por separado; es decir comparando alta temperatura vs testigo y el otro análisis comparando sequía vs testigo. Estos análisis de varianza ajustados al modelo de parcelas subdivididas se realizaron por genotipos, por lo que la descripción de los resultados se menciona en función de estos.

#### **4.3.1 Genotipo morado San Luis**

De acuerdo a los análisis de varianza para la condición de sequía en este genotipo (Cuadro 22), se observa que en el caso de efectos principales, para el factor nanopartículas no se obtuvo significancia para ninguna de las variables, no así para la fuente de variación concentración, donde el Peso seco de raíz y la actividad enzimática catalasa (PSR y Act Cat, respectivamente) resultaron con diferencias estadísticamente significativas; por último, en el caso de la fuente de variación

condición, las variables Largo total de plántula, el Largo de plántula fresca y el Peso seco de semilla (LTP, LPF y PSS) resultaron con significancia estadística . En el caso de las interacciones simples, la interacción de efectos principales Nanopartícula X Condición tuvo significancia estadística en la variable Largo total de plántula (LTP), misma variable con significancia en la interacción doble NP X Concentración X Condición, por lo que la comparación de medias se hizo con las medias de esta interacción. Por último, en la interacción de Concentración X Condición las variables de compuestos fenólicos, Largo total de plántula y el Largo de plántula (LTP y LP, respectivamente), fueron las variables que demostraron significancia estadística, por lo que se procedió a trabajar con las comparaciones de medias para cada significancia de estas variables.

Cuadro 22. Valores de cuadrados medias del genotipo morado San Luis en la comparación de condiciones de sequía y condiciones normales.

F.V.	CF mgEAG g <sup>-1</sup>	LTP cm	LPF cm	LR cm	PSP g	PSR g	PSS g	Act Cat mmol mg prot <sup>-1</sup>
NP	0.0343	9.571	4.14555486	4.74793403	0.00000334	0.000056	0.0004	0.000000379
Error a	0.111	9.683	2.82	5.48272569	0.00194176	0.00105537	0.00071748	0.00000035
concentración	0.0001	10.912	4.00333403	28.13418403	0.00089	0.01201216*	0.000081	0.00000984**
NP*Concentración	0.0343	9.571	4.14555486	4.74793403	0.00000334	0.000056	0.00045	0.00000038
Error b	1.676	12.846	2.9124896	16.19595486	0.00746723	0.00242667	0.00062824	0.00000346
Condición	0.004	486.1290028**	303.1371174**	21.50640625	0.01374756	0.0004	.00208*	1.35E-08
NP*Condición	0.104	38.5764507*	3.6061799	18.88890625	0.00107106	0.000857	0.00027	0.000000289
Concentración*Condición	2.507	141.3324694**	58.5352507**	17.95640625	0.00091	0.000725	0.000026	0.00000112
NP*Concentración*Condición	0.208	38.5764507*	3.6061799	18.88890625	0.00107	0.000857	0.0002715	0.000000289
Error c	2.6113	8.25	2.2041396	6.8821354	0.00365302	0.00133969	0.000246442	0.00000051

1. CF: Compuestos fenólicos (mgEAG g<sup>-1</sup>); 2. LTP: Largo total de plántula (cm); 3. LPF: Largo de parte de aérea (cm); 4. LR: Largo de la raíz (cm); 5. PSP: Peso seco de plántula (g); 6. PSR: Peso seco de raíz (g); 7. PSS: Peso seco de semilla (g); 8. Act cat (mmol mg prot<sup>-1</sup>)

La comparación de medias para la interacción Concentración X Condición en las variables de largo total de plántula y largo de plántula (parte aérea), muestran el mismo comportamiento (Cuadro 23 y 24); es decir, se obtuvieron mayores valores de medias cuando las plántulas se encontraron en condiciones ambientales normales, inclusive, con y sin la aplicación las nanopartículas; sólo en el caso de la parte aérea de la plántula se observó una diferencia, teniendo mayor longitud bajo la aplicación de nanopartículas con respecto al control (31.4 y 28.53 cm, respectivamente), esta misma diferencia se observó en el largo total de la plántula bajo condiciones de sequía, donde la aplicación de las nanopartículas provocaron 5 cm de diferencia con respecto a la ausencia de este tratamiento de nanopartículas.

Cuadro 23. Comparaciones de medias de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo total de plántula ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en cm.

C.V. 4.78

	Sequía	Riego
0 mg L <sup>-1</sup>	58.9333 <b>b a</b>	62.32 <b>a a</b>
250 mg L <sup>-1</sup>	53.8694 <b>b b</b>	65.1816 <b>a a</b>

Las diferencias representadas con a y b corresponden a la comparación de cada condición en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a y b**, corresponden a la comparación de la concentración en cada condición.

Cuadro 24. Comparaciones de medias de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo de plántula, haciendo referencia a la parte aérea de la plántula ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están cm.

C.V 5.50

	Sequía	Riego
0 mg L <sup>-1</sup>	25 <b>b b</b>	28.253 <b>a b</b>
250 mg L <sup>-1</sup>	23.1166 <b>b b</b>	31.470556 <b>a a</b>

Las diferencias representadas con a y b corresponden a la comparación de cada condición en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a y b**, corresponden a la comparación de la concentración en cada condición.

Bajo condiciones de estrés de sequía, la alteración en la expresión de las características de crecimiento en las plantas es un fenómeno común (Chegah *et al.*, 2013). Para el caso de la presente investigación, las alteraciones se presentaron en la longitud total de la planta y en la parte aérea; estas características presentaron una disminución en los valores en condiciones de sequía con y sin la aplicación de nanopartículas, ubicándose en un grupo estadístico inferior a los valores obtenidos en condiciones normales; esto mismo ocurrió en una investigación realizada por Hatami *et al.* (2016), en donde se imbibieron semillas de *Hyoscyamus niger* durante 24 h, en soluciones diferentes concentraciones de SWCNT (0, 50, 100, 200, 400, 800  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) bajo condiciones de sequía provocada mediante el uso de Polietilenglicol (-1.5 MPa). El análisis de las variables de longitud de raíz y longitud de parte aérea de *H. niger*, en plántulas a los 21 días, el tratamiento control fue superior estadísticamente a los valores observados en las concentraciones aplicadas de SWCNT, concluyendo que, a una alta exposición de condiciones de sequía, la aplicación de las nanopartículas no genera un beneficio en la expresión de características de interés para el crecimiento de la plántula.

En lo que respecta a los resultados para el peso seco de semilla en la fuente de variación condición, se aprecia en el Cuadro 25, que el tratamiento de sequía presentó valores medios más alto para esta variable, esto debido probablemente, a que la supresión en el suministro de agua interrumpe las actividades de crecimiento normales, por lo que el peso restante del endospermo, presenta un mayor valor con

respecto a aquellas plántulas que tuvieron un desarrollo normal y utilizaron sus reservas de manera adecuada.

Cuadro 25. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable peso seco de semilla ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en gramos.

CV: 42.71

Condición	Medias	n	
Sequía	0.044361	18	a
Riego	0.029139	18	b

Por último, en lo que respecta a este genotipo morado San Luis, el análisis mostró diferencias significativas para la fuente de variación concentración en la variable peso seco de raíz, donde se observa que el tratamiento sin nanopartículas provocó los mayores valores de esta variable, este mismo comportamiento lo presentó la variable Actividad Catalasa (Cuadros 26 y 27); resultado similares se presentaron en *H. niger*, donde el tratamiento control, obtuvo también mayores valores de actividad catalasa que las plántulas en tratamiento con nanopartículas en todas las concentraciones aplicadas (Hatami *et al.*, 2016). Por lo que probablemente este ensayo enzimático realizado, no sea suficiente para asociar el efecto que las nanopartículas pudieran tener para mitigar los daños por la exposición a este estrés abiótico, o que la concentración haya sido demasiado alta, como para causar un efecto negativo en el crecimiento de la raíz.

Cuadro 26. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable peso seco de raíz ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en gramos.

CV: 18.35

Concentración	Medias	n	
0 mg L <sup>-1</sup>	0.21767	18	a

250 mg L <sup>-1</sup>	0.18113	18	b
------------------------	---------	----	---

Cuadro 27. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable actividad enzimática catalasa ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en mmol mgprot<sup>-1</sup>

CV: 92.71

Concentración	Medias	n	
0 mg L <sup>-1</sup>	0.0012894	18	a
250 mg L <sup>-1</sup>	0.0002438	18	b

De acuerdo con el análisis de varianza para el análisis de los efectos de la alta temperatura en este genotipo (Cuadro 28), no se observaron diferencias significativas para el factor nanopartícula en ninguna de las variables analizadas, mientras que para el factor concentración, las diferencias significativas se presentaron para la longitud total de plántula, longitud de la raíz y la actividad antioxidante catalasa; finalmente para el factor condición se presentó significancia para las variables largo total de plántula y longitud de la raíz. En lo que respecta a las interacciones, sólo la interacción Concentración X Condición presentó significancia para las variables largo total de plántula, largo de plántula fresca (variable que hace referencia a la parte aérea de la plántula, exceptuando la raíz) y para largo de la raíz.

Cuadro 28. Valores de cuadrados medios del genotipo morado San Luis en la comparación de condiciones de alta temperatura y condiciones normales.

F.V.	CF mgEAG g <sup>-1</sup>	LTP cm	LPF cm	LR cm	PSP g	PSR g	PSS g	Act Cat mmol mg prot <sup>-1</sup>
NP	0.008	6.704	5.61131458	8.47527778	0.00141058	0.0002479	0.00000658	0.00000042
Error a	1.362	24.145	6.13043542	8.5344444	0.00317923	0.0019791	0.00005708	0.00000119
concentración	0.578	120.3226174**	8.68775625	193.673611**	0.00024492	0.00644006	0.00000756	0.00000482*
NP*Concentración	0.008	6.704	5.61131458	8.4752778	0.00141058	0.0002479	0.0000658	0.00000042
Error b	3.390	30.619	5.46749097	16.7788889	0.0032466	0.00177566	0.00005237	0.00000462
Condición	1.003	93.8153674*	3.74745069	60.0625*	0.00052823	0.00041684	0.00042367	0.0000003
NP*Condición	0.153	16.91	1.86910903	11.8225	0.00009036	0.00063034	0.00001769	0.00000001
Concentración*Condición	0.658	382.3654340**	44.94585069*	165.1225**	0.0002346	0.00000584	0.00028617	0.00000001
NP*Concentración*Condición	0.306	16.90	1.86910903	11.8225	0.00009036	0.00063034	0.00001769	0.0000014
Error c	2.641	11.26	6.5763562	12.3566667	0.01108768	0.00469263	0.0003396	0.00000098

1. CF: Compuestos fenólicos (mgEAG g<sup>-1</sup>); 2. LTP: Largo total de plántula (cm); 3. LPF: Largo de parte de aérea (cm); 4. LR: Largo de la raíz (cm); 5. PSP: Peso seco de plántula (g); 6. PSR: Peso seco de raíz (g); 7. PSS: Peso seco de semilla (g); 8. Act cat (mmol mg prot<sup>-1</sup>)

En respuesta a los resultados de análisis de varianza, se procedió a realizar las comparaciones de medias de las interacciones, tal es el caso de la variable largo total de plántula (Cuadro 29).

Cuadro 29. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo total de plántula, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están cm.

CV: 5.13

	Alta Temperatura	Riego
0 mg L <sup>-1</sup>	72.06 a a	62.32 b a
250 mg L <sup>-1</sup>	61.892 a b	65.18166 a a

Las diferencias representadas con a y b corresponden a la comparación de cada condición en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a y b**, corresponden a la comparación de la concentración en cada condición.

En este cuadro se observa que las altas temperaturas aplicadas provocaron un incremento en el largo total de la planta cuando no se aplicaron nanopartículas, mientras que, en el tratamiento de nanopartículas, los valores fueron estadísticamente iguales para esta variable, posiblemente induciendo una respuesta positiva a la aplicación de nanopartículas, disminuyendo el efecto negativo del estrés causado por la alta temperatura. Un resultado similar se presentó para la longitud de la parte aérea (Cuadro 30).

Cuadro 30. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo plántula, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están cm.

CV: 8.49

	Alta Temperatura	Riego
0 mg L <sup>-1</sup>	31.133 a a	28.2533 b a
250 mg L <sup>-1</sup>	29.8811 a b	31.4705 a a

Las diferencias representadas con a y b corresponden a la comparación de cada condición en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a y b**, corresponden a la comparación de la concentración en cada condición.

Lindsay y Thomison (2012) mencionaron que la temperatura ideal para el óptimo desarrollo del maíz varía de los 25/32 °C (durante el día) y 15/21 °C (durante la noche) y los efectos dependen del genotipo de maíz que se esté evaluando. Los daños ocasionados por los efectos de altas temperaturas nocturnas en el maíz se observan en una disminución de los azúcares producidos por la planta durante el día, lo que provoca una maduración temprana y con ello una mayor expresión del crecimiento, aunque por un tiempo corto. Esto se puede observar con los resultados obtenidos de las variables mencionadas anteriormente, sin embargo, el efecto de la nanopartícula atenúa los efectos de las altas temperaturas en las plantas que fueron sometidas a este estrés, demostrado por la ausencia de diferencias estadísticas con respecto al testigo. Probablemente las nanopartículas pudieran tener un efecto en los sistemas de regulación del estrés ocasionado, en este caso por las altas temperaturas, y que fueron mencionados por Khan et al. (2017).

El análisis de la interacción Concentración X Condición (Cuadro 31) para la variable largo de raíz, se observó el mismo efecto mostrado en las variables anteriores, en donde la aplicación de altas temperaturas sin nanopartículas provocó mayor crecimiento en la longitud de las raíces, con efecto positivo al comparar condiciones ambientales en la concentración de 250 mg L<sup>-1</sup>.

Cuadro 31. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable largo de raíz, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están cm.

CV: 9.99

	Alta Temperatura	Riego
0 mg L <sup>-1</sup>	40.9333 a a	34.066 b a
250 mg L <sup>-1</sup>	32.01 b b	33.711 a a

Las diferencias representadas con a y b corresponden a la comparación de cada condición en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a y b**, corresponden a la comparación de la concentración en cada condición.

Por último, el análisis de la variable actividad enzimática catalasa, que presentó diferencias estadísticamente significativa para la fuente de variación concentración (Cuadro 32), presentó mayor actividad enzimática sin la aplicación de nanopartículas para las dos condiciones ambientales que se probaron en este experimento, resultados similares fueron encontrados por Zhao *et al.* (2012) al evaluar los efectos de la aplicación de nanopartículas de CeO<sub>2</sub> en el suelo en concentraciones de 400 y 800 mg kg<sup>-1</sup> de plántulas de maíz. Los resultados que obtuvieron. indican que la aplicación de las nanopartículas generaron altas concentraciones de la enzima Catalasa, en el día 10 después de la aplicación, mientras que el control se mantuvo sin niveles de expresión; sin embargo, al avanzar los días de exposición, se observó una regulación de estos niveles a la par de los niveles presentes en el tratamiento control, demostrando que las nanopartículas de CeO<sub>2</sub> no generaron el estrés debido a la acumulación de la nanopartícula en las plantas, sino a la interacción de las raíces de las plantas con la nanopartícula, por lo que la aplicación de nanopartículas no representa una causa en el aumento de la actividad de esta enzima.

Cuadro 32. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable actividad enzimática catalasa ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en mmol mg prot<sup>-1</sup>.

C.V. 113.10

Concentración	Medias	n	
0 mg L <sup>-1</sup>	0.0012427	18	a
250 mg L <sup>-1</sup>	0.0005111	18	b

#### 4.3.2. Genotipo Blanco Hualahuises

De acuerdo con los análisis de varianza (Cuadro 33), este genotipo resultó con diferencias estadísticamente significancia para el factor principal nanopartícula en las variable peso seco de la raíz; para el factor concentración, las diferencias se presentaron para las variables, peso seco de la semilla y actividad enzimática catalasa; para el factor condición las diferencias estadísticamente significativas fueron para las variables, largo total de plántula, largo de la porción aérea de la planta y peso seco de la semilla. En el caso de las interacciones, se observó significancia estadística para las variable peso seco de semilla en la interacción de Concentración X Condición.

Cuadro 33. Valores de cuadrados medios del genotipo Blanco Hualahuises en la comparación de condiciones de sequía y condiciones normales.

F. V	CF mgEAG g <sup>-1</sup>	LTP cm	LPF cm	LR cm	PSP g	PSR g	PSS g	Act Cat mmol mg prot <sup>-1</sup>
NP	3.154	15.866	2.4996	15.3378	0.00307	0.0025585*	0.00015903	1.29E-08
Error a	2.154	19.9295854	9.380984	7.7035944	0.0053402	0.00035161	0.00015803	0.0000001
concentración	1.043	10.503	12.3962	45.720136	0.00293403	0.00212367	0.00586501**	0.00003466*
NP*Concentración	3.154	15.8666	2.4996	15.33780278	0.00307284	0.0026653	0.0015903	0.00000001
Error b	2.626	41.4808099	8.9830813	22.2656083	0.00077532	0.0026653	0.00023265	0.00000474
Condición	4.525	816.00683**	374.5837674**	84.85	0.00030625	0.00290701	0.00630701**	0.0000014
NP*Condición	1.378	19.3969	2.277934	10.947	0.00010602	0.00164942	0.00049169	0.00000001
Concentración*Condición	3.132	99.351	0.4171007	86.8934	0.00021025	0.00701406	0.00563751**	0.00000218
NP*Concentración*Condición	1.378	19.3969	2.277934	10.947	0.00010602	0.00132315	0.00049169	0.0000001
Error c	1.405	27.98	11.5893174	21.2177287	0.00457693	0.00268945	0.00059805	0.00000154

1. CF: Compuestos fenólicos (mgEAG g<sup>-1</sup>); 2. LTP: Largo total de plántula (cm); 3. LPF: Largo de parte de aérea (cm); 4. LR: Largo de la raíz (cm); 5. PSP: Peso seco de plántula (g); 6. PSR: Peso seco de raíz (g); 7. PSS: Peso seco de semilla (g); 8. Act cat (mmol mg prot<sup>-1</sup>)

Para la variable Peso seco de semilla (Cuadro 34), la interacción Condición X Concentración presentó el mismo comportamiento que el genotipo morado San Luis, donde bajo la aplicación de este tipo de estrés abiótico, provocó que las reservas de las semillas no se hayan utilizado en su totalidad, por lo que, el peso seco restante se acumuló en ausencia de las nanopartículas, mientras que, en presencia de la nanopartícula, no se observaron diferencias entre condiciones (riego-sequía).

Cuadro 34. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable peso seco de semilla, utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en gramos.

CV: 54.97

	Sequía	Riego
0 mg L <sup>-1</sup>	0.083 a <b>a</b>	0.0315 b <b>a</b>
250 mg L <sup>-1</sup>	0.0324 a <b>b</b>	0.031 a <b>a</b>

Las diferencias representadas con a y b corresponden a la comparación de cada condición en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a y b**, corresponden a la comparación de la concentración en cada condición.

Por último, en el análisis de medias para efectos principales, fue solo en la fuente de variación “condición” donde las variables largo total de plántula y largo de plántula (Cuadros 35 y 36) presentaron diferencias estadísticamente significativas,

demostrando que ambas variables tuvieron mejor comportamiento bajo condiciones normales a diferencia de los valores obtenidos bajo condiciones de sequía, demostrando que, en este caso, el efecto de la sequía en este genotipo.

Cuadro 35. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable largo total de plántula ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en centímetros

CV: 8.11

Condición	Medias	n	E.E.
Riego	69.957	18	a
Sequía	60.435	18	b

Cuadro 36. Comparación de medias del factor principal Condición de la variable largo de plántula ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en centímetros.

CV: 11.14

Condición	Medias	n	
Riego	33.772	18	a
Sequía	27.321	18	b

En lo que respecta al efecto principal concentración (Cuadro 37), la variable peso seco de semilla resultó con mayores valores sin la aplicación de nanopartículas, esto como resultado de una disminución de reservas de la semilla de manera no tan eficiente a la que se llevó a cabo cuando las nanopartículas fueron aplicadas Andrade *et al.* (2019);

Cuadro 37. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable Peso seco de la semilla ( $p \leq 0.05$ ) utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en gramos

CV: 54.97

Concentración	Medias	n	
0 mg L <sup>-1</sup>	0.05725	18	a
250 mg L <sup>-1</sup>	0.031722	18	b

En lo que respecta a la actividad enzimática catalasa, esta variable presentó el mismo comportamiento, mostrando los valores de medias más altos cuando no se aplicaron nanopartículas, resultando en que la aplicación de nanopartículas interfiere con la correcta expresión de esta enzima en la plántula (Cuadro 38).

Cuadro 38. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable actividad enzimática catalasa ( $p \leq 0.05$ ) utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en  $\text{mmol mg prot}^{-1}$

CV: 114.64			
Concentración	Medias	n	
0 $\text{mg L}^{-1}$	0.0020653	18	a
250 $\text{mg L}^{-1}$	0.0001027	18	b

Por último, la comparación de medias en la variable de peso seco de raíz, la cual resultó con diferencias altamente significativas en el factor principal nanopartícula, muestra que no hay diferencia significativa entre el uso de nanopartículas y la expresión de esta variable, pues las tres nanopartículas resultaron estadísticamente iguales (Cuadro 39).

Cuadro 39. Comparación de medias del factor principal Nanopartícula de la variable Peso seco de raíz ( $p \leq 0.05$ ) utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en gramos.

CV: 29.32			
Nanopartícula	Medias	n	
MWCNT-MgO	0.19325	12	a
NP-MgO	0.17217	12	a
MWCNT-OH	0.16521	12	a

De acuerdo con el análisis de varianza para las condición de alta temperatura en este genotipo (Cuadro 40), no se observaron diferencias significativas en el factor nanopartícula, mientras que en el factor concentración las variables compuestos fenólicos y la actividad enzimática catalasa mostró significancia estadística; por último, en el factor condición se presentó significancia en la variable de compuestos fenólicos. En lo que respecta a las interacciones simples, sólo la Concentración X Condición presentó significancia en la variable compuestos fenólicos.

Cuadro 40. Valores de cuadrados medios del genotipo Blanco Hualahuises en la comparación de condiciones de alta temperatura y condiciones normales.

F.V.	CF mgEAG g <sup>-1</sup>	LTP cm	LPF cm	LR cm	PSP g	PSR g	PSS g	Act Cat mmol mg prot <sup>-1</sup>
NP	0.189	10.482	1.3433333	5.55201111	0.00625	0.0028284	0.00039608	4.33191E-07
Error a	3.539	41.936	20.20546667	16.2080111	0.00181652	0.00086673	0.00040867	0.00000046
concentración	4.781**	21.437	36.6025	1.6129	0.00017556	0.000081	0.00015625	0.00001068**
NP*Concentración	0.094	10.482	1.34333333	5.552011	0.00625515	0.0028284	0.00039608	0.00000043
Error b	0.975	53.075	13.5921889	38.4007518	0.00417766	0.00083558	0.00046495	0.00000699
Condición	2.201*	113.139	16.67361111	41.0026778	0.00923201	0.0004669	0.000225	0.00000001
NP*Condición	0.665	15.27	0.36777778	15.6610111	0.00118209	0.00451284	0.00049508	0.00000033
Concentración*Condición	2.068*	4.40	3.54694444	14.6689	0.00280017	0.00082178	0.000196	0.00000131
NP*Concentración*Condición	0.665	15.27	0.36777778	15.66	0.00118209	0.00451284	0.00049508	0.00000033
Error c	0.295	44.08	19.3735778	16.2202704	0.00541309	0.00303614	0.00041466	0.00000052

1. CF: Compuestos fenólicos (mgEAG g<sup>-1</sup>); 2. LTP: Largo total de plántula (cm); 3. LPF: Largo de parte de aérea (cm); 4. LR: Largo de la raíz (cm); 5. PSP: Peso seco de plántula (g); 6. PSR: Peso seco de raíz (g); 7. PSS: Peso seco de semilla (g); 8. Act cat (mmol mg prot<sup>-1</sup>)

En las comparaciones de medias para la interacción concentración X condición, de la variable “compuestos fenólicos” (Cuadro 41), se muestra cómo la aplicación de nanopartículas no presenta diferencias estadísticamente significativas en la concentración de compuestos fenólicos en condiciones de alta temperatura y temperatura normal representando probablemente interacción con la planta para generar una regulación ante estrés de tipo abiótico ya que sin la aplicación de nanopartículas, se observa una diferencia estadística, observándose mayor concentración de fenoles bajo estrés de alta temperatura en comparación de las plántulas en condiciones normales. Este comportamiento probablemente se debe a que el estrés de alta temperatura promueve una sobre producción de proteínas de shock térmico, auxiliando a las demás proteínas en mantener su estabilidad bajo este tipo de estrés, tomando un rol fundamental en la termo tolerancia, Khodakovskaya *et al.* (2011) observó que los MWCNT regulan positivamente algunos genes asociados con el estrés como el gen HSP90 el cual sintetiza una proteína de shock térmico.

Cuadro 41. Comparaciones de medias ( $p \leq 0.05$ ), de la interacción simple Concentración X Condición de la variable compuestos fenólicos utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están  $\text{mgEAG g}^{-1}$ .

CV: 14.31

	Alta Temperatura	Temperatura normal
0 $\text{mg L}^{-1}$	4.649 <b>a a</b>	3.675 <b>b a</b>
250 $\text{mg L}^{-1}$	3.44 <b>a b</b>	3.425 <b>a a</b>

Las diferencias representadas con a y b corresponden a la comparación de cada condición en las concentraciones aplicadas, las diferencias representadas con **a y b**, corresponden a la comparación de la concentración en cada condición.

Por último, la variable actividad enzimática catalasa, la cual resultó con diferencias estadísticamente significativas en la fuente de variación concentración (Cuadro 42), la comparación de medias mostró que hay mayor actividad enzimática cuando las nanopartículas no fueron aplicadas, resultando que la aplicación de estas nanopartículas, una vez aplicado los tratamientos de estrés tienen capacidad de regular la expresión de esta enzima; resultados similares obtuvieron Zhao et al., (2012) quienes demostraron que la actividad enzimática se redujo al mismo grupo estadístico que el tratamiento control, después de 15 días de exposición de nanopartículas de selenio en el sustrato de plántulas de maíz a una concentración de 400 mg kg<sup>-1</sup>.

Cuadro 42. Comparación de medias del factor principal Concentración de la variable actividad enzimática catalasa ( $p \leq 0.05$ ) utilizando el método de diferencia mínima significativa, los valores de medias de esta variable están en miligramos

CV: 79.26

Concentración	Medias	n	
0 mg L <sup>-1</sup>	0.0014513	18	a
250 mg L <sup>-1</sup>	0.0003622	18	b

## 5 CONCLUSIONES

La aplicación de nanopartículas metálicas como la NP-MgO y el MWCNT-MgO en el cultivo de maíz, a nivel de campo y a nivel de plántulas, resultó con un incremento, aunque no significativo de variables de rendimiento y fisiología en la planta, a diferencia del MWCNT-OH; en este caso la sinergia entre nanopartículas depende principalmente del genotipo y de su adaptación en el ambiente que se desea llevar a cabo, sin embargo los efectos de la aplicación de nanopartículas no provocaron alteración en el contenido de compuestos fenólicos en el tejido foliar del cultivo ni un incremento en el actividad antioxidante, por lo que no se observó un efecto dañino al crecimiento de la planta de maíz cuando este cultivo se llevó hasta llenado de grano; debido a que en algunas características agronómicas se observó un beneficio en la aplicación de nanopartículas, se pudiera pensar en la posibilidad de utilizarlas como fertilizantes, sin embargo es necesario determinar la especificidad de la nanopartículas con el cultivo de interés así como las interacciones bioquímicas y genéticas de las nanopartículas y realizar investigaciones con este propósito..

## **6 RECOMENDACIÓN**

Esta investigación sienta las bases para el uso de nanopartículas a nivel de campo para el cultivo de maíz, lo cual ha permitido definir las áreas para obtener resultados concluyentes en favor del incremento en el rendimiento de producción del maíz cultivado en México, las cuales se consideran a continuación:

1. Análisis elementales de la materia seca del cultivo en evaluación de la captación de la nanopartícula por vía foliar.
2. Análisis de clorofilas y tasa fotosintética para evaluar el efecto bioquímico in situ de la nanopartícula.
3. Análisis moleculares a nivel de transcriptoma para evaluar qué efectos tienen las nanopartículas a nivel génico.
4. Bloquear la investigación con un determinado genotipo en el cual se tenga interés, una nanopartícula metálica y una concentración para llevarlo a cabo en un cultivo a cielo abierto y determinar variables agronómicas.

## 7 BIBLIOGRAFÍA.

1. Adhikari, T., Kundu, S., Biswas, A. K., Tarafdar, J. C., and Rao, A. S. (2012). Effect of copper oxide nano particle on seed germination of selected crops. *J. Agric. Sci. Technol. A* 2, 815–823. doi: 10.17265/2161-6256/2012.06A.009.
2. Andrade, G. C. D., Coelho, C. M. M., & Padilha, M. S. (2019). Seed reserves reduction rate and reserves mobilization to the seedling explain the vigour of maize seeds. *Journal of Seed Science*, 41, 488-497.
3. Calanca, P. P. (2017). Effects of abiotic stress in crop production. In *Quantification of climate variability, adaptation and mitigation for agricultural sustainability* (pp. 165-180). Springer, Cham.
4. Cano, A. M., Kohl, K., Deleon, S., Payton, P., Irin, F., Saed, M., Shah, Green, M., & Cañas-Carrell, J. E. (2016). Determination of uptake, accumulation, and stress effects in corn (*Zea mays* L.) grown in single-wall carbon nanotube contaminated soil. *Chemosphere*, 152, 117-122.
5. Carolina Feitosa de Vasconcelos, A., Zhang, X., H Ervin, E., & de Castro Kiehl, J. (2009). Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. *Sci. agric.*
6. Centro de información de mercados agroalimentarios (CIMA), 2020. *REPORTE DEL MERCADO DE MAÍZ*. Ciudad de México, pp.3-18.

7. Chalker-Scott, L. (1999). Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and photobiology*, 70(1), 1-9.
8. Chegah S, Chehazi M, Albaji M. 2013. Effects of drought stress on growth and development Frankenia plant (*FrankeniaLeavis*). *Bulg J Agric Sci*. 19:659–665.
9. Chernikova, O. V., Ampleeva, L. E., & Mazhaisky, Y. A. (2019). Effect of Selenium Nanoparticles on the Formation of Corn Yield. *Russian Agricultural Sciences*, 45(3), 256-259.
10. Cvjetko, P., Milošić, A., Domijan, A. M., Vinković-Vrčević, I., Tolić, S., Peharec-Štefanić, P., Letofsky-Papst, I., Tkalec, M., Balen, B. (2017). Toxicity of silver ions and differently coated silver nanoparticles in *Allium cepa* roots. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 137, 18–28. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.11.009
11. Del Pilar-Martínez, M. (2020). México, lejos de ser autosuficiente en maíz. *El economista*. <https://www.eleconomista.com.mx/empresas/Mexico-lejos-de-ser-autosuficiente-en-maiz-20200126-0111.html>.
12. FAO. 2021. Crop Prospects and Food Situation - Quarterly Global Report No. 1, March 2021. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb3672en>.
13. Fox, J. P., Capen, J. D., Zhang, W., Ma, X., & Rossi, L. (2020). Effects of cerium oxide nanoparticles and cadmium on corn (*Zea mays* L.) seedlings physiology and root anatomy. *NanoImpact*, 20, 100264.
14. García, A. Á., & Carril, E. P. U. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, 2(3).
15. García-López, J. I., Zavala-García, F., Olivares-Sáenz, E., Lira-Saldívar, R. H., Díaz Barriga-Castro, E., Ruiz-Torres, N. A., Edith Ramos-Cortez., Rigoberto

- Vazquez-Alvarado & Niño-Medina, G. (2018). Zinc oxide nanoparticles boosts phenolic compounds and antioxidant activity of *Capsicum annuum* L. during germination. *Agronomy*, 8(10), 215.
16. Ghorbanpour, M., Hadian, J., 2015. Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown in vitro. *Carbon* 94, 749–759.
17. Haghghi, M., Abolghasemi, R., & da Silva, J. A. T. (2014). Low and high temperature stress affect the growth characteristics of tomato in hydroponic culture with Se and nano-Se amendment. *Scientia Horticulturae*, 178, 231-240.
18. Hatami, M., Hadian, J., & Ghorbanpour, M. (2017). Mechanisms underlying toxicity and stimulatory role of single-walled carbon nanotubes in *Hyoscyamus niger* during drought stress simulated by polyethylene glycol. *Journal of hazardous materials*, 324, 306-320.
19. Hatami, M., Kariman, K., & Ghorbanpour, M. (2016). Engineered nanomaterial-mediated changes in the metabolism of terrestrial plants. *Science of the total environment*, 571, 275-291.
20. Hoang, S. A., Nguyen, L. Q., Nguyen, N. H., Tran, C. Q., Nguyen, D. V., Vu, Q. N., & Phan, C. M. (2019). Metal nanoparticles as effective promoters for Maize production. *Scientific reports*, 9(1), 1-8.
21. Hura T, Hura K, Ostrowska A, Grzesiak M, Dziurka K. 2013. The cell wall-bound phenolics as a biochemical indicator of soil drought resistance in winter triticale. *Plant Soil Environ*. 59:189–195.

22. Ju-Nam, Y., & Lead, J. R. (2008). Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications. *Science of the total environment*, 400(1-3), 396-414.
23. Kana, H. A., Goler, E. E., & MshemLbula, P. B. (2021). Pattern of Growth and Dry Matter Accumulation in Some Improved Cowpea Varieties (*Vigna unguiculata*) Exposed to Alpha Nano Spin. *Advances in Nanoparticles*, 10(2), 51-65.
24. Kato, T. A., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A., & Bye, R. A. (2009). Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. *Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, DF*, 116.
25. Khodakovskaya, M.V., de Silva, K., Nedosekin, D.A., Dervishi, E., Biris, A.S., Shashkov, E.V., Galanzha, E.I., Zharov, V.P., 2011. Complex genetic, photothermal, and photoacoustic analysis of nanoparticle-plant interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 1028–1033.
26. Kir, H., & Yavuz, T. (2019). The yield and agronomic characteristics of silage maize cultivars grown under Kirsehir ecological conditions. *J. Glob. Innov. Agric. Soc. Sci*, 7, 111-118.
27. Lahiani, M. H., Dervishi, E., Chen, J., Nima, Z., Gaume, A., Biris, A. S., & Khodakovskaya, M. V. (2013). Impact of Carbon Nanotube Exposure to Seeds of Valuable Crops. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 5(16), 7965–7973. doi:10.1021/am402052x.

28. Li, J., Hu, J., Ma, C., Wang, Y., Wu, C., Huang, J., & Xing, B. (2016). Uptake, translocation and physiological effects of magnetic iron oxide ( $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles in corn (*Zea mays* L.). *Chemosphere*, 159, 326–334. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.083>
29. Lincoln, T. & Zeiger, E. (2006). Secondary metabolites and plant defense. *Plant Physiology*. Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. Capítulo, 13, 125.
30. Lindey, L., & Thomson, P. (2012). High temperature effects on corn and soybean. *CORN Newsletter*, 2012, 23-26.
31. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193, 265-275.
32. Mirzajani, F., Askari, H., Hamzelou, S., Farzaneh, M., and Ghassempour, A. (2013). Effect of silver nanoparticles on *Oryza sativa* L. and its rhizosphere bacteria. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 88, 48–54. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.10.018.
33. Mondal, A., Basu, R., Das, S., and Nandy, P. (2011). Beneficial role of carbon nanotubes on mustard plant growth: an agricultural prospect. *J. Nanopart. Res.* 13, 4519–4528. doi: 10.1007/s11051-011-0406-z.
34. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5), 867-880.
35. Pandey, S., Fartyal, D., Agarwal, A., Shukla, T., James, D., Kaul, T., Negi, Y. K., Arora, S., and Reddy, M. K. (2017). *Abiotic Stress Tolerance in Plants: Myriad*

- Roles of Ascorbate Peroxidase. *Frontiers in Plant Science*, 8, 0–13.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00581>
36. Peralta-Pérez, M. D. R., & Volke-Sepúlveda, T. L. (2012). La defensa antioxidante en las plantas: una herramienta clave para la fitorremediación. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(1), 75-88.
37. PNUD México-INECC, 2017. Estimación de rendimientos potenciales de cultivos agrícolas en México con escenarios de cambio climático. Proyecto 86487 “Plataforma de Colaboración sobre Cambio Climático y Crecimiento Verde entre Canadá y México”, 25 pp. Antonio Rafael Arce Romero. México.
38. Rana, S., & Kalaichelvan, P. T. (2013). Ecotoxicity of nanoparticles. *International Scholarly Research Notices*, 2013.
39. Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H. M., He, X., Mbarki, S., & Brestic, M. (2017). Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Frontiers in chemistry*, 5, 78.
40. Salama, H. M. (2012). Effects of silver nanoparticles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *Int Res J Biotechnol*, 3(10), 190-197.
41. Satdev, V. J., Chavda, B. N., & Saini, L. K. (2020). Effect of nano ZnO on growth and yield of sweet corn under South Gujarat condition. *IJCS*, 8(1).
42. Segatto, C., Souza, C.A., Lajús, C.R., Fiori, M. A., Silva, L. L., Riella, H. G. & Coelho, C.M. M. (2020). Pretreatment of maize seeds with different magnesium nanoparticles improves the germinating performance and storability. *Australian Journal of Crop Science*, 14(9), 1473-1478.

43. Servin, A., Elmer, W., Mukherjee, A., De la Torre-Roche, R., Hamdi, H., White, J. C., Prem, B & Dimkpa, C. (2015). A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(2), 92.
44. Shah, T., Latif, S., Saeed, F., Ali, I., Ullah, S., Alsahli, A. A., Jan, S. & Ahmad, P. (2021). Seed priming with titanium dioxide nanoparticles enhances seed vigor, leaf water status, and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. *Journal of King Saud University-Science*, 33(1), 101207.
45. Shaw, A. K., Ghosh, S., Kalaji, H. M., Bosa, K., Brestic, M., Zivcak, M., Zahed H (2014). Nano-CuO stress induced modulation of antioxidative defense and photosynthetic performance of syrian barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environ. Exp. Bot.* 102, 37–47. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.02.016
46. Silva, E. N., Silveira, J. A., Aragão, R. M., Vieira, C. F., & Carvalho, F. E. (2019). Photosynthesis impairment and oxidative stress in *Jatropha curcas* exposed to drought are partially dependent on decreased catalase activity. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(1), 1-12.
47. Song, G., Hou, W., Gao, Y., Wang, Y., Lin, L., Zhang, Z., Niu, Q., Ma, R., Mu, L., Wang. H., 2016). Effects of CuO nanoparticles on *Lemna minor*. *Bot. Stud.* 57:3. doi: 10.1186/s40529-016-0118-x
48. Stampoulis, D., Sinha, S. K., and White, J. C. (2009). Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environ. Sci. Technol.* 43, 9473–9479. doi: 10.1021/es901695c.

49. Sun, L., Song, F., Guo, J., Zhu, X., Liu, S., Liu, F., & Li, X. (2020). Nano-ZnO-induced drought tolerance is associated with melatonin synthesis and metabolism in maize. *International journal of molecular sciences*, 21(3), 782.
50. Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, S., Srivastava, P. K., Singh, V. P., Singh, S., Prasad, S. M., Singh, P. K., Dubey, N. K., Pandey, A. C., Chauhan, D. K., (2017). Nitric oxide alleviates silver nanoparticles (AgNps)-induced phytotoxicity in *Pisum sativum* seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 110, 167–177. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.06.015.
51. Tripathi, D. K., Singh, V. P., Prasad, S. M., Chauhan, D. K., and Dubey, N. K. (2015). Silicon nanoparticles (SiNp) alleviate chromium (VI) phytotoxicity in *Pisum sativum* (L.) seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 96, 189–198. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.07.026
52. Varela, M. Celeste; Arslan, Idris; Reginato, Mariana A.; Cenzano, Ana M.; Luna, M. Virginia (2016). Phenolic compounds as indicators of drought resistance in shrubs from Patagonian shrublands (Argentina). *Plant Physiology and Biochemistry*, (), S0981942816300808 doi: 10.1016/j.plaphy.2016.03.014.
53. Vázquez-Oliveo, G., López-Martínez, L. X., Contreras-Angulo, L., & Heredia, J. (2017). Antioxidant capacity of lignin and phenolic compounds from corn stover, *Waste Biomass Valor.*
54. Zhao, Lijuan; Peng, Bo; Hernandez-Viezcas, Jose A.; Rico, Cyren; Sun, Youping; Peralta-Videa, Jose R.; Tang, Xiaolei; Niu, Genhua; Jin, Lixin; Varela-Ramirez, Armando; Zhang, Jian-ying; Gardea-Torresdey, Jorge L. (2012). Stress response and tolerance of *Zea mays* to CeO<sub>2</sub> nanoparticles: cross talk

among H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, heat shock protein, and lipid peroxidation. ACS nano, 6(11), 9615-9622.